



ISSN-1304-7280

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

Journal of Faculty of Veterinary Medicine,
Erciyes University

Yılda 3 sayı yayımlanır
Published 3 issues per year

Bu dergi Web of Science- Zoological Records, EBSCO Host, CABI Abstracts, World Agricultural Economics and Rural Sociology Abstract, Global Health, Tübitak-Ulakbim TR Dizin ve Türkiye Atıf Dizinini tarafından dizinlenmektedir.

This journal is reviewed by Web of Science- Zoological Records, EBSCO Host, CABI Abstracts, World Agricultural Economics and Rural Sociology Abstract, Global Health, Tubitak-Ulakbim TR Dizin and Turkey Citation Index.

Yıl / Year : 2022
Cilt / Volume : 19
Sayı / Number : 1

<http://ercivet.erciyes.edu.tr>
E-posta: ercvet@gmail.com

Baskı Tarihi: Nisan 2022

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi
Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University
Yılda 3 sayı yayımlanır
Published 3 issues per year

Sahibi / Owner

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Adına
Prof. Dr. Abdullah İNCİ (Dekan)

Baş Editör / Editor-in Chief

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Editör Yardımcıları / Assistant Editors

Prof. Dr. Öznur ASLAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Seçil ABAY (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Doç. Dr. Emel ALAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Doç. Dr. Kanber KARA (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Dr. Öğr. Üyesi Fatih Doğan KOCA (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Dr. Öğr. Üyesi İmdat ORHAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Dergi Sekreterleri / Journal Secretary

Arş. Gör. Gamze YETİŞMİŞ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Arş. Gör. Mukaddes BAREL (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Yayın Kurulu / Editorial Consultants

Prof. Dr. Güner KÜÇÜK BAYRAM (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

İstatistik Danışmanı / Statistical Editor

Dr. Öğr. Üyesi Elif ÇELİK (İstatistik) (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

İngilizce Dil Danışmanı / Language Editor

Okt. Mustafa AKGÜL (Erciyes Üniv. Yabancı Diller YO.)

Danışma Kurulu / Advisory Board

Prof. Dr. Ali AYDIN (İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Vet. Fak.)

Prof. Dr. Ayşe Arzu YİĞİT (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Aytekin GÜNLÜ (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Assoc. Prof. Dr. Corneliu BRASLASU (Univ. Agricultural Sci. Vet.Med,Bucharest)

Prof. Dr. Ender YARŞAN (Ankara Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Funda KIRAL (Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak.)

Dr. Gediminas VALKIUNAS (Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania)

Prof. Dr. İ. Safa GÜRCAN (Ankara Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN (Kafkas Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Kadir YEŞİLBAĞ (Uludağ Üniv. Vet. Fak.)

Ass. Prof. Dr. Klaus RIEDELBERGER (University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria)

Prof. Dr. Korhan ALTUNBAŞ (Afyon Kocatepe Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Mehmet Bozkurt ATAMAN (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Mustafa GARİP (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Münir AKTAŞ (Fırat Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Nuh KILIÇ (Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Oğuz KUL (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Oktay GENÇ (Ondokuz Mayıs Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Özcan ÖZGEL (Mehmet Akif Ersoy Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Rahşan ÖZEN (Fırat Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Sinan AKTAŞ (Atatürk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Staffan BENSCH (University of Lund, Vilnius, Lithuania)

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI (Balıkesir Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Taylan AKSU (Yüzüncü Yıl Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Thomas RÜLİCKE (University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria)

Prof. Dr. Thomas WITTEK (University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria)

Yazışma Adresi / Correspondence

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Dergisi Editörlüğü
38039-Kayseri / TÜRKİYE

http://ercivet.erciyes.edu.tr

E-posta : ercivet@gmail.com

Tel : 0 352 339 94 84

Fax : 0 352 337 27 40

Yayın Türü / Publication Type: Yaygın süreli ve hakemli/ Common term and peer reviewed

Mizanpaj / Designer: Erhan GÜMÜŞ

Basım / Print: Erciyes Üniversitesi Matbaası, Melikgazi/KAYSERİ

ISSN-1304-728

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

- Fatty Liver Disease and Bacterial Co-Infection in Cultured Marine Fish..... 01**
Kültürü Yapılan Deniz Balıklarında Karaciğer Yağlanması ve Bakteriyel Koenfeksiyon
M. DUMAN, S. ALTUN, B. ÖZDEMİR, İ.B. SATICIOĞLU
- Arcılık Faaliyeti için Sosyo-Ekonomik Bir İnceleme: Malatya İli Örneği..... 11**
A Socio-Economic Review for Beekeeping Activity: Example of Malatya Province
M. BAYDEMİR
- Kedi Sahiplerinin Kedilerinin Beden Dilini Anlama Seviyelerinin Belirlenmesi: Elazığ İli Örneği..... 18**
Determining The Level of Cat Owners' Body Language Understanding: The Elazığ Province Example
Ö. ERTEN, F. ESEN, İ. ŞEKER, B.F. YÜKSEL
- Effect of Supplementing Corn Silage with Commercial (Bonsilage-Mais) and Pre-Fermented Lactic Acid Bacteria Inoculant on Silage Quality..... 24**
Mısır Silajına Ticari (Bonsilage-Mais) ve Doğal Laktik Asit Bakteri İnokulantı Katkısının Silaj Kalitesi Üzerine Etkisi
B. DOĞAN DAŞ, N. DENEK, G. BAYTUR,
- Comparison of Wall Mounted and Mobile Blood Pressure Devices Values Obtained from Healthy Cats..... 30**
Sağlıklı Kedilerde Duvara Monta ve Mobil Cihaz ile Ölçülen Kan Basıncı Değerlerinin Karşılaştırılması
V. GÜNEŞ, A.C. ONMAZ, İ. KELEŞ, M. ÇİTİL, G. EKİNCİ, E. TÜFEKÇİ
- Samsun İlindeki Hastane Kantinlerinde Satışa Sunulan Tüketime Hazır Sandviçlerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Escherichia coli* Varlığının Araştırılması..... 37**
Investigation of Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing *Escherichia coli* in Ready-to-Eat Sandwiches Sold in Hospital Canteens in Samsun Province
T. UYANIK
- Mycoplasma spp.* ile Enfekte Kedilerde Trombosit Sayısı ve Trombosit İndekslerinin İncelenmesi..... 43**
Investigation of Platelet Count and Platelet Indices in Cats Infected with *Mycoplasma spp.*
E. M. ALAN, Z. BİLGİN, L. KOENHEMSİ
- Türkiye'de Bir Yaban Domuzunda Akciğer Kıl Kurdu *Metastrongylus pudendotectus*'un (Metastrongylidae: Nematoda) DNA Barkodlaması ve Filogenetik Karakterizasyonu..... 49**
DNA Barcoding and Phylogenetic Characterization of the Lungworm *Metastrongylus pudendotectus* (Metastrongylidae: Nematoda) Detected in a Wild Boar in Turkey
M. ATELGE

OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- Gebe Bir Anadolu Yaban Keçisinde (*Capra aegagrus aegagrus*) *Coenurus cerebralis* Olgusu..... 55**
A Case of *Coenurus cerebralis* in a Pregnant Anatolian Wild Goat (*Capra aegagrus aegagrus*)
E. TÜFEKÇİ, Y. AKAR, G. EKİNCİ, Y.E. ATAY, V. GÜNEŞ, İ. KELEŞ

DERLEMELER / REVIEW ARTICLES

- Uzayda Gıdalar ve Gıdaların Muhafazası..... 60**
Food and Food Preservation in Space
G. TÜLÜCE, H. HIZLISOY
- Investigating the Uses of "Nanotechnology" as an Alternative Approach to Increasing Animal Welfare in Dairy Cattle..... 67**
Süt Sığırlarında Hayvan Refahının Artırılmasına Alternatif Bir Yaklaşım Olarak "Nanoteknoloji"nin Kullanım Olanaklarının Araştırılması
M. GARİP, E. ARSLAN, S. PRABOWO, H. KESKİN
- Utilization of Crude Glycerin in Ruminant Diets..... 74**
Ruminant Rasyonlarında Ham Gliserin Kullanımı
B. BÖLÜKBAŞ, İ. KAYA



Fatty Liver Disease and Bacterial Co-Infection in Cultured Marine Fish

Muhammed DUMAN^{1,a*}, Soner ALTUN^{1,b}, Burak OZDEMİR^{1,c}, Izzet Burcin SATICIOĞLU^{2,d}

¹Department of Aquatic Animal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Bursa Uludag University, Bursa-TURKEY

²Department of Aquatic Animal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University, Kayseri-TURKEY

ORCID Numbers: ^a0000-0001-7707-2705; ^b0000-0001-9096-875X; ^c0000-0001-7714-9880; ^d0000-0002-2721-3204

Corresponding author: Muhammed DUMAN; E-Mail: mduman@uludag.edu.tr

How to cite: Duman M, Altun S, Özdemir B, Satıcıoğlu İB. Fatty liver disease and bacterial co-infection in cultured marine fish. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(1): 1-10

Abstract: In the present study, we sampled sea bream and sea bass, weighing 400-450g, for routine microbiological, hematological, macroscopical and histopathological examinations. Samples were taken from seemingly healthy fish, which displayed increased feed conversion rates, signs of cold shock and slow movement. Routine bacteriological analyses included basic microbiological analyses for oxidase and catalase activity, Gram staining and O/F fermentation using API test kits. Furthermore, 16S rRNA gene sequencing was performed for identification. Serum biochemical and hematological values were determined using a Vetscan[®] VS2 analyzer and blood smears. Internal organs were examined by routine histopathological techniques. Hepatic fat accumulation and necrosis were noted, and liver damage was observed to be associated with significant alterations in liver enzymes. Due to multi-organ dysfunction and serious hematological disorders, primarily *Vibrio alginolyticus* also *Alteromonas* and *Pseudoalteromonas* species were isolated from the affected fish and co-infections were detected.

Keywords: Fatty liver syndrome, hematology in marine fish, hepatic lipidosis, *V. alginolyticus*

Kültürü Yapılan Deniz Balıklarında Karaciğer Yağlanması ve Bakteriyel Koenfeksiyon

Öz: Bu çalışmada rutin mikrobiyolojik, hematolojik, makroskopik ve histopatolojik incelemeler için 400-450 gr ağırlığında çipura ve levrek balıkları örneklenmiştir. Örnekler morfolojik olarak sağlıklı görünen ancak artan yem dönüşüm oranı, hasat sırasında şoklanma (soğuk şoku) sorunu gösteren ve hareketlerde yavaşlık gibi semptom gösteren balıklardan örnekler alınmıştır. Gram boyama, hareketlilik, oksidaz-katalaz aktivitesi ve O/F fermentasyonu gibi rutin bakteriyolojik analizler ve API test kiti kullanılarak temel mikrobiyolojik analizlerle bakterilerin mikrobiyolojik teşhisleri yapılmıştır. Ön teşhisi yapılan türler 16S rRNA gen bölgesi sekans analizi ile tür bazında identifiye edilmiştir. Serum biyokimyasal ve hematolojik değerleri, Vetscan[®] VS2 cihazı ve kan yayma frotileri kullanılarak analiz edilmiştir. Hastalıktan etkilenen iç organların incelenmesi için rutin histopatolojik incelemeler yapılmıştır. Hepatik yağ birikimi ve nekroz görünen en belirgin bulgulardan olmuştur ve karaciğer enzimlerinde önemli değişikliklerin karaciğer hasarıyla ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Etkilenen balıklardan çoklu organ yetmezliği ve hematolojik bozukluklar nedeniyle başta *Vibrio alginolyticus* olmak üzere *Alteromonas* ve *Pseudoalteromonas* türleri izole edilmiş ve hastalık belirtileri gösteren balıkların bakteriyel koenfeksiyon taşıdığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Deniz balıklarında hematoloji, hepatic lipidosis, *V. alginolyticus*, yağlı karaciğer sendromu

Introduction

Globally, food resources, including both plant- and meat-derived proteins, are decreasing and production costs have increased at least two-fold in the last two years, particularly during the Covid-19 pandemic because of economic instability. Owing to its high protein content and digestibility, fishmeal is the best protein source for carnivorous fish, which need at least 40% of the fish-based protein in their diet (Monge-Ortiz et al., 2016). More than 3.3% of the total fish products are used for the production of fishmeal, but the remarkable increase in cultured fish stocks has brought about insufficiency of fishmeal protein. The

increasing demand for fishmeal (FM), elevated prices and fluctuations in world supply have emphasized the need for alternative protein sources for fish. Thus, research on new plant-based protein sources has accelerated. Researchers have discovered several proteins, apart from animals that can replace fishmeal, and most of them enable fast growth, stimulate immunity and support non-specific defense in the short-term (Geay et al., 2011). However, the long-term effects of these plant proteins on fish, especially on their liver, spleen, kidneys, and immune system, remain unknown. Fishmeal is also a primary source of essential amino acids and fatty acids for carnivorous fish, and plants do not contain any of them. Fatty liver syndrome is encountered primarily in fish fed on an imbalanced diet, a carbohydrate-rich diet or

higher plant-derived proteins instead of fishmeal (De Francesco et al., 2004). Moreover, histomorphological gut and liver alterations, immune status disorders and gut microbial imbalances have been reported to be associated with the provision of plant proteins instead of fishmeal (Egerton et al., 2020). Thus, the use of certain agricultural by-products seems to ultimately lead to a lower feed conversion efficiency and an increase in susceptibility to diseases and bacterial and parasitic infections, which may be induced by immunodeficiency or disrupted inflammatory response. Along with other physiological processes, in fish, the gut plays a key role in the immune response to potential pathogenic invasions besides liver, spleen and erythrocytes whose roles in the immune status and allow the early detection of impaired malnutrition and health, blood biochemistry is usually not used as a diagnostic tool in fisheries (Figure 1). This is due to the scarcity of reliable information on hematologic values and blood biochemistry parameters in well-nourished, healthy and stress-free fish. This issue is, however, very opportune, as fish reared under intensive conditions are subjected, on a daily basis, to different stressors that compromise their nutritional and immune competence; thus, an early and reliable diagnosis of these conditions would help to improve management practices (Peres et al., 2014).

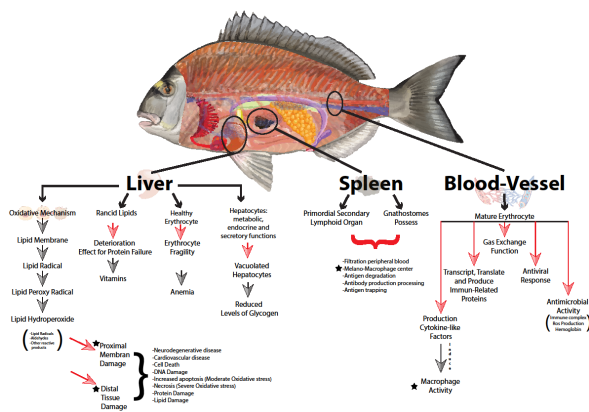


Figure 1. The role of the liver, spleen and erythrocytes in the immune system is illustrated.

In the presence of stress conditions, diseases caused by opportunistic pathogens, including primarily species of the genera *Vibrio* and *Alteromonas*, or other members of the microbiota gaining dominance, is only the tip of the iceberg (Balebona et al., 1998; Skovhus et al., 2007; Duman et al., 2020). *V. alginolyticus*, a prominent and ubiquitous organism found in seawater has been isolated from different marine

organisms as part of the saprophytic microbiota (Carli et al., 1993). There is controversy about the precise role of *V. alginolyticus* as a fish pathogen (Balebona et al., 1998), and while extensive information is available on other fish-pathogenic *Vibrio* species, the epidemiological, physiological, and virulence characteristics of *V. alginolyticus* have not been established yet. *Alteromonas* and *Pseudoalteromonas* species have been isolated from marine habitats and sea water and are not considered to be fish pathogens. Hence, the isolation of these species from marine fish indicates exposure to severe stresses conditions and imbalance of the digestive and mucosal microbiota (Skovhus et al., 2007; Pujalte et al., 2007).

In the present study, we aimed to determine the results of fatty liver syndrome based on blood biochemistry, microbial status, morphology, and histopathology. Sampled fish were selected among those that displayed key symptoms, including cold shock (absence of rigor mortis or rapid progress to algor mortis), anemia, yellowish (fatty) liver and coagulopathy. The present study sheds light on contributing disease agents that may be overlooked in marine fish diagnosed with disease.

Material and methods

Fish samples

In total, 50 sea bream (*Sparus aurata*) and 50 sea bass (*Dicentrarchus labrax*), weighing 400-450g, were sampled for routine bacteriology after blood drawing in 2017. Cage farms were located in the Aegean region of Turkey. Blood, histopathological and bacteriological samplings were made from fish displaying absence of rigor mortis after death and very quick death after being taken out of water (Duman et al., 2019). No morphological lesions were detected in the sampled fish and clinical observations showed that the fish displayed lethargy, slow movement and reduced feed intake. The fish ration was presented in Table 1. This research was approved by the Local Ethics Commission (report 2012-14/04)

Table 1. Fish rations used in the study

Dietary ingredients (g/kg dry diet)*	
Total protein (%)	45
Total Fat (%)	20
Crude Cellulose (%)	2.5
Ash (%)	11
Vitamin A (IU)	12000
Vitamin D3 (IU)	2500
Vitamin E (mg)	200
Vitamin C (mg)	200

*Raw materials presented by firm: Fish meal, soybean meal, fish oil, wheat flour, wheat gluten, full fat soy, vitamin and mineral with unknown amount for Vitamin (K3, B1, B2, B6, B12, Niacin, D-pantothenic acid, Folic Acid, Biotin, Choline) and Mineral (Copper, Manganese, Cobalt, Iodine, Zinc, Selenium)

Bacterial isolation

Samplings were carried out according to the guidelines for the diagnosis of fish diseases and in compliance with the international guidelines for animal welfare and guidelines for aquatic animal health surveillance (Austin and Newaj-Fyzul 2017). Diseased fish were sampled aseptically with sterile loops and swabs from the liver, kidneys, spleen and acidic fluid. Samples were placed on tryptic soy agar containing 1.5% NaCl (Merck, 105458, TSA); TSA containing 1.5% marine salts (Sigma, S9883); marine agar (Sigma, 76448) and blood agar (BA; with 5% sheep blood). All isolates were sub-cultured in tryptic soy broth with 1.5% marine salts and marine broth for 2-7 days at 28°C to ensure purity. Pure cultures were supplemented with 20% of glycerol and kept at -80°C for long-term storage. The biochemical characteristics of the isolates were determined using conventional microbial tests, including the assessment of colony morphology, Gram staining, motility, oxidase and catalase activities, and sucrose fermentation (Garrity, 2007; Farmer et al., 2015). Detailed phenotypic characterization was performed using API ID 32E (Biomérieux, France) test kits in accordance with the manufacturer's instructions. The only modification to these instructions was the performance of incubation at 28°C for 24-48h.

Molecular identification and phylogeny

According to the manufacturer's instructions, the genomic DNA of the bacterial isolates was extracted using a QIAamp DNA mini kit (Qiagen, Hilden, Germany). PCR amplification and sequence analysis were performed using the universal 16S rRNA primers 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') and 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'). The PCR reactions were performed according to previously described methods (Duman et al., 2020).

Based on 16S rRNA sequence similarities, the isolates were identified in the GenBank 16S RefSeq database, and all of the sequences were deposited in GenBank under the accession number MW513495-MW513504.

The evolutionary history was inferred using the maximum likelihood method and Tamura-Nei model (Tamura and Nei, 1993). The tree with the highest log likelihood (-4465.91) is shown. Initial tree(s) for the heuristic search were obtained automatically by applying the Neighbor-Join and BioNJ algorithms to a matrix of pairwise distances estimated using the Tamura-Nei model and then selecting the topology with a superior log likelihood value. The tree was drawn to scale, with branch lengths measured in the number of substitutions per site (next to the branches). This analysis involved 20 nucleotide sequences. Codon positions included were 1st+2nd+3rd+Noncoding. There were a total of 1553 positions in the final data set. Evolutionary analyses were conducted in MEGA X (Kumar et al., 2018).

Blood and serum analysis

Blood samples were drawn from the caudal vein of the fish, as described before (Duman et al., 2019). Once collected, blood samples were immediately subjected to hematological analysis. The blood was diluted with appropriate diluting fluids for RBC and WBC counts, which were calculated using an improved Neubauer hemocytometer (Mgbenkaet et al., 2003; Shah and Altindag 2005). Replicated counts were made for each blood sample. Blood collected in dry tubes was centrifuged for serum extraction. Serum samples were analyzed for biochemical parameters (creatinine kinase, CK; aspartate aminotransferase, AST; alanine aminotransferase, ALT; alkaline phosphatase, ALP; lactate dehydrogenase, bilirubin, BIL; sodium, NA; potassium, K; calcium, CA; urea, BUN;

creatine, CRE; total bilirubin, TBIL; albumin, ALB; glucose, GLU; Gamma-glutamyltransferase, GGT; total protein, TP; total globulin, GLOB; tCO₂; Amylase and Lipase) with a VETSCAN® VS2 chemistry analyzer (Zoetis US, UK).

Histopathology

Tissue samples taken from the liver, kidneys, heart, and gills were fixed in 10% buffered formalin solution, embedded in paraffin blocks, cut into 4-µ-thick sections, and stained with hematoxylin, and eosin (H&E).

Antimicrobial susceptibility testing

Resistance to different groups of antibiotics was determined using the disc diffusion method by complying with the performance standards for the antimicrobial susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI guidelines VET03/VET04-S2) (CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute 2014). All antimicrobial susceptibility discs were supplied from Oxoid (Thermo Scientific, US). The antibiotics used in the susceptibility tests included sulfonamides (trimethoprim/sulfamethoxazole, SXT, 1/19; CT0052B), aminopenicillins (amoxicillin, AML; CT0223B), β-lactams (amoxicillin/clavulanic acid, AMC; CT0223B), tetracyclines (doxycycline, DO; CT0018B; oxytetracycline, OT; CT0041B), fluoroquinolones (enrofloxacin, ENR; CT0639B), quinolones (oxolinic acid, OA; CT0017) aminoglycosides (gentamicin, CN; CT0794B), macrolides (erythromycin, E; CT0020B), clindamycin (lincomycin, MY; CT0028B), and chloramphenicol (florfenicol, FFC; CT1754B). Antibiotic discs were placed on Mueller-Hinton agar (MHA)+NaCl (1%) plates, previously inoculated with a pure culture of the strains. After incubation at 28°C (24-28 h), inhibition zones were measured in mm and compared with the critical values of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST, www.eucast.org) to evaluate whether a strain was sensitive or resistant. *E. coli* ATCC 25922 was used as the quality control (QC) strain, and the acceptable ranges set by the CLSI for this strain were applied (CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute 2014).

Results

Bacterial Identification

In total, three different genera were phenotypically identified, including *Vibrio*, *Alteromonas*, and *Pseudoalteromonas*, which displayed glucose fermentation on oxidative-fermentative medium (OF basal medium). *Vibrio* species were observed as Gram-negative, motile, oxidase, and catalase-positive, sucrose-fermenting colonies on thiosulfate-citrate-bile

salts-sucrose agar (TCBS). All isolates were primarily identified as either *Vibrio metschnikovii* (API ID 32E profile number: 11455361072; 00051221043; 20040321040) or *Vibrio alginolyticus* (API ID 32E profile number: 00071321050 and 10071321050) with the API tests. Ornithin decarboxylase activity was the only difference between the *V. alginolyticus* strains, which were at least 99% identical, whilst the test results were more variable for the *V. metschnikovii* isolates, which displayed a similarity rate lower than 90% in the API database.

According to genomic analyses, the isolates from the sampled sea bass were identified as *V. alginolyticus*, whilst the isolates from the sampled sea bream were identified as *V. alginolyticus*, *V. chagasii*, *Pseudoalteromonas gelatinilytica*, *Pseudoalteromonas* sp., and *Alteromonas mediterranea*. Sequences were compared in the NCBI database, and accession numbers were presented in the phylogenetic tree (Figure 2).

Molecular characterization

The strains identified at genus level were confirmed by 16S rRNA gene sequencing, and the bacteria isolated from the sea bass and sea bream were identified as *Vibrio alginolyticus* (Seq1), MW513495 and (Seq3), MW513497, respectively. The other *Vibrio alginolyticus* isolates were grouped in a distant branch (Seq4, MW513498; Seq2 MW513496). *V. chagasii* (Seq8, MW513501) was closely related to *V. chagasii* type strain LMG 21353. Different from *V. alginolyticus* (Seq1, MW513495) isolated from sea bass, the *V. alginolyticus* strains isolated from sea bream were not all placed in the same geno group (branch). Furthermore, (Seq4), MW513498 was determined to be the most distant strain. The *P. gelatinilytica* strains (Seq5), MW513499 and (Seq9), MW513502 were in the same group with the reference strains of *P. gelatinilytica* and *P. shioyasakiensis*, NR 152003.1 and NR 125458.1, respectively, and were 100% identical to *P. gelatinilytica* (Reference RNA sequences, RefSeq_rna) in the NCBI database. Other *Pseudoalteromonas* strains did not present an identical profile at species level. Hence, they were identified as *Pseudoalteromonas* sp. in view of their close homology with *P. carrageenovora* and *P. hodoensis*, the reference accession numbers of which are NR 113605.1 and NR 126232.1, respectively. The last strain isolated from the sea bream was *A. mediterranea*, Seq6, which showed close homology with the reference strain (NR 148756.1). Detailed phylogenetic relationships are presented in Figure 2.

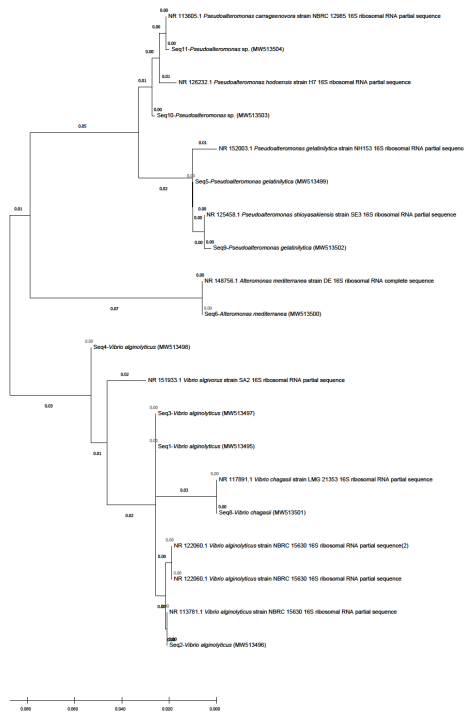


Figure 2. Bacterial phylogeny based on 16S rRNA gene sequencing.

Blood-serum analysis

The hematological values and serum biochemical parameters of the affected fish were compared to the results reported in a wide range of literature, in view of normal blood values being highly variable and depending on water temperature, feeding rate and regime, stock conditions and fish weight (Table 2). While the enzyme CKi was found at very low levels in sea bass, it was found at ten times higher levels in sea bream, similar to the case with AST values. ALT levels fell within the suggested range in the sampled sea bass, and were higher in the sampled sea bream. Contrary to the sampled sea bream, most values were lower than the reference values in the sea bass. While lipase and GGT levels were low in the majority of the samples, amylase levels were high in almost all of the samples.

Leukocytosis and monocytosis were observed in both fish species. Yet, eosinophil and basophil counts fell within the reference ranges in the sea bream. Lymphocytopenia, severe thrombocytosis and high numbers of immature erythrocytes were also noted (Table 2 and 3).

Macroscopic and histopathological findings

It was observed that the death of the fish occurred faster, rigor mortis developed more quickly, and 30 seconds after being caught from the cages, the fish remained motionless.

After being harvested, the fish suffered mainly from cold shock. Cold shock meaning is quick freezing after harvest. If an animal shows rigor mortis symptoms after quick freezing stage, this is a normal condition for foods; if it is not, the product has a problem in quick-freezing stage, naming cold shock problem. This was associated with the very rapid development of rigor mortis and algor mortis, such that some fish did not even show any rigor mortis indicator such as muscle stiffening or loss of tissue elasticity. There were no macroscopic lesions in the body. However, severe hemorrhage in the gills and operculum, and hyperemia, anemia and increased mucus secretion in the gill filaments were observed. Necropsy findings included severe fat accumulation in the liver, and anemia in the liver and kidneys. Another prominent finding was the very long coagulation time or absence of coagulation in some of the fish under anesthesia. The macroscopic findings are presented in Figure 3.

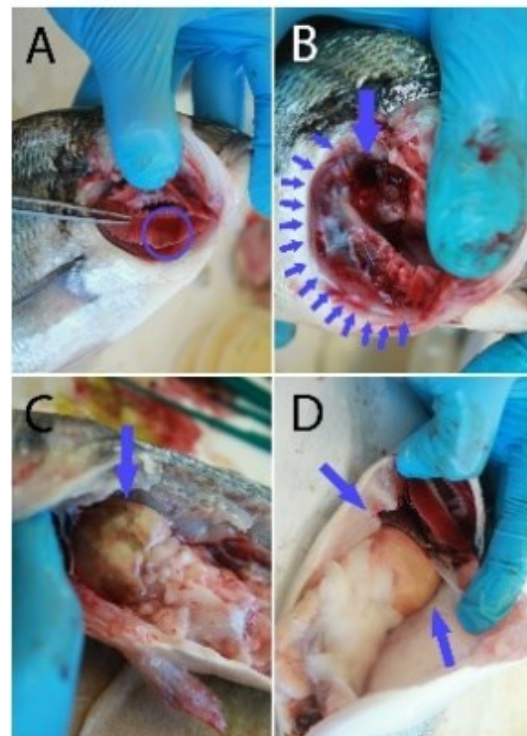


Figure 3. A: Haemorrhage on gill and gill arc (circle); B: Haemorrhage in the bottom of operculum (arrows); C: Severe fatty accumulation and anemia in the liver; D: Fatty and anemia in the liver (short arrow) and hematoma in the transverse septum.

While microscopic examination demonstrated multifocal coagulation necrosis and siderosis in the spleen, hyperemia in the blood vessels, severe diffuse fat accumulation and vacuolar degeneration in the liver, shrinkage of the pancreatic cells, hemorrhage and mononuclear cell infiltration in the heart, anemia, severe mononuclear cell infiltration, necrotic areas, increased mucus secretion and desquamation in the gills, the muscles appeared to be healthy (Figures 4-6).

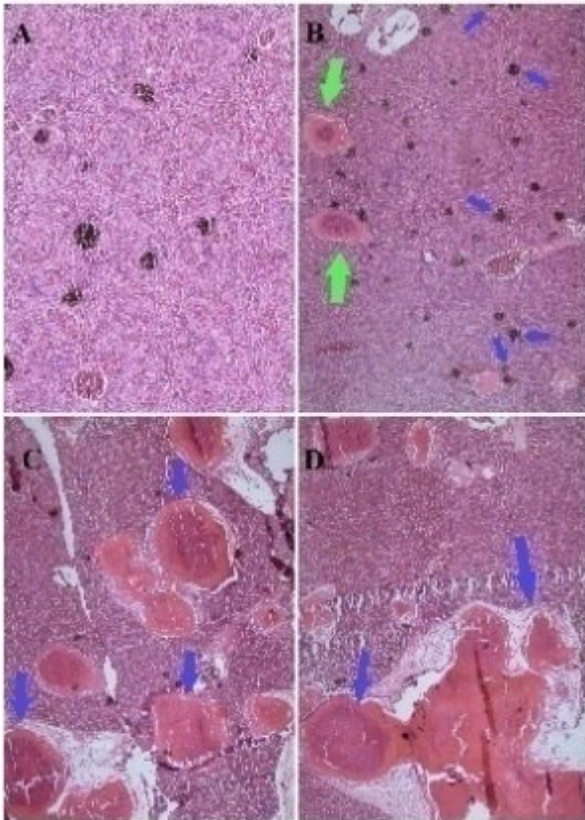


Figure 4. **A:** Healthy spleen (H&E X40); **B:** diseased spleen (H&E X10) includes mild necrotic area (green arrow) and siderosis (blue arrow); **C** and **D:** Severe diffuse coagulation necrotic area in the spleen (arrows) (C, H&E X10), (D, H&E X10).

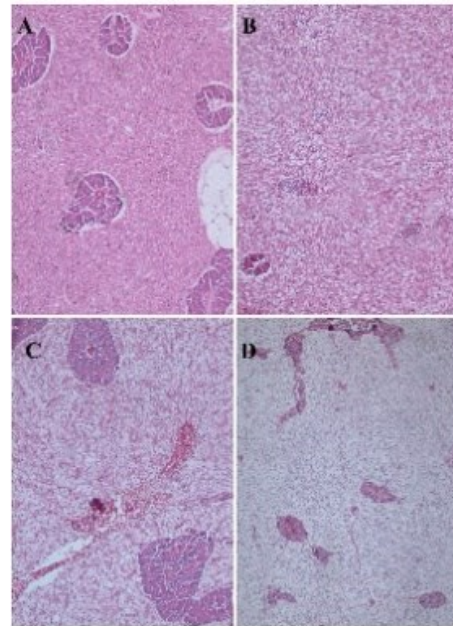


Figure 5. **A:** Healthy liver tissue (H&E X40); **B:** mild severity fatty accumulation in the liver (H&E X10); **C:** Moderate (H&E X40) and **D:** severe fatty accumulation in the liver (H&E X10).

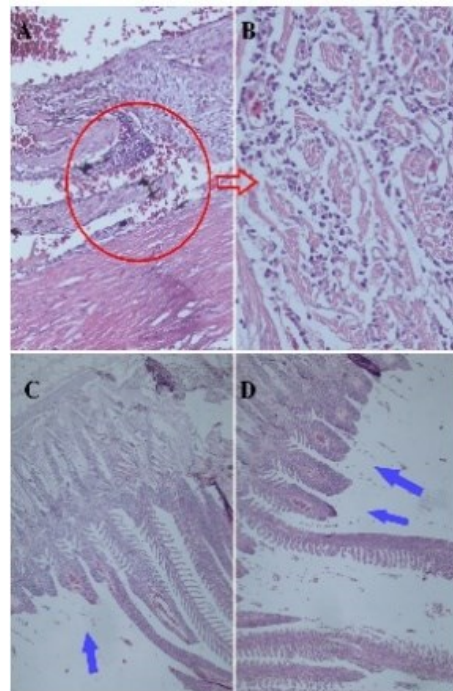


Figure 6. **A** and **B:** Haemorrhage and mononuclear cell infiltration in heart tissue (A, H&E X10; B, H&E X40); **C** and **D:** Necrosis and desquamation in primer and secondary lamella (arrows, H&E X10).

Antimicrobial susceptibility testing

All isolates were resistant to lincomycin and oxytetracycline with no growth zone. The isolated bacteria could not be evaluated for antimicrobial susceptibility or resistance as there was no breaking point published by the EUCAST or CLSI for these species (Accessed date 25.06.2021). For all isolates, the largest inhibition zones were noted for florfenicol, followed by amoxicillin-clavulanic acid in the second place (Table 4).

species; and the reliability of available reference values is questionable as there are multiple stress factors that affect cultured fish (Fazio et al., 2012).

High percentages of neutrophils and monocytes were associated with lymphocytopenia in all groups. Severe anemia outstood in sea bream, compared to sea bass and previous literature reports (Esteban et al., 2000; Roncarati et al., 2006; Yildiz, 2009; Peres et al., 2013; Peres et al., 2014; Monge-Ortiz et al., 2016; Fazio et al., 2018). Almost all groups presented

Table 4. Antimicrobial susceptibility results of isolated bacteria*

Family	Sulfonamides	Amipenicillins	Tetracyclines		Fluoroquinolones	Quinolone	Amnoglycoside	β -lactam	Macrolides	Clin damycin	Chloramphenicol
Antibiotics	SXT	AML	DO	OT	ENR	OA	CN	AMC	E	MY	FFC
Disk content (μ g)	1/19	25	30	30	5	10	10	30	15	15	30
<i>A. mediterranea</i>	21	0 (R)	0 (R)	0 (R)	15	10	23	20	15	0 (R)	25
<i>P. gelatinilytica</i>	22	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	20	11	12	0 (R)	25
<i>Pseudoalteromonas</i>	25	18	0 (R)	0 (R)	20	12	28	24	30	0 (R)	35
<i>V. anguillarum</i>	20	23	0 (R)	0 (R)	20	13	27	23	25	0 (R)	23
<i>V. chagasii</i>	25	0 (R)	30	0 (R)	30	23	30	12	20	0 (R)	40

*Zone diameter is reported in millimeters (mm). Grey cells represent resistant values

Discussion and Conclusion

In the present study, we discussed severe fatty liver disease that triggered bacterial infection in fish from a morphological, histopathological and molecular standpoint. The present study was conducted on a fish farm located in the Aegean region of Turkey, where fish were cultured in cages and given a commercial feed produced by the owner company. Macroscopic findings, anamnesis and farmer feedback pointed out to the slow movement of fish, increased FCR, rapid development of rigor mortis, shortened period of fluttering of the fish when taken out of the water and very little or no blood clotting. Yellowish and anemic liver tissue was another distinct finding.

Similar to the present study, previous studies have reported fat accumulation to be associated with a bronzed color of the liver, darkening of the body color and splenic deformations (Roberts, 2001; Weisman and Miller, 2006). In terrestrial animals, hematological findings such as ALT, AST, GGT and protein levels can be used as indicators of nutritional imbalance and liver damage, whilst a correlation between fatty liver disease and hematology has not been established in fish. This is because routine hematology instruments used at veterinary clinics or in human medicine cannot offer an accurate evaluation of fish blood samples due to the fact that fish erythrocytes are nucleated and blood cells vary among fish species (Yildiz, 2009; Fazio et al., 2012). In addition, the reference ranges of many hematological parameters are yet to be determined for a large number of fish

with severe thrombocytosis and high numbers of immature erythrocytes in the blood smears. Previous research has shown that, in fish, the immune response is predominantly lymphocyte-mediated; thus, lymphocytes play a primary role in acute infection, whilst firstly monocytes and secondarily neutrophils are involved in chronic infections. The high number of neutrophils and monocytes detected in our study showed that the fish were chronically infected.

Significantly altered ALT, AST, GGT, ALP and lipase activities are directly related to liver dysfunction or abnormalities, and high CK activity is proof of muscle damage that prevents the stiffening required to start rigor mortis. The underlying mechanism involves the catalysis of creatine conversion by creatine kinase, and the use of ATP by this enzyme to generate phosphocreatine and ADP. ATP separates the actin-myosin cross-bridges and enables muscle relaxation. When ATP is not produced in tissues, the body enters rigor mortis because it is unable to break these bridges. As high CK activity in fish causes ATP depletion, tissue and muscle ATP levels could be very low (Watabe et al., 1991). Thus, upon death, these fish cannot enter rigor mortis or quickly progress to algor mortis. To enlarge upon the process, the synthesis of ATP is initially by creatine kinase (CK), but subsequently by glycogenolysis and glycolysis. CK usually drops to low levels within 1-2h postharvest. Once CK levels drop to 75% of the initial levels, ATP starts to decline. As CK disappears, Pi increases in the cells postharvest, and lactate accumulates concomitantly with an increasing hydrogen ion (H⁺) con-

centration. Once ATP reaches low levels, muscle extensibility disappears, and both pH level and lactic acid concentration reach their final values (in a well-fed, rested animal). However, very high CK levels in live fish prevent postmortem ATP decrease and muscle relaxation does not occur. Therefore, the high CK levels detected in the present study played a major role in the absence of rigor mortis.

Liver damage also affects the Vitamin K cycle, activation of clotting factors, and blood coagulation mechanism (Roberts, 2001). We observed that severe fat accumulation and hepatocyte dysfunction caused coagulation abnormalities in the sampled fish, which hindered the evaluation of the hemogram. Increased white blood counts indicate inflammation in tissues also. The role of the liver and spleen in erythrocyte production and maturation involves a complex mechanism, which has been explained by Fänge (1992) and Roberts (2001). Fish erythrocytes are known to produce cytokine like-factors that are involved in macrophage activation (Passantino et al., 2004). Immature erythrocytes, which do not function properly, cause phagocyte inhibition, which eventually renders fish vulnerable to microorganisms, even those that are commensal.

The diffuse necrotic areas in the spleen and the liver damage detected upon histopathological examination were considered to have caused a high level of immature erythrocytes in the blood circulation. Our findings related to blood clotting, rigor mortis and tissue hemorrhage were linked to the tissue damage detected in the histopathological examination and were in agreement with previous research. Although these findings were directly suggestive of multiple organ dysfunction, and primarily of hepatic lipidosis, given that *V. alginolyticus* has pathogenic effects on marine fish (Balebona et al., 1998), bacterial findings may mask the primary cause and mislead clinicians. There is only weak evidence on the genera *Alteromonas* and *Pseudoalteromonas* including pathogenic species (Pujalte et al., 2007), and species belonging to these genera are considered to be natural members of marine habitats and the microbiota of most marine fish (Skovhus et al., 2007; Garrity, 2007; Farmer et al., 2015; Yan et al., 2016). Thus, these bacteria having been isolated in the present study demonstrated that the cause of death was a hidden stress factor. If we had isolated only *V. alginolyticus* and no other species, and had not examined the liver and blood profile of the fish, we would have assumed the presence of a bacterial infection and directly applied antimicrobial treatment. The isolation of both potential pathogens (*V. alginolyticus* and *V. chagasii*) and commensals (*Alteromonas* and *Pseudoalteromonas*) were attributed to multiple points; (I) primary immunosuppression by multiple organ dysfunction, (II) phagocytic cell maturation failures associated with liver and spleen necrosis, (III) coagulation problems,

thus, hemorrhage in all tissues permitting bacterial invasion and proliferation, (IV) immature erythrocytes not producing cytokines, which contribute to immune defense (Figure 1). Egerton et al. (2020) have reported that plant proteins significantly alter gut microbial composition and intestine histology, and thus, directly affect fish immunity by altering the members of the microbial community. Changes in intestine histology and gut microbiome balance explain how opportunistic pathogens or members of microbiota become pathogenic organisms.

Zhenyu (2014) reported five major causes of fatty liver in farmed fish, including nutritional imbalance, environmental pollution, physiological processes, inter-species differences and genetic mutation. We took notice of all these factors, such that the possibility of environmental pollution was eliminated by screening other farms located near the sampling site, the possible effect of physiological processes was eliminated by sampling seemingly healthier smaller sized fish at the same farm (with short-term exposure to imbalanced diet), and the possibility of inter-species differences and genetic mutations were eliminated by inspecting other fish groups on the same farm and at different farms in the same region.

In conclusion, the main (primary) problem detected in the present study was fat accumulation in the liver, which is referred to as hepatic lipidosis. Thus, secondary microbial infection due to cellular immune suppression stemmed from fat accumulation in the liver, diffuse necrotic areas in the spleen and hematological impairment. As fatty liver syndrome is mainly diet-based and dietary imbalance is common in animals, this disease can be avoided by optimizing fish rations. Before initiating antimicrobial treatment, an assessment should be made for possible multi-organ damage and severe anemia, which increases the number of immature erythrocytes in the blood circulation. Thereby, the contribution can be made to preventing the spread of antimicrobial resistance in the marine environment.

Acknowledgements: This research was supported by Bursa Uludag University research fund. Project number TDAP(V)-2018/2.

References

- Austin B, Newaj-Fyzul A, eds. Diagnosis and control of diseases of fish and shellfish. First Edition. Hoboken, USA: John Wiley & Sons; 2017; pp. 5-14.
- Balebona MC, Zorrilla I, Moriñigo MA, Borrego JJ. Survey of bacterial pathologies affecting farmed gilt-head sea bream (*Sparus aurata* L.) in southwestern Spain from 1990 to 1996. *Aquaculture* 1998; 166(1-2): 19-35.

- Carli A, Pane L, Casareto L, Bertone S, Pruzzo C. Occurrence of *Vibrio alginolyticus* in Ligurian coast rock pools (Tyrrhenian Sea, Italy) and its association with the copepod *Tigriopus fulvus* (Fisher 1860). *Appl Environ Microbiol* 1993; 59(6): 1960.
- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals; Second informational supplement, CLSI Document VET03/VET04-S2, Clin Lab Stand Institute, Wayne, USA 2014.
- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals; second informational supplement. Clin Lab Stand Institute, PA, USA 2014.
- De Francesco M, Parisi G, Médale F, Lupi P, Kaushik SJ, Poli BM. Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 2004; 236(1-4): 413-29.
- Duman M, Saticioglu IB, Ozdemir B, Altun S. Determination of opportunistic pathogens and antimicrobial resistance characterization isolated from Rainbow Trout in Turkey. *J Res Vet Med* 2020; 39(2): 82-92.
- Duman M, Saticioglu IB, Suzer B, Altun S. Practices for drawing blood samples from teleost fish. *N Am J Aquac* 2019; 81(2): 119-25.
- Egerton S, Wan A, Murphy K, Collins F, Ahern G, Sugrue I, Busca K, Egan F, Muller N, Whooley J, McGinnity P. Replacing fishmeal with plant protein in Atlantic salmon (*Salmo salar*) diets by supplementation with fish protein hydrolysate. *Sci Rep* 2020; 10(1): 1-6.
- Esteban MÁ, Muñoz J, Meseguer J. Blood cells of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Flow cytometric and microscopic studies. *Anat Rec* 2000; 258(1): 80-9.
- Fänge R. Fish blood cells. Hoar WS, Randall DJ, Farrell AP, eds. In *Fish Physiology Volume XII, Part B, The Cardiovascular System*. New York: Academic Press, 1992; pp. 1-54.
- Farmer III JJ, Michael J, Brenner FW, Cameron DN, Birkhead KM. *Vibrio*. In: *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. Hoboken, USA: John Wiley & Sons Inc, 2015; pp. 1-79.
- Fazio F, Ferrantelli V, Piccione G, Saoca C, Levanti M, Mucciardi M. Biochemical and hematological parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) and Gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) in relation to temperature. *Veterinarski arhiv* 2018; 88(3): 397-411.
- Fazio F, Filiciotto F, Marafioti S, Di Stefano V, Assenza A, Placenti F, Buscaino G, Piccione G, Mazzola S. Automatic analysis to assess haematological parameters in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). *Mar Freshw Behav Physiol* 2012; 45(1): 63-73.
- Garrity G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Brenner Don J, Krieg Noel R, Staley James R. eds. Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The *Gammaproteobacteria*. Second Edition. Verlag US: Springer, 2007; pp.491-520
- Geay F, Ferrareso S, Zambonino-Infante JL, Bargelloni L, Quentel C, Vandeputte M, Kaushik S, Cahu CL, Mazurais D. Effects of the total replacement of fish-based diet with plant-based diet on the hepatic transcriptome of two European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) half-sibfamilies showing different growth rates with the plant-based diet. *BMC genomics* 2011; 12(1): 1-8.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 2018; 35(6): 1547.
- Mgbenka BO, Oluah NS, Umeike L. Haematology and erythropoietic response in the catfish, *Clarias albopunctatus* (Lamonte and Nichole 1927), Exposed to Sublethal Concentrations of Gammalin 20 (Lindane). *Bio-Research* 2003; 1(2): 61-8.
- Monge-Ortiz R, Martínez-Llorens S, Márquez L, Moyano FJ, Jover-Cerdá M, Tomás-Vidal A. Potential use of high levels of vegetal proteins in diets for market-sized gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Arch Anim Nutr* 2016; 70(2): 155-72.
- Palleroni NJ. *Pseudomonas*. In: *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*. North Wiley & Sons Inc, 2015; pp. 1-40.
- Passantino L, Altamura M, Cianciotta A, Jirillo F, Ribaud MR, Jirillo E, Passantino GF. Maturation of fish erythrocytes coincides with changes in their morphology, enhanced ability to interact with *Candida albicans* and release of cytokine-like factors active upon autologous macrophages. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2004; 26(4): 573-85.
- Peres H, Santos S, Oliva-Teles A. Selected plasma biochemistry parameters in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *J. Appl. Ichthyol* 2013; 29(3): 630-6.
- Peres H, Santos S, Oliva-Teles A. Blood chemistry

- profile as indicator of nutritional status in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish Physiol Biochem* 2014; 40(5): 1339-47.
- Pujalte MJ, Sitjà-Bobadilla A, Macián MC, Álvarez-Pellitero P, Garay E. Occurrence and virulence of *Pseudoalteromonas* spp. in cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Molecular and phenotypic characterization of *P. undina* strain U58. *Aquaculture* 2007; 271(1-4): 47-53.
- Roberts RJ. In: *Fish Pathology. The nutritional pathology of teleosts. Fish pathology. Third Edition.* Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2001; pp. 347-66.
- Roncarati A, Melotti P, Dees A, Mordenti O, Angellotti L. Welfare status of cultured seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) and seabream (*Sparus aurata* L.) assessed by blood parameters and tissue characteristics. *J Appl Ichthyol* 2006; 22(3): 225-34.
- Shah SL, Altındağ A. Alterations in the immunological parameters of Tench (*Tinca tinca* L. 1758) after acute and chronic exposure to lethal and sublethal treatments with mercury, cadmium and lead. *Turkish J Vet Anim Sci* 2005; 29(5): 1163-8.
- Skovhus TL, Holmström C, Kjelleberg S, Dahllöf I. Molecular investigation of the distribution, abundance and diversity of the genus *Pseudoalteromonas* in marine samples. *FEMS Microbiol Ecol* 2007; 61(2): 348-61.
- Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol Biol Evol* 1993; 10(3): 512-26.
- Watabe S, Kamal M, Hashimoto K. Postmortem changes in ATP, creatine phosphate, and lactate in sardine muscle. *J Food Sci* 1991; 56(1): 151-3.
- Weisman JL, Miller DL. Lipoid liver disease and steatitis in a captive sapphire damselfish, *Pomacentrus pavo*. *Acta Ichthyol Piscat* 2006; 2(36): 99-104.
- Yan J, Wu YH, Meng FX, Wang CS, Xiong SL, Zhang XY, Zhang YZ, Xu XW, Zhang DM. *Pseudoalteromonas gelatinilytica* sp. nov., isolated from surface seawater. *Int J Syst Evol* 2016; 66(9): 3538-45.
- Yildiz HY. Reference biochemical values for three cultured Sparid fish: striped sea bream, *Lithognathus mormyrus*; common dentex, *Dentex dentex*; and gilthead sea bream, *Sparus aurata*. *Comp Clin Path* 2009; 18(1): 23-7.
- Zhenyu D. Causes of fatty liver in farmed fish: a review and new perspectives. *J Fish of China* 2014; 9: 53.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Araştırma Makalesi / Research Article
19(1), 11-17, 2022
DOI: 10.32707/ercivet.1085213

Arıcılık Faaliyeti için Sosyo-Ekonomik Bir İnceleme: Malatya İli Örneği*

Muhammed BAYDEMİR^{1,a}

¹Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Arapgir Meslek Yüksek Okulu, Malatya-TÜRKİYE
Orcid No: ^a0000-0002-4253-6140

Sorumlu yazar: Muhammed BAYDEMİR; E-posta: muhammed.baydemir@ozal.edu.tr

Atıf yapmak için: Baydemir M. Arıcılık faaliyeti için sosyo-ekonomik bir inceleme: Malatya ili örneği. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(1): 11-17

Öz: Arıcılık gelişime açık bir alandır. Bölgeden bölgeye ciddi farklılıklar olmasının yanında, aynı bölge içerisinde dahi birçok faktörden etkilenebilmektedir. Bu çalışmada Malatya ilinde arı yetiştiriciliği yapan işletmelerin yapısal özellikleri ve üretimlerine ilişkin sorunları incelenmiştir. Arıcılık faaliyeti ile uğraşanlara yönelik 2020 yılı Kasım ayı ile 2021 yılı Şubat ayları arasında yapılan 77 adet anket sonuçları değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda kovan başına ortalama bal veriminin 11.87 kg düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Bu miktar Türkiye ortalamasından düşük ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.001$). Bu çalışmada, diğer çalışmalardan farklı olarak sorulmuş olan arıya en çok zarar veren canlılar arasında farklı bir sonuç bulunmuştur. Bu soruya verilen cevaplar; %68.8 arı kuşu, %24.7 yabancı arı, %3.9 kirpi, %2.6 hepsi şeklindedir. Sonuç olarak, arıcılık sorunları üzerinde yapılan çalışmalar göz önüne alındığında genel olarak bir standarda ulaşılabilmesi dikkat çekicidir. Çalışmalardaki farklılıkların nedeni bölgesel farklılıklardan kaynaklı olabileceği gibi çalışmalarda bazı ayrımların tam olarak yapılmaması da olabilir. Bunun yanında, daha iyi sonuçlar için öncelikle doğru ve güvenilir veriler elde edilmesi için arıcıların, sektörle ilgili kayıt tutmaları önerilebilir. Bölgesel farklılıklardan dolayı anket veya saha çalışmalarının bölge insanları tarafından yapılması için üniversiteler veya tarım il müdürlükleri öncülük yapması da önerilebilir.

Anahtar kelimeler: Arı, arıcılık, arıcılık sorunları, Malatya örneği

A Socio-Economic Review for Beekeeping Activity: Example of Malatya Province

Abstract: Beekeeping is an area open to development. There can be significant differences from region to region. Even within the same region, it is affected by many factors. In this study, the structural features and production problems of beekeeping enterprises in Malatya province were examined. The results of 77 surveys conducted between November 2020 and February 2021 for those engaged in beekeeping activities were evaluated. It was observed that the average honey yield per hive was 11.87 kg. This amount was found to be different in a statistically significant degree from Turkey's average. In this study, unlike other studies, a different result was found from the answers given to the question of the creatures known to be most harmful to the bee. Of the answers to this question, 68.8% were bee-eaters, 24.7% were wild bees, 3.9% were hedgehogs and 2.6% all of them. Consequently, considering the studies on beekeeping problems, it is noteworthy that a standard cannot be reached in general. The reason for the differences in the studies may be of regional origin. Or it may be that some distinctions are not fully made in the studies. Besides, for better results, first of all, accurate and reliable data should be obtained. For this purpose, more comprehensive data can be obtained by ensuring that beekeepers keep records about the sector. Due to regional differences, universities or provincial directorates of agriculture may take the lead in conducting surveys or field studies by the people of the region.

Keywords: Bee, beekeeping, beekeeping problems, Malatya example

Giriş

Arıcılık faaliyetleri başta bal olmak üzere sadece arı ürünleri üretiminde değil aynı zamanda bitki tozlaşmasında da önemli bir yere sahiptir. Arıcılık faaliyeti asıl meslek olarak yapılabileceği gibi diğer hayvancılık faaliyetleri ile kıyaslandığında daha az sermaye gerektirmesi ve arazi mülkiyeti zorunluluğu olmaması nedeni ile her kesimden insanın ek iş olarak da yapabileceği bir gelir kaynağıdır. Türkiye arıcılık potansi-

yelinde oldukça iyi bir yere sahiptir. Dünyadaki arı ırklarından %20'si ülkemizde bulunmaktadır. Arıcılık sektöründe en önemli etken iklim şartları ve ballı bitki çeşitliliğidir. Dünyadaki bal verimi olan bitki çeşitlerinin %75'i Türkiye'de bulunmaktadır. Örneğin Ege Bölgesi Dünya üzerinde çam balı üretilen birkaç alandan birisidir. Türkiye'de 2016 yılında yaklaşık 8 milyon arılı kovana sahip olduğu ve 100.000 ton bal üretimi yapıldığı belirtilmektedir. Buna rağmen Türkiye arı ürünleri üretiminde ve ihracatında verimlilik olarak istenilen düzeyde değildir (Borum, 2017; Çevrimli ve Sakarya, 2018a; Çevrimli ve Sakarya, 2018b). 2003-2017 yılları arasında kapsayan çalışma-

Geliş Tarihi/Submission Date : 12.07.2021
Kabul Tarihi/Accepted Date : 04.11.2021

*Bu çalışmanın bir kısmı farklı bir başlık ile 5. Uluslararası Erciyes Bilimsel Araştırmalar Kongresi'nde özet bildiri olarak sunulmuştur.

da ülkemizdeki bal üretim miktarı ve kovan sayısı her geçen yıl artmasına rağmen verimliliğin genel olarak azaldığı belirtilmektedir. Türkiye, dünya ülkeleri arasında arılı kovan sayısı ve yıllık bal üretim miktarında Çin'den sonra ikinci sıradadır (Çevrimli, 2019). Arıcılığın yaygınlaştırılması ve gereken önemin verilmesi durumunda köyden kente göçü engelleyecek sosyo-ekonomik katkısının olabileceği de belirtilmektedir (Çevrimli ve Sakarya, 2019; Sıralı ve ark., 2018).

Arıcılık faaliyetlerinin her geçen gün arttığı ülkemizde sorunların belirlenmesi ve bu sorunlara çözüm bulunması halinde arıcılık sektörü gerçek değerine ulaşabilir. Sektörün doğru bilgi eksikliği, ekonomik yönü, arıcılık için uygun yer bulma gibi sorunları vardır. Bu ve benzer sorunlara çözüm bulunması sektörün geleceği için önemlidir. Çözüm bulunmayan sorunlar beraberinde başka sorunlara da neden olabilir. Bu eksiklik nedeniyle arılar için gereksiz ilaç kullanılabilir. Bu durum hem arı hem de insan sağlığı açısından sorun oluşturabilmektedir (Borum, 2017; Ceylan ve Sarı, 2017).

Gereç ve Yöntem

Çalışmada Malatya merkezde arıcıların malzeme almak için uğradıkları işletmelerden yardım alınarak, 2020 yılı Kasım ayı ile 2021 yılı Şubat ayları arasında basit tesadüfi örnekleme ile yapılan 77 adet anket sonuçları değerlendirilmiştir. Rastgele örnekleme yöntemi toplumda arıcılık yapanlar arasından seçilmiştir. Yaş, eğitim durumu, meslek gibi demografik soruların yanı sıra arıcıların bilgi ve bilinç düzeylerini belirlemek için bir takım sorular yöneltilmiştir. Ayrıca arıcılardan ilgili kurumlardan en çok hangi konuda destek talepleri olduğuna yönelik bilgiler istenmiştir. Çalışmada bulunan nominal değişkenler için yüzde-frekansı bilgisi ve ki kare testleri kullanılmıştır. Verilerin daha önceki ortalamalarla karşılaştırmalarında tek örneklem t testi uygulanmıştır. İstatistik analizler için SPSS 21 paket programından yararlanılmıştır.

Bulgular

Çalışmadan elde edilen bazı genel bulgular Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Arıcılık faaliyetindeki kişilerin demografik ve bazı genel bilgileri

	Ortalama	Minimum-maksimum
Arıcılıkla faaliyetinde olan kişilerin yaş bilgileri	44.78	25 - 76
Arıcılık faaliyeti yapılan yıl bilgileri	15.14	4 - 40
Kovan başına ortalama bal verimi (kg)	11.87	5 - 20
Sahip olunan kovan sayısı	61	5 - 300
Yıl içinde sönen (ölen) kovan sayısı	8.68	0 - 50

Arıcılık faaliyetleri bölgeden bölgeye bir takım farklılıklar gösterebilmekte ve birçok farklı faktörden etkilenmektedir. Bu farklılıklardan dolayı yapılacak olan çalışmaların da bölgeler itibarıyla yapılmasının daha iyi sonuçlar ortaya koyabileceği düşünülmektedir. Anket çalışmaları ile farklı görüş ve öneriler toplanacağı gibi saha çalışmaları ile bölgeye özgü ırk, ballı çiçek çeşitleri, arı zararlıları, kovan tipi gibi bölgesel farklılıklara göre yapılacak olan değerlendirmelerin faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu çalışmaların genel sorunlardan sonra bölgeye göre özele inmesi ve aralıklarla yapılması faydalı görülmektedir. Yapılmış olan anket çalışmaları vardır. Ancak bunun yaygınlaştırılması ve her bölge için ayrı olarak değerlendirilmesi daha faydalı olabilir (Borum, 2017; Çakmak ve ark., 2003a). Bu çalışmada Malatya ilinde arı yetiştiriciliği yapan işletmelerin yapısal özellikleri ve üretime ilişkin sorunları incelenmiştir.

Arıcılardan %63.6'sının kurs sertifikası varken %36.4'ü kurs sertifikasına sahip değildir. Sertifika sahibi olanlardan %18.4'ü kurslarda verilen eğitimi yeterli bulmuşken %81.6'sı verilen eğitimi yeterli bulmadığını belirtmişlerdir. Arıcıların %90.9'u arıcılıkla ilgili bilgi eksiklikleri olduğunu belirtirken, %9.1'i böyle bir eksikliklerinin olmadığını belirtmişlerdir.

Arıcıların arıcılık faaliyetine yönelim nedenleri, çalışmak için seçtikleri arı ırkları ve seçtikleri ırkları tercih nedenleri ile ana arılarının yaşlarına ilişkin bulgular Tablo 2'de sunulmuştur.

Arıcıların en son mezun oldukları eğitim düzeyi, arıcılıkla ilgili okumuş oldukları kitap sayıları ve arıcılıkla ilgili soruları olması durumundaki bilgi edinme kaynaklarına ilişkin bilgiler Tablo 3'te sunulmuştur.

Katılımcıların biri dışında tamamının varroa (*Varroa destructor*) tespitini yapabildikleri görülmüştür. Ayrıca %60'ı yavru çürüklüğü etkenini (*Paenibacillus larvae*), %35'i nosema (nosemosis) ve %34'ü kireç hastalığını (*Ascosphaera apis*) tespit edebildiklerini belirtmişlerdir. Arıcıların %39'u mevsimi geldiğinde her ilacın tedbir amaçlı olarak verildiğini belirtirken, %61'i ilaçları sadece hastalık görülmesi halinde kullandıklarını belirtmişlerdir. Çalışmaya katılan arıcıların %97.4'ü kurumların sektöre yeterince destek vermediğini belir-

tirken, %2.6'sı yeterli desteğin verildiğini belirtmişlerdir.

Arılıklarda, hastalık dışında arıya dışardan en çok zarar veren canlılara, zirai ilaçların arı ölümlerine olan

etkisi ve en çok koloni kaybına neden olan durumlara ilişkin bulgular Tablo 4'te verilmiştir. Ayrıca arıcıların kurumların yapabilecekleri destek beklentileri ve arıcılık sektöründe en yüksek maliyetleri gösteren bulgular da Tablo 4'te sunulmuştur.

Tablo 2. Arıcılık yapma nedenleri, tercih edilen arı ırkları ve ırk tercih nedenleri ile ana arı yaşları

	Frekans	Yüzde (%)
Asıl meslek olarak arıcılık yapıyorum	19	24.7
Evin bal ihtiyacı için arıcılık yapıyorum	18	23.4
Ek gelir için arıcılık yapıyorum	40	51.9
Tercih ettiğim ırk Kafkas	57	74
Tercih ettiğim ırk Karniyol	9	11.7
Tercih ettiğim ırk Belfast	4	5.2
Tercih ettiğim arı ırkını bilmiyorum	7	9.1
Tercih nedenim verimi yüksek olması	52	67.5
Tercih nedenim piyasada bulunan ırk olması	13	16.9
İrk tercih nedenimi bilmiyorum	12	15.6
Ana arıları 1-2 yaşında olanlar	10	13.0
Ana arıları 2-3 yaşında olanlar	2	2.6
Ana arıları her yaşta olabilecekler	9	11.7
Ana arıların yaşlarını bilmeyenler	56	72.7

Tablo 3. Arıcıların eğitim durumları, arıcılıkla ilgili kitap okuma sayıları ve bilgi edinme kaynakları

	Frekans	Yüzde (%)
İlkokul mezunu	37	48.1
Ortaokul mezunu	16	20.8
Lise mezunu	2	2.6
Önlisans mezunu	2	2.6
Lisans mezunu	20	26.0
Hiç kitap okumayanlar	64	83.1
Sadece 1 kitap okuyanlar	7	9.1
Okunan kitap sayısı 4 ve üzeri olanlar	6	7.8
Bilgi kaynağı başka bir arıcı	63	81.8
Bilgi kaynağı kitap veya internet	12	15.6
Bilgi kaynağı arıcılar birliği	2	2.6
Bilgi kaynağı tarım müdürlükleri	0	0.0

Tablo 4. Arılara zarar veren canlılar, zirai ilaçların etkisi, en çok koloni kayıp nedenleri, kurumlardan beklenen destekler ve sektördeki en yüksek giderler

	Frekans	Yüzde (%)
En çok zarar veren canlı arı kuşu	53	68.8
En çok zarar veren canlı yabancı arı	19	24.7
En çok zarar veren canlı kirpi	3	3.9
Yukarıdakilerin hepsi zarar veriyor	2	2.6
Arı ölümlerinde zirai ilaç etkisi çok oluyor	55	71.4
Arı ölümlerinde zirai ilaç etkisi az oluyor	18	23.4
Arı ölümlerinde zirai ilaç etkisi hiç olmuyor	2	2.6
Arı ölümlerinde zirai ilaçların etkisini bilmiyorum	2	2.6
En çok koloni kayıp nedeni varroa	49	63.6
Koloni kayıp nedenlerini bilmiyorum	12	15.6
En çok koloni kayıp nedeni hastalıklar	8	10.4
En çok koloni kayıp nedeni zirai ilaçlamalar	4	5.2
En çok koloni kayıp nedeni soğuk hava	2	2.6
En çok koloni kayıp nedeni açlık	2	2.6
Değerinde bal satılması için destek bekleyenler	51	66.2
Baraka, karavan, pikap gibi alımlar için faizsiz kredi verilmesi	17	22.1
Kovan başına verilecek nakit para desteklerinin artırılması	9	11.7
En yüksek gider; kek, yem gibi arı beslemeleri	64	83.1
En yüksek gider ulaşım masrafları	9	11.7
En yüksek gider ilaç alımları	4	5.2

Katılımcıların %83.8'i iyi bir yer bulmada sıkıntı çektiklerini, %16.2'si ise böyle bir sıkıntılar olmadığını belirtmişlerdir. Benzer olarak arıcıların %85.7'si gittikleri yayladan az memnun olduklarını, %14.3 çok memnun olduklarını belirtmişlerdir. Arıcılardan %44.2'si konaklama yerlerinin kendilerine ait olduğunu belirtirken, %55.8'i ise konaklama yerlerinin kendilerine ait olmadığını belirtmişlerdir. Arıcıların %87'si kurumlar tarafından mevcut konaklama yerlerinden daha iyi bir yer bulunması durumunda gidebileceklerini, %13'ü böyle bir duruma ihtiyaçları olmadığını belirtmişlerdir.

Arıcıların %68.8'i ürettikleri ürünleri pazarlamada sıkıntı yaşadıklarını, %31.2'si böyle bir sıkıntılar olmadığını belirtmişlerdir. Çalışmaya katılanların %48.6'sı arıcılar birliğine üye iken %51.4 üye değildir.

Arıcılıkta en önemli faktör olan ballı çiçeklerin doğada artırılmasının arıcılığa katkısının 1 ile 5 arasında puanlandığı değişkenin ortalaması 4.01 olarak bulunmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Arıcılıkla uğraşanların yaş ortalamasını 47.3 sayısal değeri ile veren çalışmalar vardır. Ayrıca sayısal değer olmaksızın orta yaş ve üzeri olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur. (Ayvazoğlu ve ark., 2017; Kutlu ve Kılıç, 2020; Söğüt ve ark., 2019; Uzundumlu ve ark., 2011). Bu çalışmada da arıcılıkla uğraşanların yaş ortalaması benzer olarak 44.78 bulunmuştur. Arıcılığın emeklilik sonrası bir uğraş veya ek gelir gibi düşüncelerle ikinci planda kaldığı, genç nüfusun yüksek işsizlik oranlarına rağmen arıcılığa yönelmedikleri söylenebilir.

Bu çalışmada arıcılık yapılan yıl ortalaması 15.14 olarak bulunmuştur. Bu sonuç arıcılık yapılan zamanı 10, 15, 18 yıl olarak belirleyen çalışmalar ile benzerdir (Ayvazoğlu ve ark., 2017; Kutlu ve Kılıç, 2020; Söğüt ve ark., 2019; Tunca ve Çimrin, 2012). Arıcılık yapılan zamanın mesleki tecrübe açısından yeterli olduğu söylenebilir.

Kovan başına ortalama bal üretimini 4.6 kg, 5.67 kg olarak düşük bulan çalışmalar vardır. Fakat 15.6 kg olarak belirten çalışmaların yanında 30 kg olduğunu belirten arıcıların varlığı da belirtilmektedir (Ayvazoğlu ve ark., 2017; Çakmak ve ark., 2003a; Kekeçoğlu ve Göç Rasgele, 2013; Onuç ve ark., 2019). Bu çalışmada ise kovan başına ortalama bal veriminin 11.87 kg olduğu görülmüştür. Bu miktar 14 kg olarak verilen Türkiye ortalamasından anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

En son mezun olunan okul değişkeni her eğitim seviyesi için bu ve benzer diğer çalışmalarda ayrı ayrı incelenmiştir. Ancak yükselen eğitim seviyesi nedeni ile artık üniversite düzeyini diğer eğitim düzeylerinin tamamı ile karşılaştırmanın daha anlamlı olacağı

düşünülmektedir. Arıcılık faaliyetindeki kişilerden üniversite mezunu olanların oranını %0 ile %27 arasında belirleyen çalışmalar mevcuttur (Ayvazoğlu ve ark., 2017; Kekeçoğlu ve Göç Rasgele, 2013; Tunca ve Çimrin, 2012). Bu çalışmanın örnekleme içinde üniversite mezunu olanların oranı %26 olarak bulunmuştur. Bu durum arıcılığın daha eğitilmiş ve bilimsel metotlarla yapıldığının göstergesi olmayabilir. Ülkenin yükselen eğitim seviyesi ile her alanda üniversite mezunlarının doğal olarak çoğaldığı düşünülmektedir.

Arıcılığı asıl meslek olarak yapıp kazanç getiren başka faaliyetle uğraşmayanların oranının %1.4 ile %40 arasında değiştiğini bildiren çalışmalar vardır (Ayvazoğlu ve ark., 2017; Çakmak ve ark., 2003a; Kekeçoğlu ve Göç Rasgele, 2013). Bu çalışmada ise bu oran %24.7 olarak bulunmuş olup arıcılık dışındaki meslekler sorulmuşsa da çalışmanın amacına doğrudan katkı sunmaması ve belli bir meslek grubunda yoğunlaşma olmaması nedeniyle yorum yapmak gereksiz bulunmuştur.

Koloni kayıpları için yıllara göre %10.5 ile %23.15 arasında farklı oranlar bulunmuştur. Kışlatmaya bağlı kayıplar için %10-19 arasında belirten çalışmalar da mevcuttur (Cengiz ve Yazıcı, 2018; Kutlu ve Kılıç, 2020; Tunca ve Çimrin, 2012). Bu çalışmada da benzer olarak yıllık ortalama %14.23 koloni kaybı olduğu görülmüştür.

Hastalık denebilecek zararlılar içinde en çok varroanın olduğu çalışmalardan da anlaşılmaktadır. Varroanın zararı konusunda kaynaklarda %58 ile %94 arasında olduğuna dair çalışmalar vardır. (Çakmak ve ark., 2003b; Kutlu ve Kılıç, 2020; Tunca ve Çimrin, 2012). Bu çalışmada ise sadece 1 kişi hiçbir hastalığı tespit edemediğini belirtmiş, onun dışında arıcıların tamamının varroa tespitini yapabildikleri görülmüştür.

Bu ve benzer çalışmalarda varroayı tespit oranlarının yüksekliği bu zararlının etkisinin büyüklüğünü de gösteriyor olabilir. Arı kaybına en çok neden olanlar arıcılardan tarafından verilen %63.6 varroa cevabı da bu durumu desteklemektedir. Bu durum bilinçsiz ilaç kullanımına da neden olabilir. Çünkü arıcıların bilgi ve bilinç düzeylerinin düşük olması ve bilinçsiz ilaç kullanımına da veriler değerlendirildiğinde bu zararlı ile mücadelede ilaç kullanımı da araştırılması gereken bir konu olabilir. Parazitoloji yardımı ile balda kalıntı yapmayacak daha etkili ve güvenli yöntemler için çalışmalar yapılabilir. Kurumların veya bölgesel olarak muhtarların organizesi ile hastalık ile mücadeleler aynı anda başlayarak bu zararlının aynı anda bitirilerek yeniden yayılması önlenebilir.

Arıcılardan yer kirası alınması, muhtar ve bölge halkının arıcıların konaklamasını istememesi vb. konaklama sıkıntıları %32.7, %78.2 olarak verilmiştir (Çakmak ve ark., 2003a; Kutlu ve Kılıç, 2020; Söğüt ve ark., 2019). Bu çalışmanın bulguları da benzer

sorunlara dikkat çekmektedir. Hatta arıcılardan kendilerine ait konaklama yeri olanların oranı %44.2 olmasına rağmen bunların da %70.6'sı daha iyi yer bulunması halinde bu yerlere gidebileceklerini belirtmişlerdir. Bu sonuçların tümü, arıcıların doğrudan sıkıntı yaşamaları dahi konaklama yeri konusundaki memnuniyetliliklerinin göstergesi olabilir.

Daha önce yapılan çalışmalarda arıcıların %93'ü bilgi eksikleri olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada sertifika için verilen eğitimin yetersizliğine de vurgu yapılmıştır. Arıcıların soru sormak için üniversitelere yönelmediği deneyimli arıcılara danıştıkları belirtilmiştir (Çakmak ve ark., 2003a; Erkan ve Aşkın, 2001; Kutlu ve Kılıç, 2020). Bu çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur. Konunun bulguları kendi içinde de bu durumu desteklemiş, verilen eğitimi yeterli bulma görüşü ile bilgi eksikliği arasındaki ilişki istatistik olarak anlamsız bulunmuştur. Yani her ne kadar arıcılardan %18.4'ü sertifika için verilen eğitimi yeterli bulduklarını belirtse de mesleki bilgi konusunda eksikleri olduğunu da belirtmişlerdir. Bilgi eksikliği ile kitap okuma arasındaki ilişkiye bakılan ki kare testi de istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Hatta herhangi bir sayıda kitap okuyanların tamamı bilgi eksikleri olduğunu belirtmişken, bilgi eksikleri olmadığını belirtenlerin tamamı hiç kitap okumayanların arasından çıkmıştır. Bu durum arıcılıkla ilgili bilgilerin hala geleneksel yollardan elde edildiğinin göstergesi olabileceği gibi teoriden ziyade pratikle alakalı olduğunun da göstergesi olabilir. Bu nedenle kurs eğitimlerinde uygulamaya yer verilmesi faydalı olabilir. Arılar için ilaç kullanma durumu da arıcıların bilgi ve bilinç düzeyi belirleyicisi olabilir. Hastalık görülmesi dahi mevsimi geldiğinde her ilacı tedbir amaçlı kullananların %39 olan oranı yüksek bir orandır. Hastalık görülmediği halde ilaç kullanımı antibiyotik direnci gibi durumlara neden olabileceği gibi ilaç kalıntısı nedeni ile insan sağlığı için de ciddi bir tehdit olabilir (Kılıç ve Yenilmez, 2019). Baldaki kalıntı nedeni ile geçmiş yıllarda Avrupa ülkelerine bal satışının yasaklanması da konunun önemini göstermektedir (Çakmak ve ark., 2003a). Konunun arıcılardaki bilgi eksikliği ile karşılaştırması yapıldığında istatistik olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Yani arıcılardan bilgi eksikliği olmadığını iddia edenlerin de tedbir amaçlı ilaç kullandığı görülmüştür. Bu durumda arıcılık hakkında bilgi eksikliği olmayanlarda da bilinç eksikliği olduğu söylenebilir. İlaç kullanımı ile kitap okuma arasında yapılan karşılaştırma da benzer sonuç vermiştir. Yani arıcılıkla ilgili kitap okumanın bilinçsiz ilaç kullanımına engel olmadığı söylenebilir. Bununla birlikte gereksiz ilaç kullanımının gereksiz maliyete de neden olacağı unutulmamalıdır.

Bilgi ve bilinç konusundaki olumsuz görünen tabloya rağmen arıcıların bilgi eksiklikleri olduğunu kabul etmeleri gelecek için umut verici olabilir. Bu durum yeterli ve doğru bilgilendirme yapılması halinde yanlışta ısrar etmemelerinin nedeni olabilir. Çünkü giri-

şimcilerin başarısı, iyi bir misyon ve vizyonu için eğitim seviyesi, bilgi edinme kaynakları, yeniliğe açık olmaları, öz güvenleri, bilgi ve bilinç düzeyleri önemlidir (Çelik, 2019; Çetinkaya Bozkurt ve Alparslan, 2013).

Bu çalışmada diğer çalışmalardan farklı olarak sorulmuş olan, arıya en çok zarar veren canlılarından %68.8 arı kuşu oranı dikkat çekicidir. Karşılaştırma yapılan çalışmalarda buna dair veri bulunmadığı görülmüştür. Bu konuda daha kapsamlı çalışmalar yapılabileceği gibi ornitologların da yardımıyla farklı çözümler önerileri geliştirilebilir.

Zirai ilaçların arı ölümlerine neden olması önceki çalışmalarda da raporlanmıştır (Çakmak ve ark., 2003a; Kutlu ve Kılıç, 2020). Bu çalışmada da zirai ilaçlamaların arı ölümlerine neden olduğu belirtilmiştir. Ancak bu durumun sadece gözlemlenmesi değil bilimsel çalışmalarla desteklenmesinin, ziraat mühendisi ve entomoloji uzmanlarınca bölgelere özgü çalışma yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Verimi artırmada arıların ırkı da önemlidir. Bu çalışmada ırk tercih nedeni %67.5 oranında "verimi yüksek olduğu için" şeklindedir. Ancak arıcıların verim yüksekliği tespitini araştırma ve gözlemlenme değil duyumla elde ettikleri gözlenmiştir. Arıcıların bilgi düzeylerine ilişkin bulgularda bu durumu desteklemektedir. Oysa konunun, bölgenin iklimi ve bölgede arıların yararlandığı çiçeklerin yapısına göre değerlendirilmesinin daha faydalı olacağı düşünülmektedir. Örneğin, Kafkas ırkı arı hortumu en uzun ırk olarak bilinmekte ve tercih edilmektedir. Arıların faydalandığı çiçek özlerinin yüzeysel olduğu bitkilerde bu özellik önemini yitirmiş olacağından farklı ırklar tercih edilebilir. Veya bir bölgede soğuk iklime dayanıklı özelliklerinden dolayı tercih ırkların, ılıman iklimde tercih edilmesi gereksiz olabilir.

Örneklem seçimleri kayıtlı arıcılar arasından yapılabılır. Ancak kayıt dışı arıcılık faaliyeti ile uğraşanların sayısı da istatistik çıkarma açısından önemli olabilir. Arıcılar birliğine üyeliği %76 olarak belirleyen çalışma vardır (Kekeçoğlu ve Göç Rasgele, 2013). Bu çalışmada ise katılımcıların %48.6'sı arıcılar birliğine üye iken %51.4'ü üye değildir. Birliğe üye olmanın, kooperatifleşme ve iş birliği anlamındaki katkıları ayrı bir araştırma konusu olabilir. Ancak bu durum önemli bir konuya daha dikkat etmeyi gerektirebilir. Sadece kayıtlı arıcılardan elde edilen verilerle yapılacak çalışmalarda eksik bilgiler olma ihtimali olabilir. Çünkü kayıt dışı arıcılık faaliyeti yapanlara ilişkin verilere ulaşılamaz. Bu eksikliğin oransal değerlerden çok sayısal değerleri etkileyeceği düşünülmektedir. Örneğin kovan başına verim, oran hesabı olduğu için kullanılan örneklem için bulunabilir. Ancak toplam arılı kovan sayısı gibi değerler gerçek değerinden daha düşük çıkacaktır. Benzer olarak kayıt dışı arıcılık nedeni ile konaklama planlamalarında da zorluk yaşa-

nabilir. Bazı bölgelerin arı kolonisi yoğunluğu çok olurken bazı bölgelerin daha az olabilir. Bu durum ise istatistik çalışmalarının amacına ulaşmasına engel olabilir. İstatistiğin amaçlarından biri eksik bilgilerden çıkarım yaparak geleceğe yönelik planlamalar yapmaktır. Bunun içinde öncelikle verilerin doğru ve güvenilir olması gerekmektedir (Baydemir, 2021).

Yapılan çalışmalarda ürün pazarlama sorunlarına dikkat çekilmiştir (Erkan ve Aşkın, 2001; Kekeçoğlu ve Göç Rasgele, 2013; Söğüt ve ark., 2019). Bu çalışmanın sonuçları da benzer olup sektörün pazarlama sorunlarının devam ettiği söylenebilir.

Arıcılıkta en önemli faktörlerden biri de ballı bitkilerdir. Bu tür bitkilerin doğada artırılmasının arıcılığa katkısı arıcılar tarafından önemli bulunmuştur. Ancak konunun kişisel görüş ve sadece gözlemlerle ele alınması yerine, uzman kişilerce bilimsel çalışmalarla desteklenmesi daha faydalı olabilir. Ballı bitkilerin yaygınlaşması durumundaki verim artışı için Orman Bölge Müdürlüklerinin katkıları ile çalışmalar yapılabilir (Sönmez ve Gencal, 2019).

Sonuç olarak; arıcılığın, gelişime açık olduğu ve geliştirilmesinin katkılarına birçok çalışmada vurgu yapılmıştır. Ancak konu üzerinde yapılan çalışmalar göz önüne alındığında bir standarda ulaşamaması dikkat çekicidir. Sorunların yoğunlaştığı konular vardır. Ancak sayısal değerlerde yine de farklılıklar bulunmaktadır. Türkiye'nin arıcılık faaliyetlerine uygunluk potansiyeli konusunda fikir birliği vardır. Arı zararlılarından varroa ile yapılan çalışmalardan elde edilen benzer sonuçlar vardır. Pazarlama, arıcıların uygun yer sıkıntısı yaşaması, doğru bilgi kaynağına ulaşma konularında benzerlik bulunmaktadır. Çalışmalarda farklılıkların nedeni bölgesel farklılıklardan kaynaklı olabileceği gibi çalışmalarda bazı ayrımların tam olarak yapılmaması da olabilir. Örneğin, bal döneminde arıya şeker beslemesi yapılmış; yani şekerli bal ile organik bal üretimi ayrı değerlendirilebilir. Şekerli bal üreticilerinde verim daha yüksek olabileceği gibi pazarlama ve fiyat konusunda da ayırım olacaktır. Bu durumda da toplumda şekerli bala olan haklı ön yargı nedeni ile üreticilerinin doğru bilgi vermeme ihtimallerinin olabileceği de unutulmamalıdır. Gerekirse arılıklarda gözlemleyerek araştırma yapılması düşünülebilir. Yine araştırmalarda çalışmanın yapıldığı döneme özgü hususların açıklanması ve sonuçların ona göre yorumlanması da faydalı olabilir.

Teşekkür

Verilerin toplanması için özveriyle çalışan Oğul Bal ve Arıcılık Malzemeleri Ticaret'ten Vahap BOZDEMİR'e teşekkür ederim.

Kaynaklar

Ayvazoğlu Demir P, Aydın E, Yazıcı K, Kırmızıbayrak T. Ardahan ilinde arıcılık işletmelerinin sorunları ve

beklentileri. Eurasian J Vet Sci 2017; 33(4): 260-7.

Baydemir M. Bilimsel araştırmalarda istatistiğin ve doğru yöntem seçimlerinin önemi. Bitlis Eren Üniv Sos Bilim Derg 2021; 10(1): 29-34.

Borum AE. Güney Marmara Bölgesi'nde arıcılık anket çalışması. U Arı D 2017; 17(1): 24-34.

Cengiz MM, Yazıcı K. Ardahan yöresinde bal arısı (*Apis mellifera* L.) kolonilerinde kışlama kayıpları ve muhtemel sebepleri üzerine bir anket. U Arı D 2018; 18(2): 111-22.

Ceylan DA, Sarı F. Konya İli için çok ölçütlü karar analizleri ile en uygun arıcılık yerlerinin belirlenmesi. U Arı D 2017; 17(2): 59-71.

Çakmak İ, Aydın L, Seven S, Korkut M. Güney Marmara Bölgesi'nde arıcılık anket sonuçları. U Arı Drg 2003a; 3(1): 31-6.

Çakmak İ, Aydın L, Gulegen E, Wells H. Varroa (*Varroa destructor*) and tracheal mite (*Acarapis woodi*) incidence in the Republic of Turkey. J Api Res 2003b; 42(4): 57-60.

Çelik E. Modernleşme sürecinde toplumsal bilincin dönüşümü ve eğitim yönetimine yansımaları. KUE-IBD 2019; 9(2): 521-46.

Çetinkaya Bozkurt Ö, Alparslan AM. Girişimcilerde bulunması gereken özellikler ile girişimcilik eğitimi: girişimci ve öğrenci görüşleri. Girişimcilik ve Kalkınma Dergisi 2013; 8(1): 7-27.

Çevrimli MB, Sakarya E. Türkiye arıcılık sektöründe mevcut durum, sorunlar ve çözüm önerileri. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2018a; 15(1): 58-67.

Çevrimli MB, Sakarya E. Arıcılık işletmelerinin yapısal özellikleri ve sorunları; Ege Bölgesi örneği. Eurasian J Vet Sci 2018b; 34(2): 83-91.

Çevrimli MB, Sakarya E. Economic analysis of beekeeping enterprises in Aegean Region, Turkey. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2019a; 66: 109-15.

Çevrimli MB. Assessment of the effects of subsidies to the beekeeping sector in Turkey on the number of hives and amount of honey produced. Vet Hekim Der Derg 2019b; 90 (2): 115-21.

Erkan C, Aşkın Y. Van ili Bahçesaray İlçesi'nde arıcılığın yapısı ve arıcılık faaliyetleri. YYÜ Tar Bil Derg 2001; 11(1):19-28.

Kekeçoğlu M, Göç Rasgele P. Düzce ili Yığılca ilçesindeki arıcılık faaliyetleri üzerine bir çalışma. U Arı D 2013; 13(1): 23-32.

Kılıç E, Yenilmez F. Türkiye ve AB ülkelerinde antibiyotik kullanımı, antibiyotik direnci ve dış ticaret den-

gesi üzerine bir değerlendirme. ESTÜDAM Halk Sağ Derg 2019; 4(1): 45-54.

Kutlu MA, Kılıç Ö. Malatya arıcılık faaliyetlerinin genel durum tespiti çalışması. DÜBİTED 2020; 8: 737-45.

Onuç Z, Yanar A, Saner G, Güler D. Arıcılık faaliyetinin ekonomik yönü üzerine bir analiz: İzmir-Kemalpaşa ilçesi örneği/Türkiye. Ege Üniv Ziraat Fak Derg 2019; 56(1): 7-14.

Sıralı R, Maraz Z, Aksoy D. Türkiye arıcılığının 1935 yılından 2015 yılına kadar değerlendirilmesi. U Arı D 2018; 18(1): 52-62.

Söğüt B, Şeviş HE, Karakaya E, İnci H. Arıcılık işletmelerinde mevcut durum, temel sorunlar ve çözüm önerileri üzerine bir araştırma (Bingöl İli örneği). U Arı D 2019; 19(1): 50-60.

Sönmez T, Gencal B. Bursa Orman Bölge Müdürlüğü sınırlarında bulunan bazı odunsu bitki türleri ile kurulabilecek potansiyel bal ormanı alanlarının belirlenmesi. AÇÜ Orman Fak Derg 2019; 20(2): 156-63.

Tunca Rİ, Çimrin T. Kırşehir İlinde bal arısı yetiştiricilik aktiviteleri üzerine anket çalışması. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2012; 2(2): 99-108.

Uzundumlu AS, Aksoy A, Işık HB. Arıcılık işletmelerinde mevcut yapı ve temel sorunlar; Bingöl İli örneği. Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg 2011; 42(1): 49-55.



Kedi Sahiplerinin Kedilerinin Beden Dilini Anlama Seviyelerinin Belirlenmesi: Elazığ İli Örneği

Ömer ERTEN^{1,a}, Fikret ESEN^{2,b}, İbrahim ŞEKER^{2,c}, Burak Fatih YÜKSEL^{3,d}

¹Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Kemaliye Hacı Ali Akın Meslek Yüksek Okulu, Erzincan-TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Zootehni Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

³Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

Orcid No: ^a0000-0003-0075-1149; ^b0000-0003-3762-7901; ^c0000-0002-3114-6411; ^d0000-0002-7256-9189

Sorumlu yazar: Ömer ERTEN; E-posta: oerten@erzincan.edu.tr

Atıf yapmak için: Erten Ö, Esen F, Şeker İ, Yüksel BF. Kedi sahiplerinin kedilerinin beden dilini anlama seviyelerinin belirlenmesi: Elazığ İli örneği. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2022; 19(1): 18-23

Öz: Bu çalışmada, evcil dostlarımızdan olan kedilerin mevcut durumu, beslenme şekilleri ve barınma şartları ve kedi sahiplerinin demografik yapıları ile kedilerinin beden dilini anlama seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırma materyalini, Elazığ ilinde yaşayan, pet kliniklerine ve hayvan hastanesine gelen, rastgele belirlenmiş ve gönüllü olarak katılan, yaşları 18-52 (ortalama 29.90) arasında değişen toplam 93 kedi sahibi ile yüz yüze yapılan anket çalışmasından elde edilen veriler oluşturmuştur. Araştırma sonuçlarına göre, katılımcıların %51.60'ı erkek, %57.00'si bekar ve %66.70'inin çocuğunun olmadığı, %50.50'si lisans mezunu, %32.30'u öğrenci ve %44.10'unun ise düşük gelirli olduğu, ayrıca %33.30'unun kedisini sokaktan aldığı, %78.50'sinin veteriner hekimden bilgi edindiği, %40.90'ının tatilde iken kedisini yanında götürdüğü ve %44.10'unun kedisini market maması ile beslediği tespit edilmiştir. Katılımcıların kedi beden dili ile ilgili sorulara %51.24'ü yanlış cevap vermişlerdir. Sonuç olarak, ankete katılan kedi sahiplerinin cinsiyetinin, medeni durumlarının, çocuk sahipliği durumlarının, eğitim ve gelir durumlarının kedilerin beden dilini anlama açısından önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, kedi sahiplerinin kedilerinin beden dilini anlama konusunda yeterli olmadıkları, bu konuda önemli bir bilgi eksiklikleri olduğu açıkça anlaşılmaktadır. Bu eksikliğin giderilmesi için kedi besleyen kişilerin kedi beden dili hakkında uzman kişilerden eğitim alması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Beden dili, Elazığ, kedi

Determining The Level of Cat Owners' Body Language Understanding: The Elazığ Province Example

Abstract: In this study, it was aimed to determine the current status, feeding and housing conditions of cats, which are our pet friends, and the demographic structure of the owners and the level of understanding their cats' body language. The research material consisted of the data obtained from a face-to-face survey of 93 cat owners living in Elazığ, coming to pet clinics and animal hospital, randomly determined and voluntarily participating, aged 18-52 (average 29.90). According to these data, 51.60% of the participants were male, 57.00% were single and 66.70% had no children, 50.50% had undergraduate degree, 32.30% were students and 44.10% had low-income. It was also determined that 33.30% bought their cat from the street, 78.50% got information from the veterinarian, 40.90% took their cat with him while on vacation, and 44.10% fed their cat with market food. 51.24% of the participants gave wrong answers to the questions about cat body language. As a result, it was determined that the gender, marital status, parenting status, education and income status of the cat owners who participated in the survey did not have a significant effect on understanding the body language of the cats. Besides, it is clearly understood that cat owners are not qualified enough to understand the body language of their cats, and that there is a significant lack of knowledge on this subject. In order to overcome this deficiency, people who keep cats should receive training from experts about cat body language.

Keywords: Body language, cat, Elazığ

Giriş

Hayvanların evcilleştirilmesiyle başlayan süreç, pet hayvanı olarak isimlendirilen kedi ve köpek gibi evcil hayvanlar günümüzde insanoğlunun etrafında her zaman yer almıştır. Kediler ilk evcilleştirilen köpeklerden binlerce yıl sonra evcilleştirilmişlerdir (Macdonald, 1985).

Kediler insanlar ile davranışları aracılığıyla iletişim kuran sosyal hayvanlardır. İnsanlar ile kediler arasındaki sosyal ilişkilerde, kimi zaman kedilerin içgüdüsel olarak beklentileri ile insanların olağan beklentileri arasında farklılıklar vardır. Kedilerin birtakım sosyal davranışları insan davranışlarından o kadar farklıdır ki manasının sezgiyle anlaşılması imkânsızdır. Evcil hayvanlar, insanların hayatlarında onlara arkadaşlık eden bir yaşam devam ettirmektedirler. Kediler insanlarla olan ahenkli davranışları, ev hayatı içerisinde uyumlu olmaları ve insanlarla arkadaşlık etme gibi davranışsal ve karakteristik özellikleri sebebiyle en

çok talep edilen evcil hayvan türlerinden biridir (Odendaal, 2005; Crowell-Davis ve ark., 2004; Ellis, 2009; Desforjes ve ark., 2016).

Kediler, yaşam olarak bireyseldirler. Sürü düzeni olmadığı için, kendilerini tam olarak ifade edebilmeleri gereksiz çatışmalardan kaçınmaları açısından önemlidir. Bu nedenle kedilerin beden dilleri ve yüz ifadeleri oldukça belirgindir. Kediler beden dilini kullanarak, yani duruşlarıyla, uzuvlarının ve kulaklarının pozisyonunu değiştirerek ve piloereksiyon ile sinyal gönderirler. Çoğu zaman gözlerinde, ağızda, kulaklarında, kuyruğunda ve hatta kürklerinde görülen birçok görsel ipuçları sağlarlar. Bu yüzden, yüz ve vücudun her alanına ayrı ayrı bakmak ve değerlendirmek, kedi iletişim sinyalleri ve bu ipuçlarını anlamaya yardımcı olur (Sargırlı ve Atasoy, 2013; Seksel, 2014; Anonim1, 2020).

Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de evcil hayvanlara özellikle de kedilere olan ilgi ve talep her geçen gün artmaktadır. Evlerimizin birer ferdi gibi yetiştirilen kediler sahiplerine hem mutlu zamanlarında arkadaşlık etmekte hem de üzüntülü olduğu zamanlarda bir dost gibi onları mutlu etme çabası içerisine girmektedirler. Ancak, kedi sahipleri kedilerinin ne anlatmak istediğini bazen anlayamamaktadırlar. Çoğu zaman birlikte zaman geçirmiş olsalar bile hangi ruh haline sahip olduklarını tahmin bile edememektedirler. Bu açıdan kedi beden dilini anlamak ve doğru iletişime geçmek yetiştiricilik açısından önem arz etmektedir.

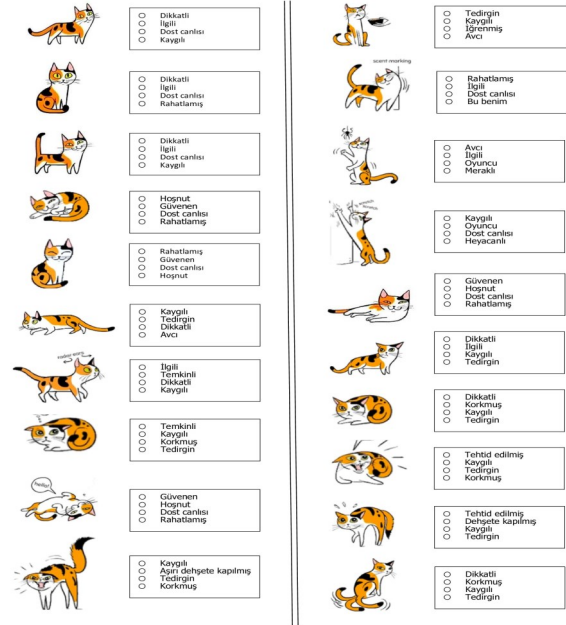
Bu çalışmada, evcil dostlarımızdan olan kedilerin davranış durumları, beslenme şekilleri ve barınma şartları ve kedi sahiplerinin sosyo-demografik yapıları ve kedilerinin beden dilini hangi ölçüde doğru anladıklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma materyalini; Elazığ ilinde yaşayan, pet kliniklerine ve hayvan hastanesine gelen, rastgele belirlenmiş ve gönüllü olarak katılan, yaşları 18-52 (ortalama 29.90) arasında değişen toplam 93 kedi sahibi ile yüz yüze gerçekleştirilen anket yöntemi kullanılarak elde edilen veriler oluşturmuştur. Araştırma için onay belgesi Fırat Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alınmıştır (Karar no:2020/03-11).

Anket çalışması 2020 yılı Haziran-Eylül ayları arasında yapılmıştır. Toplam popülasyon büyüklüğü belirlenmediği için tesadüfi örnekleme yöntemi kullanılmıştır. Anket, değerlendirme kolaylığı açısından iki farklı kısımdan oluşmuştur. Birinci kısımda veteriner kliniklerine ve hayvan hastanesine gelen kedi sahiplerinin sosyo-demografik yapılarıyla ilgili 11 soru, ikinci kısımda ise kedi sahiplerinin kedilerinin beden-vücut dilini ne düzeyde doğru anladıklarını belirlemek için Şekil 1'de ki formatta olduğu gibi görseller kullanılarak 20 soru yöneltilmiştir. Anketteki sorular, diğer

farklı çalışmalardaki benzer sorulardan da yararlanılarak, araştırma ekibi tarafından hazırlanmıştır (Demir ve ark., 2014; Erten ve ark., 2019; Salgırlı ve ark., 2012).



Şekil 1. Sizce aşağıdaki kedilerin beden-vücut dili ile anlatmak istediği nedir? (Anonim3, 2021).

Anket çalışması neticesinde elde edilen verilerin öncelikle tanımlayıcı istatistikleri hesaplanmıştır. Bu kapsamda her parametre için sayısal ve yüzde (%) frekanslar belirlenmiştir. Araştırmada kedi sahiplerinin sosyo-demografik yapıları kapsamında incelenen cinsiyet, medeni durum, çocuk sahipliği, eğitim ve gelir durumuna göre kedi beden dilini ne düzeyde bildiklerini belirlemek amacıyla sorulan sorulara verdikleri cevaplara ait doğru ve yanlış oranları (%) arasındaki karşılaştırmalarda pearson ki kare testinden yararlanılmıştır. Analizlerde önemlilik düzeyi olarak $P < 0.05$ değeri kabul edilmiştir (Akgül, 2005). Hem tanımlayıcı istatistiklerin hesaplanmasında hem de ki kare analizlerinin yapılmasında SPSS 22.0 programından yararlanılmıştır (Anonim2, 2021).

Bulgular

Katılımcılara, birinci bölümde sosyo-demografik yapılarıyla ilgili farklı parametrelerden oluşan sorular yöneltilmiştir. Ankete katılan kedi sahiplerinin cinsiyet, medeni durum, çocuk sahipliği gibi durumların analiz sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Elde edilen verilere göre, katılımcıların %51.6'sı erkek, %57.0'si bekar ve %66.7'sinin çocuğunun olmadığı tespit edilmiştir.

Tablo 1. Kedi sahiplerinin cinsiyet, medeni durum ve çocuk sahipliği durumları

		n	%
Cinsiyet	Kadın	45	48.4
	Erkek	48	51.6
Medeni durum	Evli	40	43.0
	Bekar	53	57.0
Çocuk sahipliği	Var	31	33.3
	Yok	62	66.7

Ankete katılan kedi sahiplerinin, eğitim, meslek ve gelir durumları ile ilgili sonuçlar Tablo 2'de belirtilmiştir. Katılımcıların %50.5'i lisans mezunu, %32.3'ü öğrenci ve %44.1'i 2500 (TL) ve altı gelir seviyesinde olduğu belirlenmiştir.

Katılımcıların, kedilerini sahiplenme yeri, kedi yetiştiriciliği ile ilgili bilgi edinme şekli, kedilerini tatilde iken bıraktığı yer ve kedilerini besleme şekli gibi parametrelerin analiz sonuçları Tablo 3'te verilmiştir. Anket verileri incelendiğinde; ankete katılan kedi sahipleri-

Tablo 2. Kedi sahiplerinin eğitim, meslek ve gelir durumları

		n	%
Eğitim	İlköğretim	5	5.4
	Ortaöğretim	8	8.6
	Önlisans	14	15.1
	Lisans	47	50.5
	Lisansüstü	19	20.4
Meslek	Esnaf	5	5.4
	Memur	25	26.9
	İşçi	2	2.2
	Öğrenci	30	32.3
	Çalışmıyor	9	9.7
Gelir (TL)	Diğer	22	23.7
	2500 ve altı	41	44.1
	2501-5000	29	31.2
	5001-10000	21	22.6
	10001 ve üstü	2	2.2

Tablo 3. Kedi sahiplerinin kedileriyle ilgili farklı parametrelerdeki durumları

		n	%
Kedi sahiplenme yeri	Barınak	13	14.0
	Sokak	31	33.3
	Pet shop	17	18.3
	Arkadaş	18	19.4
	Yetiştirici	14	15.1
Bilgi edinme şekli	Veteriner hekim	73	78.5
	İnternet	16	17.2
	Arkadaş	2	2.2
Tatilde bıraktığı yer	Diğer	2	2.2
	Pet pansiyon	18	19.4
	Arkadaş	29	31.2
	Yanında	38	40.9
Besleme şekli	Diğer	8	8.6
	Market maması*	41	44.1
	Profesyonel mama**	38	40.9
	Kendi hazırlıyor	14	15.1

* Marketlerde satılan temel besin öğeleri bulunan kuru mama.

** Reçetelendirilmiş veya özel beslenme koşulları için hazırlanmış kuru mama.

Tablo 4. Kedi sahiplerinin kedi beden dili görseline göre verdikleri cevap oranları

Beden dili görselleri	Doğru		Yanlış	
	n	%	n	%
İlgili	42	45.2	51	54.8
Dikkatli	49	52.7	44	47.3
Dost canlısı	78	83.9	15	16.1
Hoşnut	35	37.6	58	62.4
Rahatlamış	40	43.0	53	57.0
Avcı	38	40.9	55	59.1
Temkinli	57	61.3	36	38.7
Korkmuş	64	68.8	29	31.2
Güvenen	27	29.0	66	71.0
Aşırı dehşete kapılmış	76	81.7	17	18.3
İğrenmiş	79	84.9	14	15.1
Bu benim	30	32.3	63	67.7
Oyuncu	48	51.6	45	48.4
Heyecanlı	18	19.4	75	80.6
Rahatlamış	48	51.6	45	48.4
Endişeli	26	28.0	67	72.0
Kaygılı	26	28.0	67	72.0
Tehdit edilmiş	64	68.8	29	31.2
Dehşete kapılmış	25	26.9	68	73.1
Tedirgin	37	39.8	56	60.2

nin %33.3'ünün kedisini sokaktan aldığı, %78.5'inin veteriner hekimden bilgi edindiği, %40.9'unun kedisini yanında götürdüğü ve %44.1'inin kedisini market maması ile beslediği tespit edilmiştir.

Ankete katılan kedi sahiplerine, ikinci bölümde kedilerin beden dilini anlama seviyelerini belirlemek için sorular yöneltilmiştir. Katılımcıların anket sorularına

verdikleri cevapların istatistiksel analiz sonuçları Tablo 4'te verilmiştir. Ankete katılan kedi sahipleri kedi beden dilleri arasında en çok "iğrenmiş" sorusuna % 84.9 oranında ve en az "heyecanlı" sorusuna %19.4 oranında doğru cevap vermişlerdir.

Ankete katılan kedi sahiplerinin sosyo-demografik yapılarına göre kedi beden diline verdikleri cevap

Tablo 5. Kedi sahiplerinin sosyo-demografik yapılarına göre kedi beden diline verdikleri cevap oranları (%)

		Doğru	Yanlış
		%	%
Cinsiyet	Kadın	48.33	51.67
	Erkek	49.17	50.83
	P	0.887	
Medeni durum	Evli	47.50	52.50
	Bekar	49.72	50.28
	P	0.726	
Çocuk sahipliği	Var	46.45	53.55
	Yok	49.92	50.08
	P	0.571	
Eğitim	İlköğretim	40.00	60.00
	Ortaöğretim	58.75	41.25
	Önlisans	46.07	53.93
	Lisans	47.45	52.55
	Lisansüstü	52.11	47.89
	P	0.087	
Gelir durumu (TL)	2500 ve altı	48.66	51.34
	2501-5000	46.21	53.79
	5001-10000	51.90	48.10
	10001 ve üstü	55.00	45.00
	P	0.615	
Genel		48.76	51.24

oranları Tablo 5'te verilmiştir. Tüm sorulara verdikleri cevabın %51.24'ü yanlış cevap olarak tespit edilmiştir. Ayrıca katılımcıların sosyo-demografik yapıları ile kıyaslandığında, eğitimde ortaöğretim (%58.75) ve lisansüstü (%52.11) ile gelir durumu orta (%51.9) ve yüksek (%55.0) olan kişilerin verdikleri doğru cevap oranı yanlış cevap oranından yüksek, diğer tüm sosyo-demografik parametreler için yanlış cevap oranı daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışma bulguları genel olarak değerlendirildiğinde, katılımcıların çoğunluğunun kedilerin beden dilini anlama konusunda yeterli olmadıkları, bu konuda önemli bir bilgi eksiklikleri olduğu açıkça anlaşılmaktadır.

Tartışma ve Sonuç

Son zamanlarda Türkiye'de pet hayvanlarına olan ilgi artmış ve insanlar artık oldukça yaygın bir şekilde evcil hayvanı yetiştirir duruma gelmiştir. Kişilerin evcil hayvanı sahibi olmaları konusunda özellikle uzman kişilerin fikirleri katkı sağlamıştır. Buna rağmen, evcil hayvan sahiplerinin pet hayvanı yetiştirme konusunda ne kadar doğru uygulamalar yaptıkları ve doğru bilgiye sahip oldukları bilinmemektedir (Salgırlı ve ark., 2012).

Mevcut araştırma sonuçlarına göre, kedi sahiplerinin sosyo-demografik yapılarına göre kedi beden diline verdikleri cevap oranları (%) incelendiğinde; ele alınan tüm sosyo-demografik özellikler (cinsiyet, medeni durum, çocuk sahipliği, eğitim ve gelir durumu) bakımından kedi beden dilini ne düzeyde bildiklerini belirlemek amacıyla sorulara verdikleri cevaplara ait doğru ve yanlış oranları (%) arasındaki karşılaştırmalarda istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmamıştır ($P>0.05$). Bu sonuçlara göre kedi sahiplerinin sahip oldukları sosyo-demografik özelliklerin kedilerin beden dilini anlama açısından önemli bir etkisi olmadığı belirlenmiştir.

Ankete katılan kedi sahiplerinin sosyo-demografik özellikleri değerlendirildiğinde ise, erkek katılımcıların oranı (%51.6) daha fazladır. Bu oran bazı çalışmalardan yüksek (Demir ve Uğurlu Koç, 2014; Sarıal Kubilay, 2019), bazı çalışmalardan düşük (Oğrak ve ark., 2014), bazı çalışmalar ile benzer olduğu görülmüştür (Erten ve ark., 2019). Ayrıca bekar katılımcıların oranı (%57.0) evlilerden daha fazla olduğu görülmüştür. Bu oran benzer çalışmalar ile kıyaslandığında, bazı çalışmalardan düşük olduğu görülmüştür (Sarıal Kubilay, 2019), bazı çalışmalar ile benzer olduğu görülmüştür (Oğrak ve ark., 2014; Erten ve ark., 2019). Katılımcıların çoğunluğunun (%66.7) çocuğu yoktur. Bu oran bazı çalışmalardan yüksek (Erten ve ark., 2019), bazı çalışmalardan düşük olduğu görülmüştür (Sarıal Kubilay, 2019).

Katılımcıların eğitim düzeyine bakıldığında en fazla (%50.5) lisans mezunu ankete katılmıştır. Yapılan

benzer çalışmalar incelendiğinde, bu oran bazı çalışmalardan düşük olduğu görülmüştür (Sarıal Kubilay, 2019), bazı çalışmalar ile benzer olduğu görülmüştür (Oğrak ve ark., 2014; Demir ve Uğurlu Koç, 2014; Erten ve ark., 2019). Ankete katılan kedi sahiplerinin meslek durumu olarak ilk sırada öğrenci kategorisi (%32.3) gelmektedir. Bu oran bazı çalışmalardan yüksek (Demir ve Uğurlu Koç, 2014) iken bazı çalışmalardan düşük olduğu görülmüştür (Erten ve ark., 2019). Katılımcıların gelir düzeyi incelendiğinde düşük gelirli olanların oranı (%44.1) en fazladır. Bu oran benzer bir çalışmada düşük gelirli olanların oranından (%34.1) daha yüksektir (Sarıal Kubilay, 2019).

Ankete katılan kedi sahiplerinin en fazla sokaktan (%33.3) kedi sahiplendiği ve bu oranın bazı çalışmalardan yüksek (Erten ve ark., 2019), bazı çalışmalardan düşük olduğu (Sarıal Kubilay, 2019) tespit edilmiştir. Katılımcıların çoğunluğu (%78.5) kedileriyle ilgili bilgiyi veteriner hekimden öğrenmektedir. Bu oran benzer bir çalışmadaki orandan düşüktür (Erten ve ark., 2019). Ankete katılan kedi sahipleri tatile gittiklerinde kedilerini yanında (%40.9) götürmektedir. Bu oran benzer çalışmalarda belirtilen oranlardan düşüktür (Sarıal Kubilay, 2019; Erten ve ark., 2019). Katılımcıların çoğunluğu (%44.1) kedilerini market maması ile beslerken bu oran benzer çalışmadaki orandan yüksek olduğu tespit edilmiştir (Erten ve ark., 2019). Bunun sebebi olarak düşük gelirli kişilerin alım gücüne göre market mamasını daha çok tercih ettiği düşünülmektedir.

Beden dillerinin ne anlama geldiğini bilmek, yeni aldığımız bir kedinin eve daha rahat ve daha hızlı bir şekilde alışmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca kedide ve çevresinde oluşacak ısırlıkları ve çizikleri önleyebilir, kedinin davranış sorunlarını ve bu sorunların temel nedenlerini belirleyebilir. Bu sorunların giderilmesine yönelik bir plan geliştirilebilir (Christopherson, 2015).

Ankete katılan kedi sahipleri kedilerinin beden dilini tam olarak bilmedikleri belirlenmiştir. Katılımcıların %51.24'ü kedilerinin beden dili ile ilgili sorulara yanlış cevap vermiştir. Bunun sebebi kedi sahiplerinin kedi beden dili konusunda bilgi eksikliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca katılımcıların, kedi beden dili görsellerine verdikleri cevaplara göre; "iğrenmiş" (%84.9), "dost canlısı" (%84.9), "aşırı dehşete kapılmış" (%81.7), "korkmuş" (%68.8) ve "tehdit edilmiş" (%68.8) oranlarıyla en çok doğru cevap iken, "heyecanlı" (%19.4), "dehşete kapılmış" (%26.90), "kaygılı" (%28.0) ve "güvenen" (%29.0) görseline verdikleri cevaplar en az doğru cevap olarak belirlenmiştir. Kedi sahipleri kedilerinin beden dillerinden, kedilerin aşırı tepki, sesli ve daha açık bir şekilde gösterdikleri beden dillerini daha iyi anladıkları; duygularını tam yansıtamadıkları ve belli belirsiz bir şekilde olan beden dillerini iyi anlamadıkları tespit edilmiştir. Her ne kadar birlikte yaşasak da, gün içeri-

sinde birlikte zaman geçirmiş olsak da kedilerin beden dili ile ne anlatmak istedikleri aşikardır.

Katılımcılardan evli olanların (%52.50) ve çocuğu olan kişilerin (%53.55) yanlış cevapları, bekar ve çocuğu olmayanlara göre daha fazla olduğu görülmüştür. Evli ve çocuğu olan kişiler zamanlarını daha çok eşleri ve çocuklarına ayırdıkları için kedi benden dilini anlamada yetersiz kaldığı düşünülmektedir. Katılımcılardan ortaöğretim mezunu olan kişilerin verdikleri cevaplar %58.75 oranında, gelir durumunda ise yüksek gelirli kişilerin verdikleri cevaplar %55.00 oranında en yüksek doğru cevap olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada, ankete katılan kedi sahiplerinin cinsiyetinin, medeni durumlarının, çocuk sahipliği durumlarının, eğitim ve gelir durumlarının kedilerin beden dilini anlama açısından önemli bir etkisi olmadığı, kedilerin beden dilini benzer düzeylerde anladıkları veya anlayamadıkları belirlenmiştir. Ayrıca, kedi sahiplerinin kedilerinin beden dilini anlama konusunda yeterli olmadıkları, bu konuda önemli düzeyde bilgi eksiklikleri olduğu açıkça anlaşılmaktadır. Kedilerin beden dilini anlama bakımından araştırmada tespit edilmiş olan eksikliğin giderilmesi için kedi besleyen kişilerin kedi beden dili hakkında uzman kişilerden eğitim alması gerekmektedir. Normal olarak ev içerisinde bireylerin mimik ve davranışlarından o bireye nasıl davranacağına karar veriyor isek, evin bir bireyi gibi olan evcil hayvanlarımızın da benden dillerini bilmemiz gerekir. Kedilerimizin beden dilini anlamadığımızda, onların mutlu olup olmadığını, ıstırap çekip çekmediğini ve stres altında olup olmadığını bilemeyiz. Kedilerin beden dilini iyi anlamak ve doğru yorumlamak, kedilerin ev ortamımıza uyum sağlamalarını kolaylaştırır. Ayrıca, kedilerimizin ev ve diğer yaşam alanlarındaki doğal davranışlarını daha rahat şekilde sergileyeceği ortamları da hazırlamamıza yardımcı olacaktır.

Kaynaklar

Akgül A. Tıbbi Araştırmalarda İstatistiksel Analiz Teknikleri. Üçüncü Basım. Ankara: Emek Ofset Ltd Şti, 2005.

Anonim1. 'How to Understand Your Pet's Body Language. <https://www.thejournalnj.com/columns/how-to-understand-your-pets-body-language/>; Erişim Tarihi: 11.12.2020.

Anonim2. SPSS 22.0. Statistical package in social sciences for windows. Chicago, USA, 2021.

Anonim 3. Cat language. <https://blog.doggiedrawings.net/post/120512597686/>; Erişim Tarihi: 16.03.2021.

Christopherson K. Body Language in Cats and Dogs. <https://grandavevet.com/body-language-in-cats-and-dogs/>; Erişim Tarihi: 15.12.2020.

Crowell-Davis SL, Curtis TM, Knowles RJ. Social organization in the cat: a modern understanding. J Feline Med Surg 2004; 6(1): 19-28.

Demir P, Uğurlu Koç A. Pet hayvan (kedi-köpek) sahiplerinin veteriner kliniklerine ilişkin beklentileri. İstanbul Üniv Vet Fak Derg 2014; 40(2): 168-75.

Desforgues EJ, Moesta A, Farnworth MJ. Effect of a shelf-furnished screen on space utilisation and social behaviour of indoor group-housed cats (*Felis silvestris catus*). Appl Anim Behav Sci 2016; 178: 60-8.

Ellis SLH. Environmental enrichment Practical strategies for improving feline welfare. J Feline Med Surg 2009; 11(11): 901-12.

Erten Ö, Öztürk Y, Yılmaz O. Türkiye'de pet hayvan sahiplerinin sosyo-demografik yapıları ve pet hayvancılığına bakışları; Alanya-Mardin örneği. MAE Vet Fak Derg 2019; 4 (2): 76-83.

Macdonald DW. The Complete Book of the Dog. London: Pelham Books Ltd., 1985; p.116.

Odendaal JSJ. Science-based assessment of animal welfare: Companion animals. Rev Sci Tech 2005; 24(2): 493-502.

Oğrak ZY, Türkmen A, Yılmaz C. Sivas İlinde pet hayvanları yetiştiriciliği eğiliminin araştırılması. Türk Tarım Gıda Bilim Tek Derg 2014; 2(4):171-4.

Salgırlı Y, Atasoy F. Hayvan Davranışları ve Refahı. Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Yayını, 2013; s.76-93-123.

Salgırlı Y, Emre B, Besgül K, Öztürk H, Sagmanlıgil V. Köpek sahiplerinin köpeklerine yaklaşımlarının değerlendirilmesi üzerine bir pilot çalışma. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2012; 59: 11-5.

Sarıal Kubilay GS. Pet hayvanı sahiplerinin hayvan refahına ilişkin algı ve tutumu üzerine bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniv Sağlık Bil Enst, Afyon 2019; s.15-38.

Seksel K. Fear, aggression, communication, body language and social relationships in cats. Eur J Companion Anim Pract 2014; 24(3): 20-27.



Effect of Supplementing Corn Silage with Commercial (Bonsilage-Mais) and Pre-Fermented Lactic Acid Bacteria Inoculant on Silage Quality

Besime DOĞAN DAŞ^{1,a}, Nihat DENEK^{1,b}, Gülçin BAYTUR^{2,c}

¹Harran University, Faculty of Veterinary Medicine Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Sanliurfa-TURKEY

²Harran University, Institute of Health Sciences, Sanliurfa-TURKEY

ORCID Numbers: ^a0000-0003-2163-2632, ^b0000-0003-0904-8943, ^c0000-0002-1878-3862

Corresponding author: Besime DOĞAN DAŞ, E-mail: bdas@harran.edu.tr

How to cite:DoğanDaş B, Denek N, Baytur G. Effect of supplementing corn silage with commercial (bonsilage-mais) and pre-fermented lactic acid bacteria inoculant on silage quality. Erciyes Univ Vet FakDerg 2022; 19(1): 24-29

Abstract: This study was aimed to determine the effects of supplementing corn silage with commercial lactic acid bacteria (LAB) inoculant and pre-fermented LAB juice (PFJ) on silage quality. Silage groups other than the control group were designed by adding commercial LAB inoculant (Bonsilage-Mais, 2.5×10^5 cfu/g of fresh material), and 0.1% (3×10^5 cfu/g of fresh material), 0.3% (9×10^5 cfu/g of fresh material), and 0.5% (1.5×10^6 cfu/g of fresh material) PFJ. Each silage treatment group was prepared in four replicates. When compared to the control group, the addition of 0.3%, 0.5% PFJ and commercial LAB inoculant decreased the dry matter content of the silages, while the commercial LAB inoculant increased the crude protein content ($P < 0.05$). When compared to the control silage, commercial LAB inoculant and PFJ additives (0.1, 0.3, and 0.5%) increased the ammonia nitrogen, lactic acid (LA), and acetic acid (AA) values of the silages ($P < 0.05$). Butyric acid (BA) was not detected in the silages. As a result, it was concluded that 0.3% or 0.5% PFJ additives can be used as silage additives instead of commercial LAB inoculant.

Keywords: Commercial lactic acid bacteria inoculant, corn silage, pre-fermented juice

Mısır Silajına Ticari (Bonsilage-Mais) ve Doğal Laktik Asit Bakteri İnokulantı Katkısının Silaj Kalitesi Üzerine Etkisi

Öz: Bu çalışma mısır silajına ticari laktik asit bakterisi (LAB) inokulantı ve doğal fermente edilmiş laktik asit bakterisi sıvısı (Pre-Fermented Juice-PFJ) katkılarının silaj kalitesi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Silaj grupları, katkısız grubun yanı sıra ticari LAB inokulantı (Bonsilage-Mais, 2.5×10^5 cfu/g taze materyal), %0.1 (3×10^5 cfu/g taze materyal), %0.3 (9×10^5 cfu/g taze materyal) ve %0.5 (1.5×10^6 cfu/g taze materyal) PFJ ilave edilerek oluşturulmuştur. Her bir silaj muamele grubu dörder tekerrür olacak şekilde hazırlanmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında; ticari LAB inokulantı ile %0.3 ve %0.5 PFJ katkılarının silajların kuru madde içeriklerini azalttıkları, ticari LAB inokulantı katkısının ham protein içeriğini artırdığı ($P < 0.05$) tespit edilmiştir. Kontrol silajı ile kıyaslandığında; ticari LAB inokulantı ile PFJ katkılarının (%0.1, 0.3 ve 0.5) silaj amonyak azotu ($\text{NH}_3\text{-N/TN}$), laktik asit (LA) ve asetik asit (AA) değerlerini artırdıkları görülmüştür ($P < 0.05$). Bu çalışma kapsamında hazırlanan silajların hiçbirinde bütirik asit (BA) tespit edilmemiştir. Sonuç olarak, silaj fermantasyonunu güçlendirmesi adına mısır bitkisinden hazırlanacak silajlara laktik asit ve asetik asit değerlerini arttırmalarından dolayı ticari LAB inokulantı yerine %0.3 veya %0.5 PFJ katkılarının kullanılabilceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Mısır silajı, pre-fermented juice, ticari laktik asit bakterisi inokulantı

Introduction

Chemical additives and bacterial inoculants are commonly used to improve silage fermentation (Tao et al., 2020). Bacterial silage inoculants are commercial products that generally contain *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus*, *Enterococcus faecium*, and various *Pediococcus* species, either solely or in various mixtures (Filya, 2000). Commercial silage inoculants improve silage fermentation by reducing the pH, acetic acid (AA), butyric acid (BA), ammonia nitrogen, and ethanol levels of silages, while increasing the

ratio of its lactic acid (LA) and LA:AA content (Duni'Ere et al., 2013). LA bacteria (LAB) are an important group of microorganisms for silage fermentation. However, the expensive price of LAB inoculants limits their use (Rabaioli Rama et al., 2020). Therefore, pre-fermented juice (PFJ), which is fermented LA liquid, has begun to be used as an alternative to commercial silage inoculants in recent years, since it is inexpensive and easily prepared when compared to commercial LAB inoculants (Ohshima et al., 1997a; Wang et al., 2009). There have been studies showing that even when commercial LAB inoculants are ineffective, PFJ reduces the pH, ammonia nitrogen, and BA levels of the silage (Nishino and Uchida, 1999, Wang et al., 2009).

The aim of this study was to determine the effect of supplementing corn silage with commercial LAB inoculant (Bonsilage-Mais, 2.5×10^5 cfu/g of fresh material) and 0.1% (3×10^5 cfu/g of fresh material), 0.3% (9×10^5 cfu/g of fresh material) and 0.5% (1.5×10^6 cfu/g of fresh material) PFJ on silage quality. Also; this study was conducted to investigate which doses of PFJ can be used instead of commercial LAB inoculant (Bonsilage-Mais) in corn silages.

Material and Method

The silage material was obtained from the Harran University Livestock Research Unit by harvested at dough stage. Silage samples were chopped (sized 1-2 cm) size and added, on the basis of fresh weight, commercial LAB inoculants (Bonsilage-Mais, 2.5×10^5 cfu/g of fresh material), and 0.1% (3×10^5 cfu/g of fresh material), 0.3% (9×10^5 cfu/g of fresh material) and 0.5% (1.5×10^6 cfu/g of fresh material) PFJ and ensiled four replicate in 1.5 liter-glass jars.

The mixture was prepared in a way to ensure that 1g/ton of commercial LAB inoculant that contained *L. plantarum*, *P. Pentosaceus*, and *L. buchneri* was applied to the corn forage by diluting it with water (2.5×10^5 cfu/g of fresh material). The application of commercial LAB inoculant rate was in accordance with the level of LAB in the inoculant as determined by the manufacturer. The PFJ was prepared according to the method given by Masuko et al. (2002). The number of commercial LAB inoculants and PFJ LABs used as a silage additive were determined according to the method of Masuko et al. (1992). In the control group, as with all of the silages that contained additives, distilled water was added at the same rate as that in the additive in the group, where the maximum amount of additive was added, to ensure dry matter (DM) stability. All the silage groups were opened at the end of the 60-day fermentation period, and the pH value of the silages was immediately measured (Polan et al., 1998). Fleig Points of the silages were

calculated according to Kilic (1984).

$$\text{Fleig points} = 220 + (2 \times \text{DM, \%} - 15) - (40 \times \text{pH}).$$

Where Fleig points denote values between 85 and 100, very good quality; 60 and 80, good quality; 55 and 60, moderate quality; 25 and 40, satisfying quality; <20 worthless.

Ammonia nitrogen ($\text{NH}_3\text{-N/TN}$) analysis was determined using the Kjeldahl method by Broderick and Kang (1980). The volatile fatty acid and LA contents of the silages were determined using a high-performance liquid chromatography device using the method of Suzuki and Lund (1980). The nutrient contents of the silage material and silage samples [DM, ash, and crude protein (CP) contents] were analyzed according to the method of the Association of Official Analytical Chemists, (2005) and their acid detergent fiber (ADF) and neutral detergent fiber (NDF) analyses were performed based on the method of Van Soest et al. (1991).

The data was analyzed by using the general linear model procedure of SPSS (1991). Differences among the means were determined by the Duncan multiple comparison test at a significance level of $P < 0.05$. For this purpose, the SPSS software package (1991) was used.

Results

The DM, ash, CP, ADF, and NDF values of silage material were found to be 30.68%, 5.78%, 8.32%, 33.11%, and 61.05%, respectively. While the count of commercial LAB inoculant (Bonsilage-Mais) was found 2×10^8 cfu/mL, the count of LAB of PFJ was found 3×10^8 cfu/mL.

The effects of commercial LAB inoculant and PFJ treatments on the chemical composition of corn silage are shown in Table 1.

Table 1. The effects of PFJ and commercial LAB inoculant treatments on the chemical composition of corn silage

Group	DM	CA	CP	NDF	ADF
Control	30.81±0.19 ^a	6.81±0.17	8.13±0.01 ^{bc}	56.10±0.36	32.05±0.34 ^a
Commercial LAB inoculant	29.55±0.19 ^c	6.72±0.10	8.24±0.08 ^{ab}	56.83±0.24	31.53±0.64 ^a
0.1% PFJ	30.60±0.09 ^a	6.79±0.20	8.34±0.01 ^a	55.03±0.26	30.93±0.34 ^{ab}
0.3% PFJ	30.08±0.09 ^b	6.69±0.09	8.11±0.04 ^{bc}	54.30±0.46	29.66±0.50 ^b
0.5% PFJ	29.40±0.08 ^c	6.53±0.09	8.07±0.08 ^c	55.07±0.42	31.31±0.24 ^a
SEM	0.139	0.059	0.031	0.248	0.252
P value	0.000	0,660	0.018	0.001	0.016

^{a,b,c}: Values with different letters were found different in each column; **Commercial LAB inoculant**: Commercial lactic acid bacteria inoculant; **PFJ**: Fermented natural lactic acid bacteria juice (Pre- Fermented Juice); **FM**: Fresh material; **DM**: Dry matter, %; **CA**: Crude ash, % DM; **CP**: Crude protein, % DM; **ADF**: Acid detergent fiber, % DM; **NDF**: Neutral detergent fiber, % DM; **SEM**: Standard error of means.

The highest DM values were determined from control (30.81%) and 0.1% PFJ (30.60%) groups, while the lowest values were from commercial LAB inoculants (29.55%) and 0.5% PFJ (29.40%) groups ($P<0.05$). The highest CP values were determined from the 0.1% PFJ (8.34%) group, while the lowest value was from 0.5% PFJ (8.07%) group ($P<0.05$). The NDF values of the silages statistical difference was not observed ($P>0.05$), while the lowest was obtained ADF value 0.3% PFJ (29.66% DM) group ($P<0.05$).

The effects of commercial LAB inoculant, PFJ treatments on pH, organic acid, and ammonia nitrogen content of silages are given in Table 2.

Table 2. The effects of PFJ and commercial LAB inoculant treatments on the fermentation characteristics of corn silage

Group	pH	Fleig Point	NH ₃ -N	LA	AA	PA	BA
Control	3.78±0.01 ^{ab}	115.32±0.48 ^a	3.00±0.05 ^d	67.80±0.51 ^c	12.43±0.41 ^b	0.38±0.01 ^a	ND
Commercial LAB inoculant	3.74±0.01 ^b	114.69±0.64 ^a	3.90±0.17 ^b	72.64±1.05 ^b	19.21±0.63 ^a	0.35±0.00 ^b	ND
0.1% PFJ	3.81±0.02 ^a	113.90±0.56 ^a	4.84±0.10 ^a	84.10±0.69 ^a	18.55±0.57 ^a	0.38±0.00 ^a	ND
0.3% PFJ	3.74±0.02 ^b	115.36±0.80 ^a	4.10±0.16 ^b	86.10±0.51 ^a	18.94±0.62 ^a	0.32±0.01 ^c	ND
0.5% PFJ	3.80±0.02 ^a	111.80±0.68 ^b	3.49±0.12 ^c	85.00±0.68 ^a	18.27±0.40 ^a	0.34±0.01 ^b	ND
SEM	0.009	0.396	0.150	1.735	0.621	0.006	ND
P value	0.020	0.008	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	ND

^{a,b,c,d}; Values with different letters were found different in each column; **Commercial LAB inoculant**: Commercial lactic acid bacteria inoculant; **PFJ**: Fermented natural lactic acid bacteria juice (Pre-Fermented Juice); **FM**: Fresh material; **NH₃-N/TN**: Ammonia nitrogen rate in total nitrogen (TN) content % NH₃-N/TN; **LA**: Lactic acid, g/kg DM; **AA**: Acetic acid, g/kg DM; **PA**: Propionic acid, g/kg DM; **BA**: Butyric acid, g/kg DM; **ND**: Not determined; **SEM**: Standard error of means.

The pH values of the silages prepared in the study were found to be in the range of 3.74 to 3.81, and the lowest pH values were determined from commercial LAB inoculants (3.74) and 0.3% PFJ (3.74) additives. The lowest NH₃-N/TN value was found in the control silages (3.00% NH₃-N/TN), the highest value was obtained from the 0.1% PFJ (4.84% NH₃-N/TN) group ($P<0.05$). The highest LA values were determined from 0.3%, 0.5%, and 0.1% PFJ addition groups (86.10, 85.00, and 84.10 g/kg DM) respectively. The lowest LA value was found in the control group (67.80 g/kg DM) ($P<0.05$). The AA value of control silage (12.43 g/kg DM) was lower than commercial LAB inoculant, 0.1% PFJ, 0.3% PFJ, and 0.5% PFJ additives. The propionic acid (PA) value control and 0.1% PFJ silage groups were higher than commercial LAB inoculant, 0.3% and 0.5% PFJ additive groups ($P<0.05$). The BA was not detected in any of the silages.

Discussion and Conclusion

In this study, the DM values of the silages were decreased with the commercial LAB inoculants and PFJ additives. Similarly, Nishino et al. (2003) reported that supplementing corn silage with commercial *L. buchneri* reduced the DM values. In the other hand Wein-

berg et al.(1988) and Denek et al.(2011) reported that supplementing commercial LAB inoculant and PFJ additives to legume silages increased the DM values. But in this study all DM values of silages generally acceptable for good silages. In this study, the addition of LAB inoculant and 0.1% PFJ additives increased the CP values, while the addition of 0.3% and 0.5% PFJ decreased them. Arslan et al. (2020) reported that the addition of 7.5 and 15 mL/kg PFJ to the grass silages decreased the CP values of the silages compared with the control silages. In silage studies conducted with trefoil plants, PFJ additives added at different concentrations were reported to have no effect on the CP contents of the silages

(Wang et al; 2009; Denek et al., 2012).

In this study, NDF values were found to be similar by the addition of commercial LAB inoculants and PFJ, but a decrease was observed in the ADF values. Ranjit and Kung (2000) reported that silages that were prepared with the addition of two different commercial LAB inoculants and added to corn plants harvested during the milk stage did not affect the CP, NH₃-N/TN, or ADF values, while one of the inoculants (*L. plantarum*) reduced the silage NDF content when compared to the control silage. It can be said that the reason for the difference in the values on NDF and ADF is due to the plant species used in the experiments, their harvest periods, mixing ratios and ecological conditions.

In this study, compared with the control silage, commercial LAB inoculant and PFJ additives had no effect on the pH values (3.74-3.81). Aksu et al. (2004) reported that the addition of commercial LAB inoculant increased the pH values of corn silages. In this study the pH values of silages found between 3.7-4.2, and these values are the embraced of good quality silages (Kung and Shaver, 2001). Fleig points very well determined for all groups. Because Fleig points

is related to dry matter and pH values of silages, silages with high dry matter and low pH values have higher Fleig points.

In this study, the $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ values of the silages with addition of commercial LAB and PFJ were increased compared with control silage. Filya et al. (2006) reported that the addition of commercial LAB inoculants to the corn plants don't affect the $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ values of the corn silages. According to the former studies, PFJ additives were reported to reduce the $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ values of the silages (Shao et al., 2007; Denek et al., 2011; Güney et al., 2018). In this study, the increased ammonia nitrogen values of the silages may have been caused by the destruction of the proteins in the silo by *Clostridial* bacteria (Slotner and Bertilsson, 2006). However, Carpintero et al. (1979) reported that the $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ value of the silage obtained in their study (3.00%-4.84% $\text{NH}_3\text{-N/TN}$) was 11% lower than the $\text{NH}_3\text{-N/TN}$ value accepted as that of high-quality silage, and that the resultants of in our study silages were in the category of good quality silages. Also, Kleinschmid et al. (2005) reported that the use of LAB inoculant in corn silages had no effect on the DM contents and fermentation properties of the silages. This result can be explained by the high use of content and adequate LAB content for fermentation of corn material (Meeske and Basson, 1998; Ranjit and Kung, 2000).

In this study, compared with the control silage, the addition of commercial LAB inoculant and PFJ increased the LA values of the silages. The increase in LA was found to be more prominent and high with 0.3% PFJ additive when compared with the commercial LAB inoculant. This result can be explained that commercial LAB inoculants contain fewer varieties, while PFJ contains both homofermentative and heterofermentative bacteria species (Ohshima et al., 1997a, 1997b). Nkosi et al. (2009) reported that when prepared by adding commercial LAB inoculant (Bonsilage-Mais) to corn silages, the LA, AA, and PA concentrations were increased, while there was a decrease in the BA and the amount of carbon dioxide values. On the other hand, Palic et al. (2011) reported that the same commercial LAB inoculant created no statistical difference in the DM values of the silages and there was an increase in the LA and AA values. Driehuis et al. (1999) and Nishino et al. (2004) reported that *L. buchneri* increased the AA value of silage. It has been reported that AA is a fungicidal agent such as propionic acids (Kayembe et al. 2013) and that AA level in DM with a rate of 1.5%-3.0% inhibits the growth of yeast and mold fungi. There is a positive correlation among silage aerobic stabilization and silage organic acid level and acetic acid obviously acts as an inhibitor for the growth of spoilage organisms (Kayembe et al. 2013).

According to the results of this study, it was concluded

that PFJ applications, which are more economical at the levels of 0.3% or 0.5%, can be used as silage inoculants instead of the expensive commercial LAB inoculants in corn silages. In addition, it was concluded that *in vivo* studies should be done in order to use PFJ application instead of commercial LAB inoculant in practice.

References

- Aksu T, Baytok E, Bolat D. Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Rumin Res* 2004; 55(1-3): 249-52.
- Arslan C, Tufan T, Avci M, Kaplan O, Uyarlar C. Effects of molasses, barley, oak tannins extracts and previously fermented juice addition on silage characteristics, *in vitro* organic matter digestibility and metabolisable energy content of grass silage. *Fresenius Environ Bull* 2020; 29(8): 6533-42.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of AOAC International, Eighteenth Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, 2005, USA.
- Broderick GA, Kang JH. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *J Dairy Sci* 1980; 63: 64-75.
- Carpintero CM, Henderson AR, McDonald P. The effect of some pre-treatments on proteolysis during the ensiling of herbage. *Grass Forage Sci* 1979; 34: 311-5.
- Denek N, Can A, Avci M, Aksu T. The effect of fresh and frozen pre-fermented juice on the fermentation quality of alfalfa silage. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2012; 18: 785-90.
- Denek N, Can A, Avci M, Aksu T, Durmaz H. The effect of molasses based pre-fermented juice on the fermentation quality of first-cut lucerne silage. *Grass Forage Sci* 2011; 66(2): 243-50.
- Driehuis F, Elferink SO, Spoelstra SF. Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *J Appl Microbiol* 1999; 87(4): 583-94.
- Dunière L, Sindou J, Chaucheyras-Durve F, Chevalier I, Thévenot-Sergent D. Silage processing and strategies to prevent persistence of undesirable microorganisms. *Anim Feed Sci Tech* 2013; 182: 1-15.
- Filya İ. Effects of some silage additives on ruminant performance. *J Anim Prod* 2000; 41: 76-83.

- Filya İ, Sucu E, Karabulut A. The Effect of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation, aerobic stability and ruminal degradability of maize silage. J Appl Microbiol 2006; 101: 1216-23.
- Güney M, Kale C, Temur C, Bingol NT, Aksu T. The effect of molasses and pre-fermented lactic acid juice on silage quality and *in vitro* digestibility of sugar beet pulp + wheat straw silage. Fresenius Environ Bull 2018; 27(11): 7454-9.
- Kayembe K, Basosila L, Mpiana PT, Sikulisimwa PC, Mbuyu K. Inhibitory effects of phenolic monomers on methanogenesis in anaerobic digestion. Int J Res Microbiol 2013; 3 (1): 32-41.
- Kilic A. Silage Feed. Bilgehan Press, Izmir, Turkey, 1984; p. 350.
- Kleinschmit DH, Schmidt RJ, Kung Jr L. The effects of various antifungal additives on the fermentation and aerobic stability of corn silage. J Dairy Sci 2005; 88(6): 2130-9.
- Kung L, Shaver R. Interpretation and use of silage fermentation analysis reports. Focus on Forage. 2001; 3(13): 1-5.
- Masuko T, Hariyama Y, Takahashi Y, Cao LM, Goto M, Ohshima M. Effect of addition of fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria prepared from timothy and orchard grass on fermentation quality of silages. J Grassland Sci (Japan) 2002; 48(2): 120-5.
- Masuko T, Okada S, Uchimura T, Awaya K. Effects of inoculation with lactic acid bacteria culture at ensiling on the fermentative quality and flora of lactic acid bacteria of grass silage. Anim Feed Sci Technol 1992; 63: 1182-7.
- Meeske R, Basson HM. The Effects of a lactic acid bacteria inoculant on maize silage. Anim Feed Sci Technol 1998; 70: 239-47.
- Nishino N, Uchida S. Laboratory evaluation of previously fermented juice as a fermentation stimulant for lucerne silage. J Sci Food Agric 1999; 79: 1285-8.
- Nishino N, Yoshida M, Shiota H, Sakaguchi E. Accumulation of 1,2-propanediol and enhancement of aerobic stability in whole crop maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*. J Appl Microbiol 2003; 94: 800-7.
- Nishino N, Wada H, Yoshida M, Shiota H. Microbial counts, fermentation products, and aerobic stability of whole crop corn and a total mixed ration ensiled with and without inoculation of *Lactobacillus casei* or *Lactobacillus buchneri*. J Dairy Sci 2004; 87(8): 2563-70.
- Nkosi BD, Meeske R, Palic D, Langa T. Laboratory evaluation of an inoculant for ensiling whole crop maize in South Africa. Anim Feed Sci Technol 2009; 150(1-2): 144-50.
- Ohshima M, Cao LM, Kimura E, Ohshima Y, Yokoto HO. Influence of addition of previously fermented juice to alfalfa ensiled at different moisture contents. J Grassland Sci (Japan) 1997a; 43(1): 56-8.
- Ohshima M, Kimura E, Yokota H. A method of making good quality silage from direct cut alfalfa by spraying previously fermented juice. Anim Feed Sci Technol 1997b; 66: 129-37.
- Palic D, Vukmirovic DJ, Colovic R, Kokic B, Cabarkapa I, Ivanov D, Okanovic DJ. The effect of a bacterial inoculant on fermentation, microbial status and aerobic stability of whole crop maize silage. Rom Biotechnol Lett 2011; 16(3): 6256-62.
- Polan CE, Stieve DE, Garrett JL. Protein preservation and ruminal degradation of ensiled forage treated with heat, formic acid, ammonia, or microbial inoculant. J Dairy Sci 1998; 81: 765-76.
- Rabaioli Rama G, Kuhn D, Beux S, Jachetti M, Maciel MJ, Volken de Souza CF. Cheese whey and ricotta whey for the growth and encapsulation of endogenous lactic acid bacteria. Food Bioproc Tech 2020; 13: 308-22.
- Ranjit NK, Kung Jr L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. J Dairy Sci 2000; 83(3): 526-35.
- Shao T, Zhang L, Shimojo M, Masuda Y. Fermentation quality of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) silages treated with encapsulated-glucose, glucose, sorbic acid and pre-fermented juices. Asian-Australas J Anim Sci 2007; 20(11): 1699-704.
- Slottner D, Bertilsson J. Effect of ensiling technology on protein degradation during ensilage. Anim Feed Sci Technol 2006; 127(1-2): 101-11.
- SPSS, 1991: Inc. Statistical package for the social sciences (SPSS/PC+). Chicago, IL.
- Suzuki M, Lund CW. Improved gas liquid chromatography for simultaneous determination of volatile fatty acids and lactic acid in silage. J Agric Food Chem 1980; 28: 1040-1.
- Tao X, Chen S, Zhao J, Wang S, Dong Z, Li J, Shao T. Effects of citric acid residue and lactic acid bacteria on fermentation quality and aerobic stability of alfalfa silage. Ital J Anim Sci 2020; 19(1): 744-52.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods of

dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991; 74: 3583-97.

Wang J, Wang JQ, Zhou H, Feng T. Effects of addition of previously fermented juice prepared from alfalfa on fermentation quality and protein degradation of alfalfa silage. *Anim Feed Sci Technol* 2009; 151: 280-90.

Weinberg ZG, Ashbell G, Azrieli A. The effect of applying lactic bacteria in ensiling on the chemical and microbiological composition of vetch, wheat and alfalfa silages. *J Appl Bacteriol* 1988; 64:1-8.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Research Article/ Araştırma Makalesi
19(1), 30-36, 2022
DOI: 10.32707/ercivet.1085242

Comparison of Wall Mounted and Mobile Blood Pressure Devices Values Obtained from Healthy Cats*

Vehbi GÜNEŞ^{1,a}, Ali Cesur ONMAZ^{1,b}, İhsan KELEŞ^{1,c}, Mehmet ÇİTİL^{1,d},
Gencay EKİNCİ^{1,e}, Emre TÜFEKÇİ^{1,f}

¹Erciyes University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Kayseri-TURKEY
ORCID Numbers: ^a0000-0002-4047-4409, ^b0000-0002-9942-5134, ^c0000-0001-5751-9450, ^d0000-0001-9839-7533,
^e0000-0002-4551-8749, ^f0000-0002-9611-586X

Corresponding author: Emre TÜFEKÇİ; E-mail: tufekciemre@yahoo.com

How to cite: Gunes V, Onmaz AC, Keleş İ, Çitil M, Ekinci G, Tufekçi E. Comparison of wall mounted and mobile blood pressure devices values obtained from healthy cats. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(1): 30-36

Abstract: This study was aimed to determine the possible differences between two different oscillometric devices measured blood pressure. Additionally, it was carried out to determine the range levels of blood pressure measured in healthy cats admitted to a small animal clinic. In different breeds, healthy 50 cats, the median age was 8.75 months, and ranged between 3 to 36 months were included in this study. Blood pressure values and pulse measurements of the cats were measured using the wall mounted (WMD) and mobile (MD) BP monitors. BP measurements were taken from the right front leg, *arteria radialis* on the mid of the *antebrachium* and tail root over the *arteria coccygea medialis* on the median line. Mean SBP measurements taken from right forelimb (135.90±16.34 mmHg) and tail (145.32±21.20 mmHg) by WMD were statistically different (P=0.020). Mean DBP (mmHg), MAP (mmHg) and Pulse (bpm) measurements were not different on different sites by each device (P>0.05). Mean SBP, DBP, MAP and pulse values of the right front forelimb using the mobile device were 136.10±16.37 mmHg, 83.74±17.0, 101.62±16.13 mmHg and 167 (134-227) bpm respectively. As a result, oscillometric blood pressure mobile devices and wall-mounted devices are compatible and can be used interchangeably in measuring the blood pressure in healthy cats. It is recommended to use the right forelimb for measuring blood pressure in cats. The reference ranges derived from in this study can be used by veterinary clinicians or technicians.

Keywords: Blood pressure, cat, device, oscillometry, pulsation

Sağlıklı Kedilerde Duvara Monta ve Mobil Cihaz ile Ölçülen Kan Basıncı Değerlerinin Karşılaştırılması

Öz: Bu çalışma, küçük hayvan kliniğine getirilen sağlıklı kedilerde, iki farklı osilometrik kan basıncı ölçüm cihazı arasındaki olası farklılıkların belirlenmesi ve kliniğimizde kan basıncı referans değerlerinin oluşturulması amacıyla yapıldı. Farklı ırklardan, sağlıklı, ortanca 8.75 aylık (3-36), 50 kedi (28 erkek, 22 dişi) çalışmaya dahil edildi. Kedilerin kan basıncı değerleri ve nabız ölçümleri duvara monte (WMD) ve mobil (MD) kan basıncı monitörleri kullanılarak ölçüldü. Sağ ön ekstremitte ölçümlerinde; manşetin kese kısmı, *antebrachium*'un orta kısmına gelecek şekilde, *arteria radialis* üzerine yerleştirildi. Kuyruk bölgesinden ölçülen değerleri için; manşetin kese kısmı *arteria coccygea medialis* üzerine gelecek şekilde mümkün olduğunca kuyruk köküne yakın yerleştirildi. Duvara monte edilmiş cihaz ile sağ ön ekstremitte (135.90±16.34 mmHg) ve kuyruk (145.32±21.20 mmHg) bölgesinden ölçülen sistolik kan basıncı (SBP) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görüldü (P=0.020). Her iki cihaz ile sağ ön ekstremitte ve kuyruktan ölçülen DBP (mmHg), MAP (mmHg) ve Nabız (bpm) değerleri arasında ise bir fark görülmedi (P>0.05). Mobil kan basıncı ölçüm cihazı ile sağ ön ekstremiteden alınan SBP, DBP, MAP ve nabız değerleri, sırasıyla; 136.10±16.37 mmHg, 83.74±17.0, 101.62±16.13 mmHg ve 167 (134-227) bpm olarak ölçüldü. Sonuç olarak, her iki osilometrik kan basıncı ölçüm cihazının uyumlu olduğu ve sağlıklı kedilerin kan basıncının ölçülmesinde birbirinin yerine kullanılabilmesi görüldü. Bu çalışma ile ERÜ Veteriner Fakültesi kliniklerinde türetilen KB değerlerinin veteriner hekimler veya teknisyenleri tarafından güvenle kullanılabilmesine karar verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Cihaz, kan basıncı, kedi, osilometri, nabız

Introduction

Blood pressure (BP) measurement is a part of routine physical examination of companion animals in places. This physiological parameter is influenced by heart rate, cardiac output, and systemic vascular

resistance (Taylor et al., 2017). It is affected by a various range of physical and pathological conditions, and therefore, considered to be an important parameter in evaluating the functional endurance of the cardiovascular system (Brown and Henik, 1998; Chetboul et al., 2003). In cats, measuring the BP is indicated when diseases associated with secondary systemic hypertension are diagnosed, or in patients with the evidence of target organ damage (Brown et al.,

Geliş Tarihi/Submission Date : 27.10.2021

Kabul Tarihi/Accepted Date : 25.01.2022

* The results of the present study had been presented at the "International Congress on Agriculture and Animal Sciences (ICAGAS), 7-9 November 2018, Antalya, Turkey" in an abstract.

2007). The diseases that are associated with secondary systemic hypertension and those that require BP measurement in these patients include; chronic kidney disease, hyperthyroidism, primary hyperaldosteronism, and pheochromocytoma (Ash et al., 2005; Wimpole et al., 2010). Target organ damage may occur in cases of left ventricular hypertrophy, retinopathy or choroidopathy, progression of chronic kidney disease, encephalopathy or stroke (Nelson et al., 2002; Sansom et al., 2004).

The most accurate and reliable arterial BP measurement method is the direct or invasive method (Mandigers, 2005). This method is considered the gold standard of BP measurement. However, it is not suitable for clinical practice, as the technique is difficult, requires anesthesia or sedation, and is uncomfortable for the cat (Branson et al., 1997; Brown et al., 1998). For these reasons, non-invasive methods are utilized more often in clinical scenarios (Grandy et al., 1992; Binns et al., 1995; Caulkett et al., 1998; Brown et al., 2007). Either the doppler sphygmomanometer and or the oscillometric BP measurement devices are used to evaluate the BP and hypertension in conscious cats (Brown et al., 2007). Oscillometric BP monitors detect pressure vibrations transmitted into the cuff by the pulsing movements of the arterial wall. The monitor measures mean arterial pressure (MAP) and then uses algorithms to determine systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) (Dorsch and Dorsch, 2008). In recent years, various wall-mounted diagnostic monitoring systems have been used, along with the mobile type BP measuring devices, which measures the patient's body temperature, pulse, SpO₂ and BP indirectly. Although they use the same principle, there may be marginal differences in BP values depending on the measuring devices and measuring locations. Emergency clinical scenarios demand a sensitive, calibrated and an accurate BP measurement method.

BP measurements, which are part of the clinical examination, are increasingly used in veterinary clinics. With the development of various devices, the mechanism of BP regulation can be understood, and patients can be provided with the right approach. However, there is a need to determine the suitability of different devices and reliable reference data measured with these devices.

In the present study, clinically healthy and conscious cats presented at the Veterinary Research and Teaching Hospital, Erciyes University, Kayseri-Turkey were used. The aim was to compare the results between the wall-mounted and the mobile BP measuring devices in terms of device performance and the measuring location differences. Both devices use the principle of indirect oscillometric method for measuring the BP values. Two locations selected for these measurements were; the right forelimb and the

proximal tail area. In the present study, the secondary aim was to create a calibrated reference range for our own clinical utilization.

Materials and Methods

Animals

The study was carried out at the Veterinary Research and Teaching Hospital, Erciyes University, Kayseri-Turkey. A total of 50 cats being presented for their annual health check and vaccination were used in this study. Upon physical examination, they were found to be conscious, clinically healthy, and with a good body condition (BCS=3). Any infectious disease and pathological condition were not determined in animals included in this study. Among these healthy 50 cats, 22 were female and 28 were male. The median age was 8.75 months and ranged between 3 to 36 months. Mean body weights were 2.98±1.19 kg. Breeds of the cats used in this study were; 19 Tabby; 5 Siamese; 2 Sarman; 4 British Shorthair; 2 Persian; 5 Ankara; 5 Scottish Fold; 1 Siberian; 1 Smokin; 1 Bombay; and 5 Crossbreed cats.

Ethical approval

This work involved the use of non-experimental animals only (including owned or ownerless animals and data from prospective or retrospective studies). Established internationally recognized high standards ('best practice') of individual veterinary clinical patient care were followed. Therefore, ethical approval from a committee was not necessarily required.

Blood pressure measurements

In order to minimize the stress before blood pressure (BP) measurement, the cats were allowed an average of 5-10 minutes in order to acclimatize in the examination rooms along with their owners and they were kept relaxed in the same position during the procedure. The blood pressure of the cats was measured in the sternal position. Only the animal owner and the clinician were present in the room during the BP measurement. Data were obtained in two different clinical examination rooms. The same room was used for each device during BP measuring in all cats. In order to choose the most suitable cuff, the right forelimb and proximal tail region circumference of the cats were measured with the help of a flexible-tape measure. In order to select the most suitable width of the cuff for the cats, approximately 30% of the diameter of the right forelimb and the proximal tail was used as a standard. The cuff was then selected according to the criteria table specified by the commercial company, <2.05 cm (blue), 2.05-2.55 cm (orange), 2.55-3.05 cm (green), 3.05-3.55 cm (purple), 3.55-4.05 cm (brown), 4.05-4.55 cm (pink), and 4.55-5.55 cm (gray). Blood pressure values (i.e. SBP, DBP, and MAP) and pulse measurements of the cats were

measured using the wall mounted (WMD) (Provet, Vet Integrated Diagnostic System/Turkey) and mobile (MD) (Pettrust, BioCARE Corporation/Taiwan) BP monitors. For the BP measurement purpose from the right front leg; the bladder part of the cuff was applied neither too tight nor too loose over the *arteria radialis* on the mid of the *antebrachium*. The cuff was tightened and secured in such a position that the cuffs tube part could easily lie in an untangled position on the table near the device. For the BP values taken from the proximal tail region; the cuff was placed as close as possible to the tail root over the *arteria coccygea medialis* on the median line. Upon the device activation, the cuff was automatically inflated. The device displayed the SBP, DBP, MAP, and pulse values after measuring them using the oscillometric measurement method. *Antebrachium* was retained at the right atrium level during BP measurements. All the measurements were carried out by an experienced and qualified veterinarian. To avoid potential bias, devices used to measure blood pressure (WMD and MD) and measurement locations (Right forelimb, tail) were randomly selected. There was a waiting period of 5 minutes between the two devices usage (WMD, MD). A total of 4 readings were taken at an interval of 15 seconds between each consecutive reading. The arithmetic mean of these four readings were taken and used in the subsequent statistical analyses.

Statistical analyses

The suitability of the data to normal distribution was evaluated using the Shapiro-Wilk test. The data sets were expressed as median (1st, 3rd quartiles) and mean±standard deviation. In order to compare and statistically evaluate the BP and pulse variables, among the groups; One Way ANOVA test was used for normally distributed variables and Kruskal-Wallis test was used for non-normally distributed variables. Independent Sample t-test was used to compare the gender wise statistical differences in the BP measurements. The relationship between systolic blood

pressure (SBP) and body weight and age variables were evaluated using Pearson and Spearman rho correlation test. Mean bias and limits of agreement (LOA: 1.96 times SD) values between WMD and MD monitors were calculated with the Bland-Altman method (Bland and Altman, 1999). The upper and lower limits of agreement were calculated as mean bias ± the standard deviation of the differences. Tukey HSD test was used in post hoc comparisons and P<0.05 was considered statistically significant. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics 21.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) program.

Results

This study was carried out on healthy cats (n=50) presented to the Veterinary Research and Teaching Hospital, Erciyes University, Kayseri-Turkey. The cats showing no obvious signs and symptoms upon physical examination, were included in this study. Their ages ranged between 3-36 months (median, 8.75 months) and body weights ranged between 0.80 -5.37 kg (mean 2.98 kg). The cats' gender distributions were; 44% and 56% female and male, respectively. Two male and two female cats (Total=4) were found to be neutered and spayed respectively, according to their hospital record sheets. The average body temperature of the cats was 38.30±0.35°C. The average heart rate of the cats was 171±9.84 beats per minute. The mean circumference of the right forelimb and proximal tail area measurements were 3.43±0.56 cm and 2.88±0.62 cm, respectively.

The Table 1 summarizes the comparative values of BP (mmHg) and pulse (BPM); obtained after measuring both with a mobile and wall-mounted device, using the right forelimb and proximal tail area of healthy and conscious cats. The SBP values measured from the proximal tail area (145.32±21.20 mmHg) of the cats was found to be significantly higher than the values measured from the right forelimb (135.90±16.34 mmHg) using a wall-mounted BP measuring device (P<0.05). There was no difference

Table 1. Summary of blood pressure & pulse values of the right forelimb and tail (n= 50), obtained from both the devices

Devices	Groups	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)	MAP (mmHg)	Pulse (bpm)*
WMD	Right Forelimb	135.90±16.34 ^a	93.08±17.55	108.56±18.11	170 (155.75-193.75)
	Tail	145.32±21.20 ^b	86.76±18.23	107.56±21.36	174 (156.50-201.0)
MD	Right Forelimb	136.10±16.37 ^{ab}	85.24±14.98	101.62±16.13	167(154.75-189.75)
	Tail	142.38±18.25 ^{ab}	91.02±17.52	108.16±18.05	182 (160-205.25)
P-values		0.020	0.082	0.202	0.178

WMD: Wall-Mounted Device, MD: Mobile Device, SBP: Systolic Blood Pressure, DBP: Diastolic Blood Pressure, MAP: Mean Arterial Pressure, BPM: beats per minute. Values are expressed as median (1st, 3rd quartiles) and mean ± SD. Different superscripts in the same column indicate statistically significant differences among groups, *: Not normally distributed

in the DBP, MAP and Pulse values recorded using the wall-mounted devices ($P>0.05$). No statistically significant differences ($P>0.05$) was found between the mobile device in terms of SBP, DBP, MAP and Pulse values determined either from the right forelimb and the proximal tail region (Table 1). No statistically significant differences ($P>0.05$) was detected between mobile and wall adapted device with regards to SBP, DBP, MAP and Pulse values determined from the right forelimb and the proximal tail region (Table 1).

The BP values obtained in the present study from healthy cats ($n=50$) are summarized in Table 2. Blood pressure (mmHg) and pulse (bpm) values obtained from the right forelimb of cats using a mobile device were measured as SBP; 136.10 ± 16.37 , DBP; 83.74 ± 17.0 , MAP; 101.62 ± 16.13 , Pulse; 167 ($134-227$) (Table 2).

Table 2. Summary of the blood pressure and pulse values of the right front forelimb of healthy and conscious cats using the mobile device, ($n=50$)

Groups	Mean/ Median	1st-3rd quartiles	95% CI of Median
SBP (mmHg)	136.10 ± 16.37	124.00-146.25	131.45-140.75
DBP (mmHg)	83.74 ± 17.0	69.00-96.25	78.91-88.57
MAP (mmHg)	101.62 ± 16.13	90.75-112.00	97.04-106.20
Pulse (bpm)*	167.00 ($134.00-227.00$)	154.75-189.75	164.80-178.96

SBP: Systolic Blood Pressure, DBP: Diastolic Blood Pressure, MAP: Mean Arterial Pressure, bpm: beats per minute. All data were presented as mean \pm standard deviations, median (1st and 3rd quartiles) and 95% CI of median, *: Not normally distributed

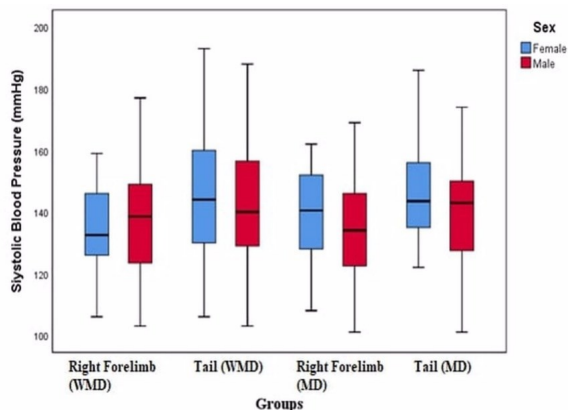


Figure 1. Comparison of systolic blood pressure (SBP, mmHg) values measured from the right forelimb and proximal tail region of male and female cats, WMD: Wall-Mounted Device, MD: Mobile Device, Independent samples t-test, $P>0.05$, ($n=50$).

tion, there was no statistically significant differences between mean SBP values obtained from male and female cats, using the mobile device either from the right forelimb and or the proximal tail area ($P>0.05$) (Figure 1).

According to limit of agreement analyses (LOA) that was made in the present study, mobile and wall-mounted blood pressure measuring devices were found to be compatible. Compatibility between systolic blood pressure recorded by a wall-mounted device (WMD) and a mobile device (MD) with cuffs placed on the right forelimb demonstrated as mean bias of -0.2 mmHg and upper LOA value was 33.96 , lower LOA value was -34.36 (Figure 2a). In addition, compatibility between systolic blood pressure recorded by a wall-mounted device (WMD) and a mobile device

(MD) with cuffs placed on the proximal tail demonstrated as mean bias of 2.94 mmHg and upper LOA value was 41.98 , lower LOA value was -36.10 (Figure 2b).

Significant correlation between SBP and age ($P=0.928$, coefficient of correlation= 0.006) were not determined, either. Furthermore, there was no significant correlation between SBP and body weight ($P=0.055$, coefficient of correlation= 0.136). In addi-

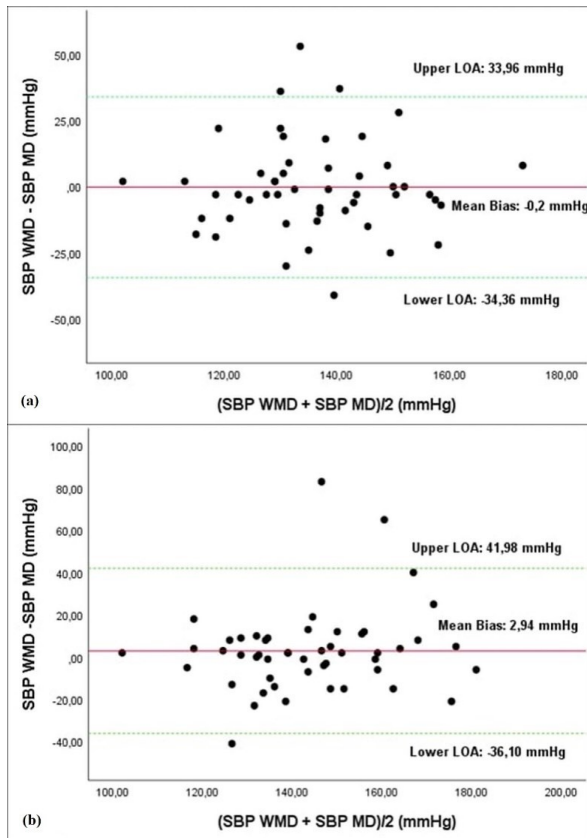


Figure 2 (a,b). Bland-Altman plots for assessing the agreement between systolic blood pressure recorded by a Wall Mounted Device (WMD) and a Mobil Device (MD) with cuffs placed on the right forelimb (a) and proximal tail region (b). In the Bland-Altman plots, the mean bias (continuous line) and limits of agreement (LOA) (mean bias \pm 1.96xSD, dashed lines) are shown.

Discussion

The reference ranges for the data used in BP analysis on cats is still debatable and is improving day by day through researchers. In this study; the interchangeability between the wall-mounted and the mobile devices used routinely for measuring the BP in cats were evaluated. The most suitable site for the accurate BP measurement was also concluded.

The aim was to develop a reference range which would be derived directly from the cats living in Kayseri and could be applied and used as a reference range for the local cat population. The statistical relationship of factors, such as age, gender, and body weight on the cat's BP readings were also evaluated. A study based on the data obtained from 203 cats and using the oscillometric blood pressure measuring device reported the mean systolic BP as 139.4 ± 26.9

mmHg and in another recent study that used data from 137 cats, mean BP values were reported to be 147 mmHg (IQR; 134-158) (Bodey and Sansom, 1998; Hori et al., 2019). In the present study, the SBP (mmHg) values measured from the right forelimb (135.90 ± 16.34 , 136.10 ± 16.37) and tail region (145.32 ± 21.20 , 142.38 ± 18.25) were found to be compatible with the SBP values reported in previous studies (Bodey and Sansom, 1998; Payne et al., 2017; Hori et al., 2019).

In this study, we found no statistically significant difference between the mobile and the wall-mounted oscillometric blood pressure measuring devices in terms of the measured blood pressure values (SBP, DBP, MAP, and Pulse) ($P > 0.05$). Therefore, either of the device modules can be used safely to measure BP in cats [mean bias of the right forelimb; -0.2 mmHg, mean bias of the tail; 2.94 mmHg, [Figure 2 (a,b)]. However, it was noted that the BP values measured from the tail region with either of the devices showed higher values when compared with those measured from the right forelimb of the same patient. Particularly, the SBP (145.32 ± 21.20 mmHg) values measured from the proximal tail area were found to be significantly higher than the values measured from the right forelimb (135.90 ± 16.34 mmHg) ($P = 0.020$) using wall mounted device. A study on eight anesthetized cats done to investigate the accuracy of two different species-specific oscillometric blood pressure measuring devices reported that SBP (mmHg) values measured from the tail were higher than those measured from the front forearm extremity. In another study, the mean margin of error (mean bias: 7.2 mmHg and 10.9 mmHg) was also found to be higher for the measurements taken from the tail region comparatively (Cerejo et al., 2017). Similarly, in another study, where oscillometric BP measurements were carried out in conscious cats, it was stated that the mean BP values taken from the coccygeal artery were 8.7% higher than those taken from the radial artery (Cannon and Brett, 2012).

In the present study, when SBP (mmHg) values obtained from the coccygeal artery with either of the devices compared with the values obtained from the radial artery [the mean difference and percentage of difference were respectively; WMD; 9.42 mmHg (6.93%), MD; 6.28 mmHg (4.61%)] were comparatively always higher. In two articles, it was previously stated that the best place in order to measure the accurate BP in cats is the median artery in the forelimb (Haberman et al., 2004; Zeugswetter et al., 2018). The tail region inflicts less amount of stress and is tolerated well both by awake and restrained cats (Cannon and Brett, 2012). One of the reasons for differences in the measured BP values may be due to the personal error in choosing the cuff size. Placing and tightening of the cuff on the tail area due to the amount of hair on the base of the tail might be

another reason. Conical-shaped tails can lead to distal spaces or slipping of the cylindrical cuffs and peripheral pulse pressure amplification (Hershet al., 2014; Zeugswetter et al., 2018).

The most common errors in BP measurement are related to the cuff size selection (Carr, 1994; Durham, 2019). Another possible cause of SBP differences between the measurement locations may be due to the differences in the peripheral pulse pressure amplification. It may also be due to the fact that cats move their tails during the measurement. Oscillometric monitors are sensitive to arrhythmias and motion artifact (Binns et al., 1995). In the present study, direct measurements, which are the gold standard method for measuring the BP, were not performed. Therefore, the average error margin of the results obtained from the tail area and the right anterior extremities relative to the direct method have not been evaluated. However, according to recent literature (Cannon and Brett, 2012; Cerejo et al., 2017) and in accordance with the instructions given in the user manual of the mobile device (user manual, best choice: front leg > hind leg > tail), we can conclude that the results obtained from the right anterior limb may be more accurate.

We observed no significant correlation between age and SBP (mmHg) ($P > 0.05$, $r = 0.150$) during this study. However, the recent studies have reported that the SBP (mmHg) increases with the age, both for healthy and non-healthy cats i.e. chronic renal failure particularly (Bijmans et al., 2015; Hori et al., 2018). It has also been hypothesized that there may be an increase in SBP (mmHg) value due to the loss of endothelial function as a result of natural senescence processes (Smulyan et al., 2001). In the present study, the SBP values measured were limited to an age group (3-36 months), and also due to small sample size ($n = 50$), we did not work on a statistical relationship between the other age groups (i.e. adult/prime, mature, senior, geriatric).

If we had incorporated all age groups along with a greater sample size in this study, we could have found some correlation between SBP value and age upon subsequent statistical analysis.

The availability of published data investigating the effect of gender on SBP is limited. In one of the study investigating the effect of epidemiological factors on BP values in 780 healthy cats, it was stated that the median SBP (122.2 [112.0-137.6] mmHg) value of male cats was higher than female cats comparatively (119.6 [109.5-129.6] mmHg) ($P < 0.001$) (Payne et al., 2017). However, in the present study, no statistically significant difference was observed between male and female cats in terms of SBP, DBP and MAP measurements ($P > 0.05$). The statistical insignificance between the BP measurements of male and female

cats may be due to the low sample size ($n = 50$), and hence the results obtained from cats in this study represent a certain age group only (i.e. young, 3-36 months). However, Payne et al. used 780 cats from different age groups (juvenile, young adult, adult, senior), including healthy and neutered cats and was able to draw a statistical inference regarding the relationship between SBP and gender from his collected data (Payne et al., 2017).

Conclusions

Inferring from the statistical analysis of the present study; both oscillometric BP measurement monitors (Mobile Devices, Wall-Mounted Devices) are compatible and can be used interchangeably in measuring the blood pressure in healthy and conscious cats. It is recommended to use as reference values the right forelimb instead of the proximal tail area for measuring blood pressure in cats. The reference ranges hence derived from our study will be used as an indigenous and self-calibrated reference range for our own clinical procedures. Recommended future directions in the light of our present study, we advise using high definition oscillometric (HDO) devices, in order to conduct a more controlled and accurate study which should include a greater sample size of cats of various age groups (adult, mature, senior, geriatric) along with a graded stress level monitoring and where the group variances would be also homogeneous.

Acknowledgment: The authors thank master, Ph.D. students, and animal owners for their assistance.

References

- Ash AR, Harvey AM, Tasker S. Primary hyperaldosteronism in the cat: A series of 13 cases. *J Feline Med Surg* 2005; 7(3): 173-82.
- Bijmans ES, Jepson RE, Chang YM, Syme HM, Elliott J. Changes in systolic blood pressure over time in healthy cats and cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med* 2015; 29(3): 855-61.
- Binns SH, Sisson DD, Buoscio DA, Schaeffer DJ. Doppler ultrasonographic, oscillometric phrygmanometric and photoplethysmographic techniques for noninvasive blood pressure measurement in anesthetized cats. *J Vet Intern Med* 1995; 9(6): 405-14.
- Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999; 8(2): 135-60.
- Bodey AR, Sansom J. Epidemiological study of blood pressure in domestic cats. *J Small Anim Pract* 1998; 39(12): 567-73.

- Branson KR, Wagner-Mann CC, Mann FA. Evaluation of an oscillometric blood pressure monitor on anaesthetised cats and the effect of cuff placement and fur on accuracy. *Vet Surg* 1997; 26(4): 347-53.
- Brown S, Atkins C, Bagley R, Carr A, Cowgill L, Davidson M, Egner B, Elliott J, Henik R, Labato M, Littman M, Polzin D, Ross L, Snyder P, Stepien R. Guidelines for the identification, evaluation and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2007; 21(3): 542-58.
- Brown SA, Henik RA. Diagnosis and treatment of systemic hypertension. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1998; 28(6): 1481-94.
- Cannon MJ, Brett J. Comparison of how well conscious cats tolerate blood pressure measurement from the radial and coccygeal arteries. *J Feline Med Surg* 2012; 148(12): 906-9.
- Carr AJ. Blood pressure measurement in small animal practice. *Vet Tech* 1994; 15: 163-7.
- Caulkett NA, Cantwell SL, Houston DM. A comparison of indirect blood pressure monitoring techniques in the anesthetized cat. *Vet Surg* 1998; 27(4): 370-7.
- Cerejo SA, Teixeira-Neto FJ, Garofalo NA, Rodrigues JC, Celeita-Rodríguez N, Lagos-Carvajal AP. Comparison of two species-specific oscillometric blood pressure monitors with direct blood pressure measurement in anesthetized cats. *J Vet Emerg Crit Care* 2017; 27(4): 409-18.
- Chetboul V, Lefebvre HP, Pinhas C, Clerc B, Boussof M, Pouchelon JL. Spontaneous feline hypertension: clinical and echocardiographic abnormalities, and survival rate. *J Vet Intern Med* 2003; 17(1): 89-95.
- Dorsch JA, Dorsch SE. Noninvasive blood pressure monitors. In: *Understanding Anesthesia Equipment*. 5th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins, 2008, pp. 837-43.
- Durham HE. Arterial, blood pressure measurement. *Vet Tech* 2019; 1: 1-19
- Grandy JL, Dunlop CI, Hodgson DS, Curtis CR, Chapman PL. Evaluation of the Doppler ultrasonic method of measuring systolic arterial blood pressure in cats. *Am J Vet Res* 1992; 53(7): 1166-9.
- Haberman CE, Morgan JD, Kang CW, Brown SA. Evaluation of Doppler ultrasonic and oscillometric methods in cats. *J Appl Res Vet Med* 2004; 2(4): 279-89.
- Hersh LT, Sesing JC, Luczyk WJ, Friedman BA, Zhou S, Batchelder PB. Validation of a conical cuff on the forearm for estimating radial artery blood pressure. *Blood Press Monit* 2014; 19(1): 38-45.
- Hori Y, Heishima Y, Yamashita Y, Iguchi M, Nakamura K, Isayama N, Onodera H, Kitade A, Kanno N, Hirakawa A, Katagi M, Ibaragi T, Yamano S, Aramaki Y, Sawmda T. Epidemiological study of indirect blood pressure measured using oscillometry in clinically healthy cats at initial evaluation. *J Vet Med Sci* 2019; 81(4): 513-6.
- Hori Y, Heishima Y, Yamashita Y, Isayama N, Kanno N, Nakamura K, Iguchi M, Ibaragi T, Onodera H, Aramaki Y, Hirakawa A, Yamano S, Katagi M, Kitade A, Sawmda T. Relationship between indirect pressure and various stages of chronic kidney disease in cats. *J Vet Med Sci* 2018; 80(3): 447-52.
- Mandigers P. Noninvasive blood pressure measurements in dogs and cats. *Tijdschr Diergeneesk* 2005; 130(7): 198-201.
- Nelson OL, Reidesel E, Ware WA, Christensen WF. Echocardiographic and radiographic changes associated with systemic hypertension in cats. *J Vet Intern Med* 2002; 16(4): 418-25.
- NIBP Cuff Selection and Placement: Accessed Address: <http://www.leadingedgevet.com/node/196>; Accessed Date: 02.10.2020.
- Payne JR, Brodbelt DC, Luis Fuentes V. Blood pressure measurements in 780 apparently healthy cats. *J Vet Intern Med* 2017; 31(1): 15-21.
- Sansom J, Rogers KS, Wood JLN. Blood pressure assessment in healthy cats and cats with hypertensive retinopathy. *Am J Vet Res* 2004; 65(2): 245-52.
- Smulyan H, Asmar RG, Rudnicki A, London GM, Safar ME. Comparative effects of aging in men and women on the properties of the arterial tree. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37(5): 1374-80.
- Taylor SS, Sparkers AH, Briscoe K, Carter J, Sala SC, Jepson RE, Reynolds BS, Scansen BA. ISFM Consensus guidelines on the diagnosis and management of hypertension in cats. *J of Feline Med Surg* 2017; 19(3): 288-303.
- Wimpole JA, Adagra CFM, Billson MF, Pillai DN, Foster DF. Plasma free metanephrines in healthy cats, cats with nonadrenal disease and a cat with suspected pheochromocytoma. *J Feline Med Surg* 2010; 12(6): 435-40.
- Zeugswetter FK, Tichy A, Weber K. Radial vs coccygeal artery Doppler blood pressure measurement in conscious cats. *J Feline Med Surg* 2018; 20(10): 968-72.



Samsun İlindeki Hastane Kantinlerinde Satışa Sunulan Tüketime Hazır Sandviçlerde Genişlemiş Spektrumlu Beta-Laktamaz Üreten *Escherichia coli* Varlığının Araştırılması

Tolga UYANIK^{1,a}

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Samsun-TÜRKİYE
ORCID no: ^a0000-0002-3181-3878

Sorumlu yazar: Tolga UYANIK; E-posta: tolga.uyanik@omu.edu.tr

Atıf yapmak için: Uyanık T. Samsun İlindeki hastane kantinlerinde satışa sunulan tüketime hazır sandviçlerde genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Escherichia coli* varlığının araştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19 (1):37-42

Öz: Artmakta olan antibiyotik direnci insanlık için büyük öneme sahip acil tehditlerden biri olup, antibiyotik direnç genlerinin çiftlik hayvanları ve gıdalar vasıtasıyla insanlara aktarılması endişe vericidir. Bu çalışma, Samsun ilindeki üç farklı hastane kantininden toplanan tüketime hazır sandviç örneklerinde genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üreten *E. coli* varlığını araştırmak ve dirençten sorumlu genleri karakterize etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Üç farklı hastane kantininin her birinden 50 örnek olmak üzere, toplamda 150 örnek materyal olarak kullanılmıştır. *E. coli* izolasyonu kromojenik bazlı kültür yöntemiyle gerçekleştirilmiş, identifikasyonda *uspA* geninin varlığı PCR ile araştırılmıştır. Fenotipik GSBL üretimin tespiti için kombine disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. GSBL üretiminden sorumlu *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{SHV} genlerinin varlığı multipleks PCR yöntemiyle araştırılmıştır. Çalışma bulguları doğrultusunda 150 adet sandviç örneğinin 32'sinde (%21.3) en az bir adet fenotipik GSBL üreten *E. coli* tespit edilmiştir. 32 örnekten elde edilen toplam seksen üç izolatin tümü *uspA* geni yönünden pozitif bulunmuştur. 83 izolatin 70'inin (%84.3) kombine disk difüzyon yöntemi ile fenotipik olarak GSBL ürettiği saptanmıştır. Otuz iki adet pozitif numunenin her birinden bir adet GSBL pozitif *E. coli* seçilerek, toplamda 32 izolat *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{SHV} genlerinin varlığı yönünden incelenmiş ve izolatların 20'sinin (%62.5) *bla*_{TEM}, 11'inin (%34.3) *bla*_{CTX-M} geni içerdiği saptanmıştır. Hiçbir izolatta *bla*_{SHV} geni tespit edilememiştir ve analiz edilen beş izolatin araştırılan üç gen bölgesinden herhangi birini içermediği, dört izolatin hem *bla*_{CTX-M} hem de *bla*_{TEM} genini içerdiği belirlenmiştir. Direnç genlerinin insan florasına geçişinde tüketime hazır gıdaların önemli bir etken olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *E. coli*, GSBL, PCR, sandviç, tüketime hazır gıda

Investigation of Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing *Escherichia coli* in Ready-to-Eat Sandwiches Sold in Hospital Canteens in Samsun Province

Abstract: Enhanced antibiotic resistance is one of the urgent threats to humanity and the transmission of antibiotic resistance genes to humans via livestock and food is a major concern. This study was carried out to investigate the presence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E. coli* and to characterize the genes responsible for resistance in ready-to-eat sandwich samples collected from three different hospital canteens in Samsun. A total of 150 samples, 50 from each of three different hospital canteens, were used as material. *E. coli* isolation was performed by chromogenic-based culture method and the presence of the *uspA* gene was identified by PCR. A combined disk diffusion method was used to detect phenotypic ESBL production. The presence of *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, and *bla*_{SHV} genes responsible for ESBL production was investigated by the multiplex PCR method. According to the results, at least one phenotypic ESBL producing *E. coli* was detected in 32 (21.3%) of 150 sandwich samples. All 83 isolates obtained from 32 samples were found positive for the *uspA* gene. It was determined that 70 (84.3%) of 83 isolates produced ESBL phenotypically by the combined disk diffusion method. One ESBL positive *E. coli* was selected from each of 32 positive samples, and a total of 32 isolates were examined for the presence of *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, and *bla*_{SHV} genes. It was determined that 20 (62.5%) of the isolates contained *bla*_{TEM} and 11 (34.3%) contained the *bla*_{CTX-M} gene. *bla*_{SHV} gene was not detected in any of the isolates and five isolates analyzed did not contain any of the three gene regions investigated, while four isolates coexisted *bla*_{CTX-M} and *bla*_{TEM} gene. It is thought that ready-to-eat foods may be an important vehicle in the transmission of resistance genes to the human flora.

Keywords: *E. coli*, ESBL, PCR, ready-to-eat, sandwich

Giriş

Antimikrobiyallere dirençli bakterilerin dünyada hızla yayılması küresel çapta acil bir tehdit haline gelmiştir.

Escherichia coli gibi insanlarda kommensal olarak bulunabilen bakterilerde görülen antimikrobiyel direnç bu tehditin boyutunu daha da artırmaktadır (Kawamura ve ark., 2017). Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'nin (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) 2019 yılı raporuna göre Amerika'da

Geliş Tarihi/Submission Date : 22.11.2021

Kabul Tarihi/Accepted Date : 25.01.2022

arasındaki farkın ≥ 5 mm olması GSBL pozitif olarak değerlendirildi.

GSBL üretiminden sorumlu genlerin tespiti

GSBL üretiminden sorumlu *bla*_{CTX-M} (F: 5'-ATGTGCAGYACAGTAARGTKATGGC-3' ve R: 5'-TGGGTRAARTARGTSACCAGAAYCAGCGG-3'), *bla*_{SHV} (F: 5'-ATGCGTTATATTCGCCTGTG-3' ve R: 5'-TGCTTTGTTATTCGGGCCAA-3' ve *bla*_{TEM} (F: 5'-TCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGA-3' ve R: 5'-ACGCTCACCGGCTCCAGATTTAT-3') genlerinin

Bulgular

Analiz edilen 150 adet tüketime hazır sandviç örneğinin 32'sine (%21.3) ait kromojenik petrilere pembe-mor üremeler gözlemlendi ve toplamda 83 adet şüpheli GSBL üreten *E. coli* izolatu toplandı. Elde edilen izolatların tümünün PCR analizleri sonucunda *uspA* genini içerdiği saptandı ve tüm izolatlar *E. coli* olarak doğrulandı. Kombine disk difüzyon testi sonucunda 83 adet izolatın 70'inin (%84.3) fenotipik olarak GSBL ürettiği saptandı. İzolatların dağılımını içeren veriler Tablo 1'de gösterildi.

Tablo 1. Tüketime hazır sandviçlerde GSBL üreten *E. coli* izolatlarının dağılımı

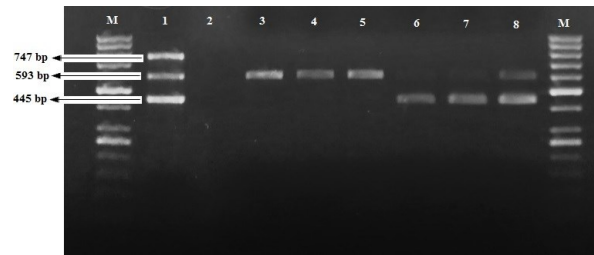
	Kantin A (50 örnek)	Kantin B (50 örnek)	Kantin C (50 örnek)	Toplam (150 örnek)
GSBL üreten <i>E. coli</i> pozitif numune sayısı	9 (%18)	11 (%22)	12 (%24)	32 (%21.3)
Elde edilen şüpheli GSBL üreten <i>E. coli</i> izolatu	22	30	31	83
PCR ile <i>E. coli</i> olarak doğrulanan izolat sayısı	22	30	31	83
Fenotipik olarak GSBL üreten izolat sayısı	18	25	27	70

tespiti amacıyla Monstein ve ark. (2007) tarafından bildirilen mPCR protokolü bazı modifikasyonlar uygulanarak kullanıldı. Hedeflenen üç gen için PCR karışımı final konsantrasyonları; 1X Taq buffer, 0.2 mM dNTP mix (Thermo Scientific™, R0191), 1.5 mM MgCl₂, her bir primerden 0.4 mM, 1.25U Taq polimeraz (Thermo Scientific™, EP0404) ve 1 µl kalıp DNA olmak üzere toplamda 25 µl volüm için oluşturuldu. Amplifikasyon koşulları 95°C'de 3 dakika ilk denatürasyon; 30 siklus boyunca 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 60°C'de 30 saniye primer bağlanması, 72°C'de 1 dakika primer uzaması ve son olarak 72°C'de 10 dakika son uzama şeklinde gerçekleştirildi. Elde edilen amplikonlar 6X konsantrasyonda DNA loading dye ile 6:1 oranında karıştırılarak, 6 µg etidyum bromit (10 mg/ml) içeren %1.5'lük agaroz jelde 1 saat 80 volt akımda yürütüldü. Elektroforez işleminin ardından UV-Transillüminatörde (Daihan, WiseUV WUV-L50) *bla*_{CTX-M} geni 593 bp'de, *bla*_{TEM} geni 445 bp'de *bla*_{SHV} geni 747 bp'de görüntülendi. Daha önceki bir çalışmadan (Uyanik ve ark., 2021) elde edilen ve *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{SHV} genlerini içeren kanatlı eti kökenli *K. pneumoniae* suşu pozitif kontrol olarak kullanıldı.

İstatistiksel analizler

Üç farklı kantinden toplanan numunelerde, GSBL pozitif *E. coli* tespit edilen örnekler IBM SPSS Statistics 15.0 (SPSS, ABD) programında Fisher exact test ile karşılaştırıldı. Verilerin gösteriminde n (%) kullanıldı. Anlamlılık düzeyi P<0.05 olarak kabul edildi.

Kombine disk difüzyon testi sonucunda fenotipik olarak GSBL ürettiği saptanan 70 adet *E. coli* izolatından, duplikasyonu önlemek amacıyla her pozitif numuneyi temsilen bir izolat seçilerek, toplamda 32 adet izolat *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{SHV} genlerinin varlığı yönünden analiz edildi. Analiz sonuçlarına göre 32 izolatın 27'sinin analiz edilen üç genden en az bir tanesini içerdiği saptandı. İzolatlarda en sık tespit edilen genin *bla*_{TEM} (%62.5) olduğu ve bunu *bla*_{CTX-M} geninin takip ettiği (%34.3) görüldü. Dört adet izolatta *bla*_{CTX-M} ve *bla*_{TEM} genlerinin bir arada bulunduğu gözlemlendi. *bla*_{SHV} geni hiçbir izolatta tespit edilemedi (Şekil 1). Beş adet fenotipik GSBL pozitif *E. coli* izolatının analiz edilen üç genden herhangi birini içermediği saptandı. İzolatlardaki gen dağılımını içeren veriler Tablo 2'de gösterildi.



Şekil 1. *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} ve *bla*_{SHV} genlerinin jel elektroferez görüntüsü. **M:** 100 bp DNA ladder, **1:** Pozitif kontrol (*K. pneumoniae*), **2:** Negatif kontrol (*Escherichia coli* ATCC 25922), **3, 4, 5:** *bla*_{CTX-M} pozitif *E. coli* izolatları **6, 7:** *bla*_{TEM} pozitif *E. coli* izolatları **8:** *bla*_{TEM} ve *bla*_{CTX-M} pozitif *E. coli* izolatu.

Tablo 2. GSBL üreten *E. coli* izolatlarında direnç gelişiminden sorumlu genlerin dağılımı

	GSBL üreten <i>E. coli</i> izolatları			
	Kantin A	Kantin B	Kantin C	Toplam
<i>bla</i> _{TEM}	5	6	5	16
<i>bla</i> _{CTX-M}	1	2	4	7
<i>bla</i> _{CTX-M} + <i>bla</i> _{TEM}	1	2	1	4
<i>bla</i> _{SHV}	-	-	-	-
Toplam	7	10	10	27

A, B ve C olarak adlandırılan üç farklı kantinden toplanan örneklerde GSBL üreten *E. coli* bulunma oranı sırasıyla %18, %22 ve %24 olarak elde edildi. Fisher exact test sonucunda bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P>0.05$).

Tartışma ve Sonuç

E. coli bağırsak mikroflorası başta olmak üzere, insanla ilgili çoğu çevrede bulunabilen kommensal bir bakteri türüdür. Hijyen indeksi mikroorganizmalar içerisinde yer alan *E. coli*'nin gıdalardaki varlığı, ürünün hijyenik kalitesi hakkında bilgi vermektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, tüketime hazır olarak sunulan dönerlerin %20 ve %40'ında (Alçay, 2019; Öksüztepe ve Beyazgül, 2014), çorbaların %5'inde (Çolak ve ark., 2007), hazır yemeklerin %12'si ve %2.1'inde (Çolak ve ark., 2007; Şenses-Ergül ve ark., 2015), soğuk mezelerin %10'unda (Temelli ve ark., 2005a) hedef bakterinin tespit edilmiş olması tüketilmeden önce ısı işlem gören ürünlerde bile çeşitli düzeylerde *E. coli* bulunabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada kullanılan izolasyon yöntemine göre sandviçlerin %21.3'ünden en az bir adet GSBL üreten *E. coli* suşu izole edilmiştir, ancak GSBL negatif *E. coli* suşlarının varlığı araştırılmamıştır. Bu nedenle sandviçlerdeki *E. coli* pozitifliği oranının bu çalışmada elde edilen değerden daha yüksek olduğu düşünülmektedir ve bu sonuç sandviçlerin hijyenik kalitesinin yetersiz olduğuna işaret etmektedir.

Literatür taramalarında sandviçlerin bileşiminde bulunan peynir, domates ve marulların GSBL üreten Enterobacterales üyelerini içerebileceği saptanmıştır (Husan ve Çadırcı, 2019; Said ve ark., 2015; van Hoek ve ark., 2015). Bu bilgiler ışığında, sandviçlere bulaşma kaynağının birincil olarak ürünün bileşimine giren materyalden ileri geldiği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra yapılan çalışmalarda, aralarında kantin çalışanları (Çatar ve Yıldırım, 2020; Pamuk ve ark., 2018), et ve süt üretiminde çalışan personeller (Temelli ve ark., 2005b), hipermarket personelleri (Aksu ve ark., 2017), lokanta personelleri (Fidan ve Ağaoğlu, 2004) ve hastane mutfak personellerinin (Sert ve Bilgin, 2008) yer aldığı gıda üretimi ile ilgili işçilerde çeşitli düzeylerde *E. coli* tespit edildiği bildirilmiş ve hastane mutfak personeli ile kantin çalışanlarından izole edilen *E. coli* suşlarında GSBL üretiminin yaygın olduğu gösterilmiştir (Diriba ve ark., 2020;

Luo ve ark., 2011). Bu nedenle, özellikle sandviçlerin hazırlanması aşamasında gerçekleşen temasın ürünün kontaminasyonunda önemli olduğu düşünülmektedir.

Dünya genelinde, tüketime hazır gıdalarda GSBL üreten *E. coli* prevalansı %1.6 ile %42.9 arasında bildirilmektedir (Kim ve ark., 2015; Sivakumar ve ark., 2021). Yöresel ürünlerin çeşitliliği, ülkeler arası hijyenik koşullar ve ürünlere tüketim öncesi uygulanan ısı işlemi gibi parametrelerin bu farklılığa sebep olduğu öngörülmektedir. Sadece sandviçler açısından değerlendirildiğinde bu çalışmadan elde edilen sonucun, Yaici ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmaya göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Her iki çalışmadaki izolasyon metodunun farklı olmasının bu sonucu ortaya çıkarabileceği düşünülmüştür.

Epidemiyolojik çalışmalar, bölgeler arası coğrafi farklılıklar olmasına rağmen, dünyada gıda kaynaklı *E. coli* suşlarında GSBL üretiminde CTX-M varyantlarının yaygın olduğunu göstermektedir. TEM tipi enzimlerin, CTX-M tipi enzimlerden sonra görüldüğü ve SHV tipi enzimlerin *E. coli* suşlarında nadir olarak görülmesine rağmen, *Klebsiella spp.* suşlarında yaygın olduğu bildirilmektedir (Balazs ve ark., 2021). Küresel çapta olduğu gibi, ülkemizde de hayvansal gıdalarda yapılan çalışmalarda GSBL üretiminden sorumlu dominant enzimin CTX-M varyantları olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Husan ve Çadırcı, 2019; Öndeş ve Özpınar, 2016; Pehlivanlar Önen ve ark., 2015; Tekiner ve Özpınar, 2016). Ancak bu çalışmada üç farklı kantinden elde edilen örneklerdeki GSBL üretiminden sorumlu dominant genin *bla*_{TEM} (%62.5) olduğu görülmüştür. Farklı kantinlerden elde edilen izolatlardaki gen dağılımlarının büyük ölçüde benzerlik gösterdiği saptanmıştır ve ileriki çalışmalarda yapılacak filogenetik analizlerle izolatlar arasındaki ilişkinin ortaya konması planlanmaktadır.

Tüketilmeden önce herhangi bir ısı işleme tabi tutulmayan tüketime hazır gıdaların mikrobiyolojik kalitesi halk sağlığının korunmasında önemli bir konudur. Bu çalışmada, tüketime hazır sandviçlerin GSBL üreten *E. coli* suşlarını içerdiği tespit edilmiştir ve bu sonuç GSBL üretimiyle ilgili direnç genlerinin insan florasına aktarımında önemli bir yol olabileceğini düşündürmüştür. Bu çalışmadan elde edilen verilerin ileriki

çalışmalarda hastane ve insan kökenli izolatlarla karşılaştırılarak, muhtemel bulaşma ve geçiş yollarının ortaya konması düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Alçay AÜ. İstanbul'da satılan pişmiş tavuk dönerlerin mikrobiyolojik kalitesinin araştırılması. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2019; 49(2): 74-85.
- Alegría Á, Arias-Temprano M, Fernández-Natal I, Rodríguez-Calleja JM, García-López ML, Santos JA. Molecular diversity of ESBL-producing *Escherichia coli* from foods of animal origin and human patients. Int J Environ Res Public Health 2020; 17(4): 1312.
- Aksu FY, Altınatmaz SS, Uran H, Altın DD. Hipermarketlerde gıda temas yüzeylerinin mikrobiyolojik özellikleri ve satış personelinin el hijyeni düzeyi. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2017; 14(1): 17-23.
- Balázs B, Nagy JB, Tóth Z, Nagy F, Károlyi S, Turcsányi I, Bistyák A, Kálmán A, Sárközi R, Kardos G. Occurrence of *Escherichia coli* producing extended spectrum β -lactamases in food-producing animals. Acta Vet Hung 2021; 69(3): 211-5.
- Benlikurt G, Özpınar H. Characterization of ESBL- and MBL-type enzymes in Enterobacteriaceae from wild and farming fishes. Int J Food Eng 2016; 2: 17-25.
- Çatar O, Yıldırım Y. Erciyes Üniversitesi kampüsündeki kantin çalışanlarının el hijyen durumlarının değerlendirilmesi. Kocatepe Vet J 2020; 13(1): 52-9.
- Çolak H, Ulusoy, BH, Bingöl EB, Hampikyan H, Muratoğlu K. Tüketime sunulan bazı hazır yemeklerin mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesi. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2007; 37(4): 225-33.
- CDC. Antibiotic Resistance Threats in The United States 2019. <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>. Erişim Tarihi: 10.11.2021.
- Diriba K, Ephrem Awulachew II, Tekele L, Ashuro Z. Fecal carriage rate of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* among apparently health food handlers in Dilla University student cafeteria. Infect Drug Resist 2020; 13: 3791.
- Dorado-García A, Smid JH, Van Pelt W, Bonten MJ, Fluit AC, van den Bunt G, Wagenaar JA, Hordijk J, Dierikx CM, Veldman KT, de Koeijer A. Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from humans, animals, food and the environment: a pooled analysis. J Antimicrob Chemother 2018; 73(2): 339-47.
- EUCAST. EUCAST Guidelines For Detection Of Resistance Mechanisms And Specific Resistances Of Clinical And/Or Epidemiological Importance, Version 2.0., 2017. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EU-CAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf Erişim Tarihi: 10.11.2021
- Fidan F, Ağaoğlu S. Ağrı bölgesinde bulunan lokantaların hijyenik durumu üzerine araştırmalar. YYU Vet Fak Derg 2004; 15(1): 107-14.
- Guo S, Tay MY, Aung KT, Seow KL, Ng LC, Purbojati RW, Drautz-Moses DI, Schuster SC, Schlundt J. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolated from ready-to-eat food in Singapore using disk diffusion, broth microdilution and whole genome sequencing methods. Food Control 2019; 99: 89-97.
- Husan O, Çadirci Ö. Determination of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae from cheese samples sold in public bazaars. J Food Saf 2019; 39(5): e12680.
- Kawamura K, Nagano N, Suzuki M, Wachino JI, Kimura K, Arakawa Y. ESBL-producing *Escherichia coli* and its rapid rise among healthy people. Food Safety 2017; 5(4): 122-50.
- Kim HS, Chon JW, Kim YJ, Kim DH, Kim MS, Seo KH. Prevalence and characterization of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in ready-to-eat vegetables. Int J Food Microbiol 2015; 207: 83-6.
- Leverstein-van Hall MA, Dierikx CM, Cohen Stuart J, Voets GM, Van Den Munckhof MP, van Essen-Zandbergen A, Platteel T, Fluit AC, Van de Sande -Bruinsma N, Scharinga J, Bonten MJ. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. Clin Microbiol Infect 2011; 17(6): 873-80.
- Li L, Ye L, Kromann S, Meng H. Occurrence of extended-spectrum β -lactamases, plasmid-mediated quinolone resistance, and disinfectant resistance genes in *Escherichia coli* isolated from ready-to-eat meat products. Foodborne Pathog Dis 2017; 14(2): 109-15.
- Luo Y, Cui S, Li J, Yang J, Lin L, Hu C, Jin S, Ye L, Zhao Q, Ma Y. Characterization of *Escherichia coli* isolates from healthy food handlers in hospital. Microb Drug Resist 2011; 17(3): 443-8.
- Monstein HJ, Östholm-Balkhed Å, Nilsson MV, Nils-

- son M, Dornbusch K, Nilsson LE. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. *Apmis* 2007; 115(12): 1400-8.
- Rupp ME, Fey PD. Extended spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae. *Drugs* 2003; 63(4): 353-65.
- Osek J. Multiplex polymerase chain reaction assay for identification of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains. *J Vet Diagn Invest* 2001; 13(4): 308-11.
- Öksüztepe G, Beyazgül P. Elazığ'da satılan pişmiş et ve tavuk dönerlerin mikrobiyolojik kalitesi. *Fırat Univ Sağ Bil Vet Derg* 2014; 28(2): 65-71.
- Öndeş N, Özpınar H. Occurrence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in red meat samples. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2016; 22: 79-83.
- Pamuk Ş, Erdoğan M., Yıldırım Y, Hızlısoy H, AL S, Sepin Ö. Üniversite kampüs kantinlerindeki gıdaların mikrobiyolojik kalitesinin ve gıda çalışanlarının el hijyen durumlarının değerlendirilmesi. *Kocatepe Vet J* 2018; 11(4): 363-73.
- Pehlivanlar Önen S, Aslantaş Ö, Şebnem Yılmaz E, Kürekci C. Prevalence of β -lactamase producing *Escherichia coli* from retail meat in Turkey. *J Food Sci* 2015; 80(9): M2023-9.
- Rasheed MU, Thajuddin N, Ahamed P, Teklemariam Z, Jamil K. Antimicrobial drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated from food sources. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2014; 56: 341-6.
- Said LB, Jouini A, Klibi N, Dziri R, Alonso CA, Bou-dabous A, Slama KB, Torres C. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in vegetables, soil and water of the farm environment in Tunisia. *Int J Food Microbiol* 2015; 203: 86-92.
- Sert TŞ, Bilgin B. Edirne il merkezindeki hastanelerin mutfak ve personel hijyeninin belirlenmesi. *Türkiye Onuncu Gıda Kongresi*. Mayıs, 21-23, 2008; Erzurum-Türkiye.
- Şenses-Ergül Ş, Sarı H, Ertuş S, Berberoğlu U, Cesaretli Y, İrmak H. Tüketime sunulan çeşitli hazır yemek ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2015; 72(3): 199-208.
- Sivakumar M, Abass G, Vivekanandhan R, Singh DK, Bhilegaonkar K, Kumar S, Grace MR, Dubal Z. Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing and multidrug-resistant *Escherichia coli* in street foods: a public health concern. *J Food Sci Technol* 2021; 58(4): 1247-61.
- Tekiner İH, Özpınar H. Occurrence and characteristics of extended spectrum beta-lactamases-producing Enterobacteriaceae from foods of animal origin. *Braz J Microbiol*. 2016; 47: 444-51.
- Temelli S, Sen C, Evrensel SS, Yüksek N. Soğuk olarak tüketime sunulan bazı hazır gıdaların mikrobiyolojik kalitelerinin incelenmesi. *Uludağ Univ Vet Fak Derg* 2005a; 24: 69-74.
- Temelli S, Şen MKC, Anar Ş. Et parçalama ünitelerinde ve beyaz peynir üretiminde çalışan personel ellerinin hijyenik durumunun değerlendirilmesi. *Uludağ Univ Vet Fak Derg* 2005b; 24: 75-80.
- USHİESA. Ulusal Sağlık Hizmeti İlişkili Enfeksiyonlar Sürveyans Ağı Özet Raporu 2019 https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Bulasici-hastaliklar-db/hastaliklar/SHIE/Raporlar/USHESA_Ozet_Raporu_2019.pdf; Erişim Tarihi: 10.11.2021.
- Uyanık T, Gülel GT, Alişarlı M. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriales from organic and conventional chicken meats. *Lett Appl Microbiol* 2021; 72(6): 783-90.
- van Hoek AH, Veenman C, van Overbeek WM, Lynch G, de Roda Husman AM, Blaak H. Prevalence and characterization of ESBL-and AmpC-producing Enterobacteriaceae on retail vegetables. *Int J Food Microbiol* 2015; 204:1-8.
- Yaici L, Haenni M, Métayer V, Saras E, Zekar FM, Ayad M, Touati A, Madec JY. Spread of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the community through ready-to-eat sandwiches in Algeria. *Int J Food Microbiol* 2017; 245: 66-72.
- Zurita J, Yáñez F, Sevillano G, Ortega-Paredes D, Paz y Miño A. Ready-to-eat street food: a potential source for dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* epidemic clones in Quito, Ecuador. *Lett Appl Microbiol* 2020; 70(3): 203-9.



***Mycoplasma* spp. ile Enfekte Kedilerde Trombosit Sayısı ve Trombosit İndekslerinin İncelenmesi**

Emine Merve ALAN^{1,a}, Zahide BİLGİN^{2,b}, Lora KOENHEMSİ^{1,c}

¹İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul-TÜRKİYE

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, Parazitoloji Anabilim Dalı, İstanbul-TÜRKİYE

ORCID No: ^a0000-0002-4422-2241; ^b0000-0002-7138-8976; ^c0000-0002-4979-170X

Sorumlu yazar: Emine Merve ALAN; E-posta: dvm.mervealan@gmail.com

Atıf yapmak için: Alan EM, Bilgin Z, Koenhemsli L. *Mycoplasma* spp. ile enfekte kedilerde trombosit sayısı ve trombosit indekslerinin incelenmesi. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(1): 43-48

Öz: Haemobartonellosis, kedilerde şiddetli hemolitik anemiyle seyreden bir hastalıktır. *Haemobartonella felis* olarak bilinen hastalık etkeninin günümüzde yapılan sınıflandırma çalışmaları sonucunda *Mycoplasma haemofelis* olarak adlandırılmasına karar verilmiştir. Son yıllarda enfeksiyonun ülkemizdeki görülme sıklığı artmıştır. Trombosit indeksleri, veteriner hekimliği alanında yeni kullanılmaya başlanan parametreler olduğundan, kedi ve köpek pratiğinde bu konu ile ilgili yapılan çalışmaların artmasının faydalı olabileceği öngörülmüştür. Bu doğrultuda, 25 sağlıklı kedi ve mikroskopik inceleme sonucunda *Mycoplasma* spp. teşhisi konulan 25 hasta kedinin trombosit sayısı (PLT) ve indeksleri (MPV, PCT) retrospektif olarak incelenerek karşılaştırılmıştır. Trombosit sayısı ve indekslerinin teşhis ve prognoz konusunda anlamlı olup olamayacağını incelenmesi amacıyla yürütülen bu çalışmanın sonucunda; trombosit sayısı (PLT) ve trombosit indekslerinden trombositokrit (PCT), hasta hayvanlarda sağlıklı hayvanlara göre düşük, trombosit hacmi (MPV) ise yüksek ölçülmüştür ($P < 0.001$). Çalışma sonucuna göre trombosit indekslerinin, *Mycoplasma* spp. ile enfekte olan kedilerde tanı ve prognoza yönelik potansiyel bir değere sahip olabileceği ve konu ile ilgili gelecekte geniş kapsamlı çalışmaların yapılmasının veteriner hekimliğine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Anemi, mycoplasma, platelet indeksleri, trombositopeni

Investigation of Platelet Count and Platelet Indices in Cats Infected with *Mycoplasma* spp.

Abstract: Haemobartonellosis is a disease that is accompanied by severe hemolytic anemia in cats. As a result of today's classification studies of the disease agent known as *Haemobartonella felis*, it has been decided to name it *Mycoplasma haemofelis*. In recent years, the incidence of infection in our country has increased. Since platelet indices are parameters that have just begun to be used in the field of veterinary medicine, it was predicted that more studies on this subject in cat and dog practice would be beneficial. In this direction, the platelet count (PLT) and indices (MPV, PCT) of 25 healthy cats and 25 sick cats diagnosed with *Mycoplasma* spp. as a result of microscopic examination were retrospectively analyzed and compared. As a result of this study, which was carried out to examine whether platelet count and indices could be meaningful in diagnosis and prognosis; Platelet count (PLT) and thrombocyte indices (PCT) were lower in sick animals than healthy animals, and platelet volume (MPV) was higher ($P < 0.001$). According to the results of the study, it is thought that thrombocyte indices may have a potential value for diagnosis and prognosis in cats infected with *Mycoplasma* spp. and that conducting wide-ranging studies on the subject in the future may contribute to veterinary medicine.

Keywords: Anemia, mycoplasma, platelet indices, thrombocytopenia

Giriş

Kedilerin infeksiyöz anemisi olarak da adlandırılan haemobartonellosis enfeksiyonunun etkeni, ilk olarak 1942 yılında Güney Afrika'daki anemik bir kedide *Eperythrozoon felis* olarak tanımlanmış ve sonrasında 1953 yılında ABD'deki bir kedide benzer bir organizma görülmüş ve bu etken 1955 yılında *Haemobartonella felis* olarak adlandırılmıştır (Clark, 1942; Flint ve Moss, 1953; Tasker ve Lappin, 2002). Son yıllarda yapılan sınıflandırma çalışmaları sonucunda *Mycoplasma haemofelis* olarak adlandırılmasına karar veril-

miş olan bu etken, kedi mycoplasmaları içinde şiddetli hemolitik anemiye sebep olmasıyla bilinen bir patojendir (Messick, 2004; Willi ve ark., 2005). Bu hastalıkta kanla beslenen artropodların önemli rol oynadığı bilinmekle beraber, Mycoplasmalar için bulaş konusu tam olarak netlik kazanmamıştır. Etkenin, kan nakli sırasında, vertikal olarak ve hatta kedilerin birbirini ısırması esnasında tükürük yoluyla da bulaşabileceği yapılan bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Woods ve ark., 2005; Willi ve ark., 2006; Willi ve ark., 2007). Hasta kedilerde hemolitik anemiyle birlikte tipik olarak durgunluk, anoreksi, kilo kaybı ve depresyon görülmektedir (Tasker ve Lappin, 2002). Cinsiyetin erkek olması ve sokakta yaşama gibi faktörlerin bu hastalık için predispozisyon oluşturduğu düşünülmektedir.

Geliş Tarihi/Submission Date : 04.08.2021

Kabul Tarihi/Accepted Date : 27.01.2022

Ayrıca 4-6 yaşından küçük olan kedilerin enfekte olma riskinin daha düşük olduğu bildirilmiştir (Grindem ve ark., 1990; Hayes ve Priester, 1973; Small ve Ristic, 1971).

Trombositler, pıhtılaşma faktörleri ile birlikte birincil görevi hemostaz olan dinamik kan hücreleridir (Budak ve ark., 2016). Hemostaz ve trombozdeki önemli rollerine ek olarak, yapılan çalışmalar trombositlerin inflamatuvar sürece, mikrobiyal konak savunmasına, yara iyileşmesine ve anjiyogeneze katkıda bulunduğunu göstermektedir (Golebiewska ve Poole, 2015). Trombositlerin diğer hücreleri etkileme yeteneği, hastalıkların patofizyolojisinde birçok yerde rol oynayabilecekleri anlamına gelmektedir (Budak ve ark., 2016). Çeşitli enfeksiyonlar ve metabolik bozukluklar trombosit sayılarında ve trombosit indekslerinde değişikliklere neden olmaktadır. Trombosit morfolojisi ve fonksiyonlarının biyolojik belirteçleri olan trombosit sayısı (PLT), ortalama trombosit hacmi (MPV), trombosit dağılım genişliği (PDW), trombositokrit (PCT) günümüzdeki hematoloji analizörleri ile otomatik olarak elde edilebilmekte ve ek maliyetler gerektirmeden tanı ve prognostik anlamda yardımcı olmaktadır (Budak ve ark., 2016; Bayleyegn ve ark., 2021).

MPV, trombosit hacminin ve trombosit aktivasyonunun dolaylı bir ölçümüdür. Trombosit yaşlandıkça, trombosit büyüklüğü azalmakta ve artmış bir MPV, dolaşımdaki genç trombositlerin oranının arttığını göstermektedir. PDW, trombosit boyutundaki hacim değişkenliğinin bir göstergesidir ve trombosit anizotuzu varlığında artmaktadır. Trombosit büyüklüklerinde heterojenitenin saptanması, trombosit aktivasyonunun değerlendirilmesi bakımından önem arz etmektedir. Normal bir fizyolojik durumda, PDW ve MPV arasında doğrudan bir ilişki vardır. Hematokrite (HCT) benzer olan trombositokrit (PCT) değeri ise, trombositlerin yüzde olarak kanda kapladığı toplam hacmi ifade etmekte ve (trombosit sayısı × MPV / 10.000) formülüyle hesaplanmaktadır (Bayleyegn ve ark., 2021).

Son yıllarda *Mycoplasma* spp.'in sebep olduğu haemabartonellosis enfeksiyonunun ülkemizdeki görülme sıklığı artmıştır. Kedi ve köpek pratiğinde trombosit indeksleri ile ilgili ülkemizde yapılan çalışmalara (Koenhemi, 2019; Çolakoğlu ve Haydardedeoğlu, 2019; Özata ve Ural, 2014; Yılmaz ve ark., 2008; Koenhemi ve ark., 2020) ek olarak araştırmaların genişletilmesinin gerekli olduğu öngörülmüştür. Bu çalışmanın amacı, *Mycoplasma* spp. ile doğal olarak enfekte olmuş kediler ile sağlıklı kedilerin trombosit sayısı ve indekslerinin karşılaştırılması ve sonuçların teşhis ve prognoz konusunda anlamlı olup olamayacağına incelenmesidir.

Gereç ve Yöntem

Ocak 2020-Mayıs 2021 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı'na başvuran ve mikroskopik inceleme sonucunda *Mycoplasma* spp. teşhisi konulan kediler ile aşılama ve rutin sağlık kontrolü amacıyla getirilen sağlıklı kediler, elektronik tıbbi kayıt veri tabanı üzerinden yapılan taramalar sonucunda tespit edilmiş ve araştırma retrospektif olarak yürütülmüştür. Çalışmanın retrospektif olarak veri tarama şeklinde gerçekleştirilmiş olması sebebiyle etik kurul onayına gerek duyulmamıştır.

Çalışma kapsamında değerlendirilen kedilerin anamnez ve klinik muayene bulguları, polikliniğimizin otomasyon sisteminden bulunarak not edilmiştir. Kedilerin juguler venasından alınan ortalama 3 ml'lik kan EDTA'lı tüplere konulmuş ve Idexx ProCyte Dx model hemogram cihazıyla incelenmiştir.

Mikroskopik inceleme için kan frotileri hazırlanmış ve Romanovsky metodu ile boyanan frotiler örnekleri mikroskop altında incelenmiştir.

Yapılan incelemeler sonrasında, *Mycoplasma* spp. ile doğal olarak enfekte olmuş 25 kedinin (Grup 1) trombosit sayısındaki ve trombosit indekslerindeki değişiklikler kontrol grubundan oluşan 25 sağlıklı kedinin (Grup 2) ile karşılaştırılmıştır.

Verilerin dağılımı Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiştir. RBC, HCT, HGB, MCV, MCH, RDW, MONO, PLT, MPV ve PCT değişkenlerinin normal dağılım sergilediği belirlenmiştir. Normal dağılım gösteren değişkenlerin istatistiksel analizinde "bağımsız örneklem t-testi" uygulanmıştır. Normal dağılım göstermeyen MCHC, RETIC, WBC, NEU, LYM, EOS ve BASO değişkenlerinin analizinde ise "Mann-Whitney-U testi" uygulanmıştır. Gruplar arası analizler bağımsız örneklem t-testi ile değerlendirilmiştir. Varyansların homojenliğini değerlendirmek amacıyla "Levene's Test" kullanılmıştır. Verilerin gösteriminde "aritmetik ortalama ± standart hata" kullanılmıştır. Veriler, "IBM SPSS Statistics 25" paket programı ile analiz edilmiştir. Sonuçlar için anlamlılık seviyesi P<0.05 olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Her iki gruptaki hayvanların yaş, ırk ve cinsiyet bilgisi kaydedilmiştir (Tablo 1). Hasta grubunun 10 erkek ve 15 dişi olmak üzere, 24 tekir ve bir British Shorthair ırkı kideden; sağlıklı grubunun ise, 12'si erkek, 13'ü dişi olmak üzere; üç İran kedisi, bir Van kedisi, dört Scottish Fold ve 17 tekir kideden oluştuğu belirlenmiştir.

Tablo 1. Sağlıklı ve hasta kedilerin cinsiyet ve ırk bilgileri

Grup	Cinsiyet	İrk
Sağlıklı	Erkek (%48) Dişi (%52)	Tekir (%68) Scottish Fold (%16) İran kedisi (%12) Van kedisi (%4)
Hasta	Erkek (%40) Dişi (%60)	Tekir (%96) British Shorthair (%4)

Hasta kedilerin yaş ortalamaları 4.4 saptanırken, sağlıklı kedilerin yaş ortalaması 3.9 olarak belirlenmiştir.

Hemogram tahlilleri neticesinde hasta kedilerin %40'ında normositik normokromik anemi ve %20'sinde makrositik normokromik anemi tespit edilmiştir. Buna ek olarak hasta kedilerin %60'ında monosit değerlerinin yüksek olduğu saptanmıştır. Hastaların %60'ında trombositopeni varlığı tespit edilmiştir.

Hasta ve sağlıklı gruplar arasında RBC, HCT, HGB, MONO, PLT, MPV, PCT, EOS değerleri açısından yüksek düzeyde istatistiksel anlamlılık saptanmıştır (P<0.001). MCV, WBC, NEU, LYM, BASO değerleri arasındaki fark ise P<0.05 düzeyinde anlamlı sonuçlanmıştır (Tablo 2).

12'sinin dişi, altısının ise erkek olduğu belirtilmiştir. Çelik ve ark. (2021)ise, PCR taraması ile yaptıkları çalışmada, 246 kediden 21'inde hemoplasma türlerinden en az birine rastladıklarını ve bu kedilerden sadece altı tanesinin dişi olduğunu bildirmişlerdir. Bildirilen çalışmaların aksine bu çalışmada, hasta kedilerin 15 dişiden ve 10 erkekten oluştuğu belirlenmiştir.

Kedilerdeki hemoplasma enfeksiyonları çeşitli klinik semptomlarla kendini belli etmektedir. Bunlardan en çok bilineni ise anemidir. Çelik ve ark. (2021) yaptığı çalışma sonucunda incelenen kedilerin %18.7 sinde anemi varlığı saptanmıştır. Kurtde ve Ural (2004) yayınladıkları çalışmada, heamebartonella teşhisi konulmuş kedilerden iki tanesinde normositik normokromik rejeneratif anemi, bir tanesinde normositik-hipokromik anemi, diğer bir tanesinde ise makrositik

Tablo 2. *Mycoplasma* spp. ile enfekte kedilerde ve sağlıklı kedilerde tam kan sayımı parametreleri ve istatistik sonuçları

Parametreler	Hasta Kediler Ort ±SE	Sağlıklı Kediler Ort ±SE	Referans Aralığı	P Değeri
RBC (M/µL)	4.63 ± 0.50	9.56 ± 0.24	6.54 – 12.2	<0.001
HCT (%)	20.77 ± 2.11	38.95 ± 0.89	30.3 – 52.3	<0.001
HGB (g/dl)	6.90 ± 0.69	13.28 ± 0.27	9.8 – 16.2	<0.001
MCV (fL)	46.97 ± 2.58	41.06 ± 0.68	35.9 – 53.1	<0.05
MCH (pg)	15.40 ± 0.91	14.01 ± 0.20	11.8 – 17.3	>0.05
MCHC (g/dl)	32.71 ± 0.91	34.18 ± 0.28	28.1 – 35.8	>0.05
RDW (%)	24.59 ± 0.94	24.88 ± 0.40	15.0 – 27.0	>0.05
RETIC (K/µL)	54.63 ± 14.96	16.53 ± 2.11	3.0 – 50.0	>0.05
WBC (K/µL)	13.75 ± 1.69	10.63 ± 2.38	2.87 – 17.02	<0.05
NEU (K/µL)	7.66 ± 1.15	4.36 ± 0.39	2.30 – 10.29	<0.05
LYM (K/µL)	4.46 ± 0.60	2.87 ± 0.21	0.92 – 6.88	<0.05
MONO (K/µL)	0.97 ± 0.13	0.33 ± 0.02	0.05 – 0.67	<0.001
EOS (K/µL)	0.59 ± 0.29	0.70 ± 0.09	0.17 – 1.57	<0.001
BASO (K/µL)	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.01 – 0.26	<0.05
PLT (K/µL)	152.12 ± 25.96	306.76 ± 22.48	151 – 600	<0.001
MPV (fL)	19.60 ± 0.52	16.42 ± 0.28	11.4 – 21.6	<0.001
PCT (%)	0.29 ± 0.04	0.50 ± 0.03	0.17 – 0.86	<0.001

RBC: Eritrosit sayısı; HCT: Hematokrit; MCV: Ortalama eritrosit hacmi; MCH: Ortalama eritrosit hemoglobini; MCHC: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu; RDW: kırmızı hücre dağılım genişliği; RETIC: Retikülosit; WBC: Lökosit; NEU: Nötrofil; LYM: Lenfosit; MONO: Monosit; EOS: Eozinofil; BASO: Bazofil; PLT: Platelet; MPV: Ortalama trombosit hacmi; PCT: Trombositokrit

Tartışma ve Sonuç

Akkan ve ark. (2005) 82'si erkek ve 39'u dişi olmak üzere toplam 121 Van kedisi üzerinde yaptıkları çalışmada, kedilerin %14.88'inde haemobartonellosis tespit etmişlerdir. Hastalık tespit edilen kedilerden

normokromik anemi görüldüğünü ve ayrıca 2 kedide monositoz saptandığını bildirmişlerdir. Sekiz yaşında ve *Mycoplasma* spp. pozitif bir İran kedisi için yapılan olgu sunumunda, HCT ve HGB değerlerinin düşük olduğu bildirilmiştir (Senthil ve ark., 2014). Üç yaşın-

daki erkek bir kedi ile alakalı başka bir olgu sunumunda ise trombositopeni, makrositik hipokromik anemi ve monositosis saptanmıştır (Aslan ve ark., 2010). Akkan ve ark. (2005) Van kedileri üzerinde yaptıkları çalışmada hasta kedilerin RBC ve HCT değerlerinin fizyolojik sınırlar içinde ölçüldüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışma ise, Kurtkede ve Ural'ın (2004) yaptığına benzer olarak sonuçlanmış ve hasta kedilerin %40'ında normositik normokromik anemi ve %20'sinde makrositik normokromik anemi tespit edilmiştir. Buna ek olarak hasta kedilerin %60'ında monosit değerlerinin yüksek olduğu saptanmıştır. Buradaki farklılıkların, mycoplasma etkeninin türüne ya da hastalığın akut veya kronik seyretmesine göre şekillenmiş olabileceği düşünülmüştür.

PLT ve indeksleri ile alakalı çeşitli hastalıkların oluşturduğu çalışmalar incelendiğinde farklı sonuçlarla karşılaşılmıştır. Koenhemi 2019 yılında yayınladığı çalışmada, parvoviral enterit teşhisi konulan köpeklerin PLT, PCT, MPV değerlerinde istatistiksel bir farklılık saptanmadığını bildirmiştir. Çolakoğlu ve Haydardeğolu (2019) immün hemolitik anemisi (IMHA) olan köpekler üzerinde yürüttükleri çalışmada, MPV değerinin IMHA'lı köpeklerde referans popülasyona kıyasla anlamlı olarak daha yüksek olduğunu, PLT ve PCT için ise gruplar arasında anlamlı fark bulunmadığını bildirmişlerdir. *Ehrlichia canis* ve *Anaplasma phagocytophilum* ile enfekte köpeklerle yapılan başka bir çalışmada, PLT ve PCT değerleri hasta hayvanlarda sağlıklı hayvanlara göre düşük tespit edilirken, MPV sonucunun ise istatistiksel bir fark göstermediği bildirilmiştir (Özata ve Ural, 2014). Yapılan çalışmalarda elde edilen sonuç farklılıklarının, hastalığın etkeni, hayvan türü ve hastalığın dönemi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Yılmaz ve ark. (2008) tarafından endotoksemili köpekler üzerinde yapılan çalışmanın sonucunda ise PLT ve PCT'nin referans aralığından düşük, MPV'nin ise yüksek ölçüldüğü bildirilmiş ve endotoksemili köpeklerde teşhis ve monitorizasyon için trombosit indekslerinin değerlendirilmesinin anlamlı olacağı sonucuna varılmıştır. Pyometra'nın da yaygın komplikasyonlarından birinin endotoksemi olduğu bilinmektedir (Fransson ve Ragle, 2003). Koenhemi ve ark. (2020) pyometralı kedi ve köpekler üzerinde yaptıkları çalışmanın sonucunda trombosit ve indekslerinde anlamlı bir farklılık saptamamışlardır. Yazarlar bu sonucu, araştırmaya dahil edilen kedi ve köpeklerin pyometranın erken safhasında olmalarından kaynaklanabileceği ve ileri safhadaki hayvanlar için de araştırma yapılmasının gerekli olduğu şeklinde yorumlamışlardır. Rejeneratif trombositopeni tespit edilen mevcut çalışmamızın, Yılmaz ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışma ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu doğrultuda, *Mycoplasma* spp. pozitif olan kedilerde de endotoksemi şekillenebileceği ve MPV artışının kemik iliğinin endotoksinlere olan yanıtı ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmanın sonucunda; trombosit sayısı (PLT) ve trombosit indekslerinden PCT, hasta hayvanlarda sağlıklı hayvanlara göre düşük, MPV ise yüksek ölçülmüştür ($P<0.001$). Trombositlerdeki kantitatif azalma olan trombositopeninin, ciddi morbiditeye neden olduğu bilinmektedir (Bayleyegn ve ark., 2021). Trombosit üretimi azaldığında, üretilen genç trombositler daha büyük ve aktif hale gelmekte ve MPV seviyeleri artmaktadır. Artan MPV, üretim hızı ve trombosit aktivasyonunun bir belirteci olarak kullanılabilen trombosit çapının arttığı bir göstergesidir. (Sachdev ve ark., 2014). Trombosit sayısının ve PCT'nin eşzamanlı olarak düşük ölçülmesi trombositlerin aşırı tüketildiğini göstermektedir (Zhang ve ark., 2015). Daha önce beşeri alanda yapılan çalışmalarda da trombosit sayısı ile trombositokrit arasında pozitif bir korelasyon olduğu, aynı zamanda artan parazitemi seviyesinin hem PCT hem de trombosit sayısının azalması ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Bayleyegn ve ark., 2021; Gupta ve ark., 2019; Tangvarasittichai ve ark., 2016).

Mevcut hemogram cihazımızdaki eksiklik sebebiyle trombosit dağılım genişliğini ifade eden PDW'nin değerlendirmeye katılamamış olması, hasta kedilerin tedavi sonrasındaki hemogram tahlillerinin değerlendirilmeye alınamamış olması ve sağ kalım sürelerinin belirlenememiş olması bu çalışma için kısıtlayıcı bir faktör olmuştur. Bu çalışmanın sonucunda, trombosit indekslerinin, haemobartonellosis ile enfekte olan kedilerde tanı ve prognoza yönelik potansiyel bir değere sahip olabileceği fakat ileriki dönemlerde mycoplasma tür tayinlerinin de belirlendiği daha geniş çaplı çalışmaların yürütülmesinin veteriner hekimlik alanında aydınlatıcı nitelikte olabileceği düşüncesine varılmıştır. Buna ek olarak, veteriner alanda çeşitli hastalıklardaki trombosit ve indekslerinin değişimlerinin değerlendirildiği ileri çalışmaların yapılmasının faydalı olabileceği öngörülmüştür.

Teşekkür

Araştırmanın istatistiksel analizlerindeki katkılarından dolayı Zootekni Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Bülent Ekiz'e teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Akkan HA, Karaca M, Tütüncü M, Özdal N, Yüksek N, Ağaoğlu Z, Değer S. Haemobartonellosis in Vancats. Turk J Vet Anim Sci 2005; 29(3): 709-12.

Aslan Ö, İça A, Çam Y, Kibar, M. Kayseri'de bir kediye Haemobartonellosis olgusu. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2010; 7(2): 131-5.

Bayleyegn B, Asrie F, Yalew A, Woldu B. Role of platelet indices as a potential marker for malaria severity. J Parasitol Res 2021; 5531091.

Budak YU, Polat M, Huysal K. The use of platelet

- indices, plateletcrit, mean platelet volume and platelet distribution width in emergency non-traumatic abdominal surgery: A systematic review. *Biochem Med* 2016; 26(2): 178-93.
- Clark R. Eperythrozoon felis (sp. Nov) in a cat. *J S Afr Vet Assoc* 1942; 13(1): 15-6.
- Çelik B, Koenhemi L, Dokuzeylül, B, Kahraman BB, Sığırcı BD, İkiz S, Bağcıgil AF. Epidemiology of feline hemoplasmosis in the population of domestic cats in Istanbul. *Med Weter* 2021; 77(3): 132-6.
- Çolakoğlu EÇ, Haydardedeoğlu AE. Thrombocyte indices and plateletcrit in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *Med Weter* 2019; 75(8): 484-6.
- Flint JC, Moss LC. Infectious anemia in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1953; 122(910): 45-8.
- Fransson BA, Ragle CA. Canine pyometra: An update on pathogenesis and treatment. *Compend* 2003; 25(08): 602-12.
- Golebiewska EM, Poole AW. Platelet secretion: From haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev* 2015; 29(3): 153-62.
- Grindem CB, Corbett WT, Tomkins MT. Risk factors for *Haemobartonella felis* infection in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196(1): 96-9.
- Gupta P, Guddattu V, Saravu K. Characterization of platelet count and platelet indices and their potential role to predict severity in malaria. *Pathog Glob Health* 2019; 113(2): 86-93.
- Hayes HM, Priester WA. Feline infectious anaemia. Risk by age, sex and breed; prior disease; seasonal occurrence; mortality. *J Small Anim Pract* 1973; 14(12): 797-804.
- Koenhemi L. Determination of platelet count and platelet indices in canine parvoviral enteritis. *Med Sci Discov* 2019; 6(2): 24-6.
- Koenhemi L, Uçmak ZG, Uçmak M, Or ME. Platelet indices in dogs and cats with pyometra. *Rev Vet Clin* 2020; 55(4): 147-50.
- Kurtdede A, Ural K. Haemobartonellosis of cats in Ankara, Turkey. *Acta Vet Brno* 2004; 73(4): 507-12.
- Messick JB. Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): A review and new insights into pathogenic potential. *Vet Clin Pathol* 2004; 33(1): 2-13.
- Özata F, Ural K. Thrombocyte indices in dogs infected with *Ehrlichia canis* and *Anaplasma phagocytophilum*. *Rev MVZ Córdoba* 2014; 19(3): 4277-88.
- Sachdev R, Tiwari AK, Goel S, Raina V, Sethi M. Establishing biological reference intervals for novel platelet parameters (immature platelet fraction, high immature platelet fraction, platelet distribution width, platelet large cell ratio, platelet-X, plateletcrit, and platelet distribution width) and their correlations among each other. *Indian J Pathol Microbiol* 2014; 57(2): 231.
- Senthil N, Nagarajan K, Padmanath K, Subapriya S, Vairamuthu S, Tilagar MB, Thirunavukkarasu PS. A rare case study on feline mycoplasmosis. *IJVA* 2014; 3: 106-8.
- Small E, Ristic M. Haemobartonellosis. *Vet Clin N Am* 1971; 1(2): 225-30.
- Tangvarasittichai O, Srikong M, Tangvarasittichai S. Platelet count and platelet indices used as potential markers for first malaria infection diagnosis. *Int J Pharm Clin Res* 2016; 8(10): 1454-8.
- Tasker S. Current concepts in feline haemobartonellosis. *In Pract* 2006; 28(3): 136-41.
- Tasker S, Lappin MR. *Haemobartonella felis*: Recent developments in diagnosis and treatment. *J Feline Med Surg* 2002; 4(1): 3-11.
- Willi B, Boretti FS, Cattori V, Tasker S, Meli ML, Reusch C, Hofmann-Lehmann R. Identification, molecular characterization, and experimental transmission of a new hemoplasma isolate from a cat with hemolytic anemia in Switzerland. *J Clin Microbiol* 2005; 43(6): 2581.
- Willi B, Boretti FS, Meli ML, Bernasconi MV, Casati S, Hegglin D, Hofmann-Lehmann R. Real-time PCR investigation of potential vectors, reservoirs, and shedding patterns of feline hemotropic mycoplasmas. *Appl Environ Microbiol* 2007; 73(12): 3798.
- Willi B, Tasker S, Boretti FS, Doherr MG, Cattori V, Meli ML, Hofmann-Lehmann R. Phylogenetic analysis of "*Candidatus Mycoplasma turicensis*" isolates from pet cats in the United Kingdom, Australia, and South Africa, with analysis of risk factors for infection. *J Clin Microbiol* 2006; 44(12): 4430.
- Woods JE, Brewer MM, Hawley JR, Wisniewski N, Lappin MR. Evaluation of experimental transmission of *Candidatus Mycoplasma haemominutum* and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. *Am J Vet Res* 2005; 66(6): 1008-12.
- Yılmaz Z, Eralp O, Ilcol YO. Evaluation of platelet count and its association with plateletcrit, mean platelet volume, and platelet size distribution width in a canine model of endotoxemia. *Vet Clin Pathol*

2008; 37(2): 159-63.

Zhang S, Cui YL, Diao MY, Chen DC, Lin ZF. Use of platelet indices for determining illness severity and predicting prognosis in critically ill patients. *Chin Med J* 2015; 128(15): 2012.



Türkiye’de Bir Yaban Domuzunda Akciğer Kıl Kurdu *Metastrongylus pudendotectus*’un (Metastrongylidae: Nematoda) DNA Barkodlaması ve Filogenetik Karakterizasyonu

Mübeccel ATELGE^{1,a}

¹Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Kastamonu-TÜRKİYE
Orcid No: ^a 0000-0003-3019-7038

Sorumlu yazar: Mübeccel ATELGE; E-posta: matelge@kastamonu.edu.tr

Atıf yapmak için: Atelge M. Türkiye’de bir yaban domuzunda akciğer kıl kurdu *Metastrongylus pudendotectus*’un (Metastrongylidae: Nematoda) DNA barkodlaması ve filogenetik karakterizasyonu. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19 (1): 49-54

Öz: Bu çalışmada Kastamonu’nun merkez ilçesinde bir yaban domuzunun nekropsi analizi sonucunda akciğerlerinde belirlenen ve morfolojik identifikasyonla *Metastrongylus pudendotectus* olarak teşhis edilen akciğer kıl kurtlarının mitokondrial DNA cytochrome oxidase subunit 1 (COX1) gen bölgesi moleküler olarak karakterize edilmiş ve filogenetik ilişkileri araştırılmıştır. DNA barkodlama analizlerine 10 adet *M. pudendotectus* izolatu dahil edilmiş olup genomik DNA izolasyonu sonrası COX1 gen bölgesi tasarlanan primerlerle çoğaltılmış ve sekans analizlerine tabii tutulmuştur. Sekans analizleri sonucu morfolojik tür konfirmasyonları sağlanmıştır. COX1 gen bölgesi sekans analizleri sonucunda aralarında %0.4 genetik farklılık belirlenen 2 haplotip belirlenmiştir. Filogenetik analizlerde her iki haplotipe ait izolatların GenBank veri tabanındaki referans ve çeşitli ülkelerden bildirilmiş *M. pudendotectus* izolatlarıyla birlikte monofiletik küme oluşturduğu belirlenmiştir. *Metastrongylus pudendotectus* izolatlarının ayrıca aynı soydaki *M. apri* ve *M. salmi* ile ortalama %10.8 ve %12.5, *Dictyocaulus* türleriyle ortalama %15.0 ve *Syngamus trachea* ile de %15.8 genetik farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Türkiye’de yaban domuzlarında enfeksiyona yol açan akciğer kıl kurdu *M. pudendotectus* için ilk filogenetik karakterizasyon verileri sağlanmıştır. Elde edilen sonuçlar domuzlarda akciğer kıl kurtlarının moleküler epidemiyolojisine katkı sağlamıştır.

Anahtar kelimeler: Akciğer kıl kurdu, filogenetik karakterizasyon, *Metastrongylus pudendotectus*, Türkiye, yaban domuzu

DNA Barcoding and Phylogenetic Characterization of the Lungworm *Metastrongylus pudendotectus* (Metastrongylidae: Nematoda) Detected in a Wild Boar in Turkey

Abstract: In this study, lungworms detected in the necropsy analyses of a wild boar in central district of Kastamonu and diagnosed as *Metastrongylus pudendotectus* by morphological identification were molecularly characterized using mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 (COX1) gene sequences and their phylogenetic relationships were investigated. Totally 10 *M. pudendotectus* isolates were included in DNA barcoding analyses. COX1 gene region was amplified with newly designed primers and subjected to the sequence analyses after genomic DNA isolations. Morphological species identifications were confirmed by sequence analyses results. Two haplotypes with 0.4% genetic difference were determined by sequence analyses of the COX1 gene region. In phylogenetic analyses, both haplotypes were placed into a monophyletic cluster with the reference and published isolates of *M. pudendotectus* from several countries in GenBank. Furthermore *M. pudendotectus* isolates showed genetic differences of 10.8% and 12.5% with *M. apri* and *M. salmi* in the same genus, 15.0% with *Dictyocaulus* species and 15.8% with *Syngamus trachea*. The first phylogenetic characterization data on the lungworm *M. pudendotectus* infecting wild boars in Turkey is provided with this study. The obtained results also contribute to molecular epidemiology of lungworms in boars.

Keywords: Lungworm, *Metastrongylus pudendotectus*, mitochondrial DNA, phylogenetic characterization, Turkey, wild boar

Giriş

Son konağı evcil (*Sus domesticus*) ve yaban domuzları (*Sus scrofa*) olan ve akciğer kıl kurtları olarak bilinen *Metastrongylus* türleri heteroksen nematod parazitlerdir. Verminöz pnömoni ile karakterize metastrongylosis, evcil ve yaban domuzlarını etkileyen önemli bir solunum yolu hastalığıdır (Poglayen ve

ark., 2016; Dodangeh ve ark., 2018). Yaban domuzlarının, belirgin klinik belirtiler olmaksızın yüzlerce *Metastrongylus* türünü barındırabileceği bilinmesine rağmen, şiddetli enfeksiyonlar, özellikle yavru domuzlarda ve yaban domuzlarında, kronik bronşit ve solunum semptomları olarak ortaya çıkan verminöz pnömoniyeye neden olabilir (da Silva ve Müller, 2013). Hastalığın yavruları daha şiddetli etkilemesinin bağışıklığın yaşla birlikte geliştiğini düşündürmektedir (Spieler ve Schnyder, 2021). *Metastrongylus* enfeksiyonlarının oluşturdukları doku hasarıyla çoğu kez domuz

sirkovirüsü, domuz gripi virüsü ve fırsatçı bakterilerle eşzamanlı enfeksiyon oluşturduğu bilinmekte olup bu son durumda ölümcül bronkopnömoni tablosu ortaya çıkabilmektedir (Marruchella ve ark., 2012; da Silva ve Müller, 2013).

Günümüze kadar altı *Metastrongylus* türü tanımlanmıştır: *Metastrongylus apri* (syn. *M. elongatus*), *Metastrongylus asimetricus*, *Metastrongylus confusus*, *Metastrongylus madagascariensis*, *Metastrongylus pudendotectus* ve *Metastrongylus salmi*. Küresel olarak, *M. apri*, *M. salmi* ve *M. pudendotectus* en yaygın türler olarak rapor edilirken (Gasso ve ark., 2014), *M. madagascariensis* sadece Madagaskar'da bildirilmiştir (Chabaud ve Gretillat, 1956). *Metastrongylus* türleri Dünyanın farklı yerlerinde evcil ve yaban domuzlarında tek başına veya miks olarak enfeksiyona yol açma yeteneğinde olan türler olarak tanımlanmıştır (Gassó ve ark., 2014).

Yaban domuzu, evcil hayvanlardan farklı olarak çeşitli enfeksiyöz etkenlerin orman çemberinde rezervuar konak olarak zoonotik bulaşma noktasında epidemiyolojik açıdan önemli bir rol oynayabilir (Mansouri ve ark., 2016). Yaban domuzu Türkiye'nin hemen hemen tüm ekosistemlerinde bulunabilir. Yaban domuzları Türkiye'de yaygın olmasına rağmen, bu hayvanların parazitleri ile ilgili sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır (Merdivenci, 1965; Merdivenci, 1983; Şenlik ve ark., 2010; Aypak ve ark., 2013; Kesik ve ark., 2020). Bu çalışmalar arasında akciğer kıl kurtlarının morfolojik incelemelerle raporlandığı iki çalışma bulunmaktadır (Merdivenci, 1965; Merdivenci, 1983). Akciğer kıl kurtlarının prevalansı üzerine detaylı analizlerin yapıldığı morfolojik teşhis tabanlı Bursa yöresinde yürütülmüş yalnızca bir çalışma (Şenlik ve ark., 2011) bulunmaktadır olup ilgili çalışmada incelenen 27 yaban domuzu akciğerlerinin %52'sinde *M. pudendotectus*, %59'unda *M. apri* ve %52'sinde de *M. salmi* enfeksiyonu rapor edilmiştir. Günümüze kadar Türkiye'de yaban domuzlarında akciğer kıl kurtlarının genetik çeşitliliği ve filogenetik ilişkileri üzerine herhangi bir veri bulunmamaktadır.

Bu çalışmada Kastamonu yöresinde avcılar tarafından avlanarak Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne getirilen bir yaban domuzunun nekropsi muayenesi sonrası akciğerlerinde belirlenen nematodların morfolojik ve moleküler teşhislerinin yapılması ve elde edilen izolatların mitokondrial DNA temelinde filogenetik ilişkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Parazit materyali, morfolojik identifikasyon ve genomik DNA izolasyonu

Çalışmada, Ocak 2022 ayı içerisinde Kastamonu yöresinde avcılar tarafından avlanarak Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi'ne getirilen bir dişi yaban domuzunun nekropsi muayenesi gerçekleştiril-

miş ve akciğer bronşlarında çok sayıda nematoda tespit edilmiştir. Nematodlar pens yardımıyla toplanarak steril fizyolojik su içerisine alınmıştır. Parazitler daha sonra 3 kez steril PBS ile yıkandıktan sonra %70 etil alkol içerisine aktarılmış ve bekletilmeden mikroskop altında incelenerek ilgili teşhis anahtarları (Gasso ve ark., 2014; Poglayen ve ark., 2016) yardımıyla teşhisleri yapılmıştır. Parazitler daha sonra genomik DNA izolasyonu yapıncaya kadar %70 etil alkol içerisinde -20°C'de muhafaza edilmiştir. Morfolojik teşhisleri yapılan toplam 10 parazit örneğinden PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher, ABD) kullanılarak gDNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen gDNA ekstraktlarından alınan örnekler Qubit® Fluorometric Quantitation (Life Technologies) spektrosunda işlenerek total gDNA miktarları (ng/µl) belirlenmiştir. gDNA örnekleri kullanılına kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Mitokondrial cytochrome oxidase subunit 1 gen bölgesinin amplifikasyonu

Örneklerden elde edilen gDNA izolatlarında COX1 gen bölgesinin çoğaltılabilmesi için GenBank veri tabanındaki referans *M. pudendotectus* mitokondrial genom sekansı üzerinde Geneious Prime 2022.0.2 (www.geneious.com) yazılımı kullanılarak değişken bölgeleri içeren ve GenBank'taki diğer benzer taksonlardaki mevcut sekansları da kapsayan 711 bp uzunluğunda bir bölgeyi çoğaltan optimum özellikte primer tasarımı yapılmıştır. Örnekler ait gDNA izolatları MPdsF (5'-TTGGGTGGTATTAATTTTATGTG-3') ve MPdsR (5'-AAAMTAATACCAGTAWAAATCCCA-3') primerleri ile hazır kullanımlık DreamTaq DNA Polimeraz (Thermo Fischer, ABD) enzimi kullanılarak üreticinin protokolüne göre PCR cihazında amplifikasyonu tabii tutulmuştur. Termal profil 95 °C'de 4 dk; 40 siklus, denatürasyon:95 °C'de 1 dk, bağlanma: 50 °C'de 30 sn, uzama: 72 °C'de 1dk; final uzama: 72 °C'de 10 dk olacak şekilde programlanmıştır. Elde edilen PCR ürünleri %1,5'lük agaroz jelde elektroforeze tabii tutulduktan sonra Gene Snap from Syngene analiz programı (UVP INC Uplant, CA) ile görüntülenip analiz edilmiştir.

Sekans ve filogenetik analizler

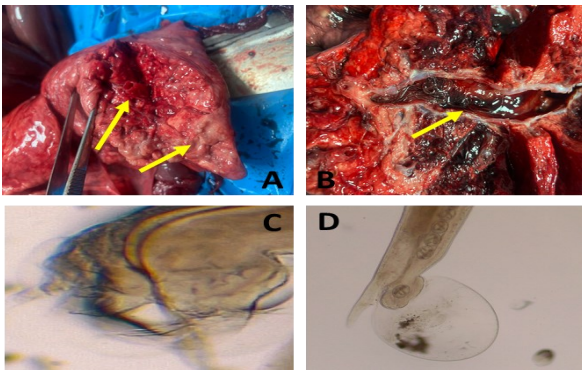
Örneklerin PCR analizleri sonrası COX1 ampliconları sekans analizleri için jel pürifiye (Thermo GeneJET PCR Purification Kit) edilmiştir. Sekans analizleri PCR analizlerinde kullanılan forward ve reverse primer dizileri ile çift yönlü olarak gerçekleştirilmiştir (Macrogen Europe). Çift yönlü DNA dizisi belirlenen izolatlara ait kromotogramlar Geneious prime yazılımında De Novo Assamble ile işlenmiş ve kalite skoru yüksek olan final konsensus dizilimler belirlenmiştir. Elde edilen sekansların Geneious Prime yazılımı üzerinden BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) algoritması kullanılarak GenBank'ta mevcut referans ve aynı ya da yakın taksonlardaki izolatlarla

ait ilgili gen bölgesi sekanslarıyla çoklu hizalamaları yapılarak moleküler karakterizasyonları sağlanmış ve akabinde GenBank kayıtları gerçekleştirilmiştir. İzolatların haplotip analizleri DNAsp (Librado ve Rozas, 2009) yazılımında araştırılmıştır. Elde edilen izolatlar ile filogenetik analizlere dahil edilen izolatlar arasındaki genetik farklılıklar Kimura two-parameter (K2P) uzaklık modeli (Kimura, 1980) kullanılarak MEGA 7 yazılımında (Kumar ve ark., 2016) gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç Maximum Likelihood (ML) analizi ile oluşturulmuştur. ML analizlerinde sekans evrimi için en uygun substitution modelinin belirlenmesinde jModelTest v.0.1.1 (Kimura, 1980) kullanılmış ve en düşük AIC (Akaike Information, Criterion, correction) değerine sahip belirlenen model filogenetik ağacın oluşturulmasında kullanılmıştır. ML analizleri Geneious Prime yazılımı üzerinden PhyML (Guindon ve Gascuel, 2003) plugin kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ML analiziyle oluşturulan ağacın güvenilirliğinin tespit edilmesinde 1000 tekrarlı Bootstrap testi kullanılmıştır.

Bulgular

Parazitolojik teşhis

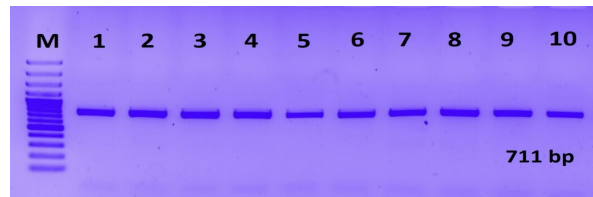
Nekropsi incelemesi yapılan yaban domuzunun akciğer bronşlarından toplam 176 adet nematod toplanmıştır. İlgili nematodların mikroskopik incelemesinde tamamının *M. pudendotectus*'un morfolojik karakterlerini gösterdiği tespit edilmiş olup 98 parazit dişi ve 78 parazit ise erkek *M. pudendotectus* olarak teşhis edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Fibrotik lezyon alanları ve nodüllü yaban domuzu akciğeri (A), bronşlardaki nematodlar (B), Bu çalışmada identifiye edilen *Metastrongylus pudendotectus*'un kaudal ucunun morfolojik özellikleri (C: erkek; D: dişi).

COX1 gen bölgesi sekans ve filogenetik analiz sonuçları

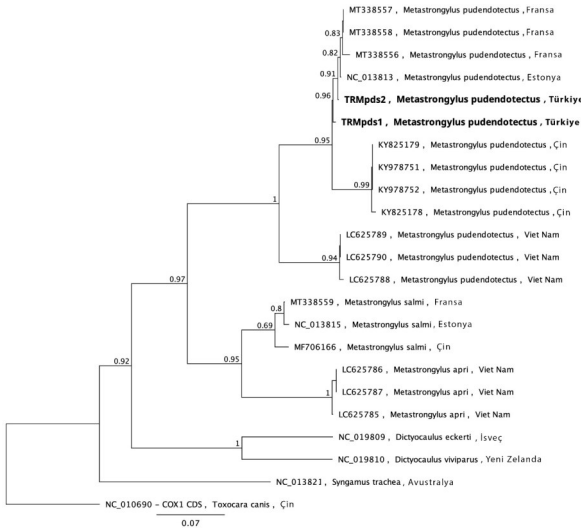
Morfolojik teşhis sonrası beş dişi ve beş erkek olmak üzere toplam 10 *M. pudendotectus* örneğinden gDNA izolasyonu yapılmış ve yeni tasarlanan primerlerle PCR analizleri sonucu hedef büyüklükte (711bp) DNA bantları agaroz jel üzerinde belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *Metastrongylus pudendotectus*'a ait izolatların mt-COX1 gen bölgesini amplifiye eden primer ile PCR sonucu elde edilen ampliconların jel elektroforezde görünümü M: Marker (100bp).

İzolatlara ait ampliconlar jelden saflaştırıldıktan sonra sekans analizlerine tabii tutulmuş ve tüm izolatlar için kalite skoru yüksek ($q > 20$) final sekanslar elde edilmiştir. Sekansların BLASTn analizleri morfolojik identifikasyon sonuçlarını doğrularak izolatların *M. pudendotectus*'a ait olduklarını göstermiştir. İzolatların hizalama ve haplotip analizlerinde 708 (%99.6) identik bölge belirlenirken iki farklı haplotipi (TRMpds1: 6 izolat; TRMpds2: 4 izolat) ortaya koyan üç polimorfik bölge saptanmıştır. İlgili haplotipler OM661192 (TRMpds1) ve OM661193 (TRMpds2) erişim kodlarıyla GenBank veri tabanına kaydedilmiştir. Belirlenen haplotiplere ait izolatlar arasında intraspecific nükleotid farklılığı ortalama %0.4 saptanmıştır.

Moleküler olarak karakterize edilen *M. pudendotectus* haplotiplerine ait izolatların Dünyada çeşitli bölgelerden bildirilen *Metastrongylus* ve yakın taksonlardaki nematodlara ait izolatlarla genetik ilişkileri filogenetik ağaç üzerinde (Şekil 3) gösterilmiştir. Maximum Likelihood (ML) filogenisine göre oluşturulan filogenetik çözünürlük tür grupları bazında yüksek bootstrap oranları ile desteklenmiştir. Çalışmada karakterize edilen haplotiplere ait izolatların dünyanın farklı ülkelerinden bildirilen *M. pudendotectus* izolatlarıyla birlikte monofiletik küme oluşturduğu ve Fransa ve Estonya'da yaban domuzlarından izole edilen izolatlarla genetik olarak yakın oldukları (%99.3-99.7) tespit edilmiştir (Şekil 3). Filogenetik analiz sonuçları ayrıca *M. pudendotectus*'un *M. salmi* ve *M. apri* ile sırasıyla %10.8 ve %12.5 genetik farklılık gösterdiğini ve akciğer kıl kurtları olarak birlikte küme oluşturduklarını göstermiştir. Çalışmada karakterize edilen *M. pudendotectus* izolatları ayrıca *Dictyocaulus viviparus*, *D. eckerti* ve *Syngamus trachea* referans sekansları ile sırasıyla %14.9, %15.0 ve %15.8 genetik farklılık göstererek filogenetik ağaçta farklı topolojik yerleşim göstermiştir (Şekil 3).



Şekil 3. *Metastrongylus* ve yakın taksonlardaki nematodlara ait izolatlar için COX1 gen bölgesi ML analizine göre filogenetik ilişkileri. Node'ların önündeki rakamlar ML bootstrap desteğini göstermektedir. Dış grup olarak *T. canis* izolatu (NC_010690) kullanılmıştır. Ölçek çizgisi yerleşim yeri başına nükleotid değişimini göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç

Dünyanın farklı bölgelerinde yaban domuzları üzerinde yürütülen araştırmalarda akciğer kıl kurtlarının prevalansının yüksek olduğu görülmektedir. *Metastrongylus* spp. enfeksiyonlarının yaygınlığı İsviçre'de %77.4 (Spieler ve Schnyder, 2021), Almanya'da %93.5 (Barutzki ve ark., 1990), İtalya'da %96.5 (Poglayen ve ark., 2016) ve Fransa'da %92 (Humbert ve Henry, 1989) olarak rapor edilmiştir. Diğer yandan Romanya, Bulgaristan ve Portekiz gibi ülkelerde enfeksiyonun yayılışı %2.1-42.2 arasında olmak üzere daha düşük rapor edilmiştir (de Sousa ve ark., 2004; Panayotova-Pencheva ve Dakova, 2018; Dărăbuş ve ark., 2019). Yaban domuzlarındaki akciğer kıl kurtlarının prevalans oranlarındaki farklılıkların domuz yoğunluğunu etkileyebilecek coğrafik faktörlerle ilişkili olabileceği ve domuz popülasyonundaki artışın da uygun yer solucanı ara konakların varlığında *Metastrongylus* enfeksiyonlarının yaygınlığını artırabileceği bildirilmiştir (Spieler ve Schnyder, 2021). Türkiye'de yaban domuzlarında *Metastrongylus* enfeksiyonlarının yayılışı üzerine mevcut tek çalışmada (Şenlik ve ark., 2011), yukarıdaki araştırmalara paralel olarak Bursa yöresinde %52-59 arasında prevalans bildirilmiştir. Çalışmamızda avcılar tarafından avlanarak Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesine getirilen bir yaban domuzunun incelenmesinde akciğer bronşlarında serbest veya nodüller içerisinde çok sayıda kıl kurduna rastlanmıştır. Her ne kadar prevalans çalışması olmasa da yukarıdaki çalışma sonuçları ışığında elde edilen veriler akciğer kıl kurdu

enfeksiyonlarının Kastamonu yöresindeki domuzlarda da yaygın olabileceğini göstermiştir.

Yukarıdaki araştırmalarda yaban domuzlarında *M. apri*, *M. salmi* ve *M. pudendotectus* prevalans oranları genel olarak birbirine yakın bulunmuştur. Çalışmamızda incelenen örneklerin *M. pudendotectus* olduğu morfolojik ve sekans analizleriyle ortaya çıkarılmıştır. *Metastrongylus* enfeksiyonlarına yol açan türlerin Kastamonu yöresindeki yaban domuzlarındaki dağılımı noktasında daha fazla sayıda örneklem üzerinde araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Enfekte yaban domuzlarında parazit yükünün incelendiği araştırmalarda akciğer başına 196-633 parazit sayısı bildirilmiştir (Fernandez-de-Mera ve ark., 2003; Spieler ve Schnyder, 2021). Araştırmamızda enfekte yaban domuzu akciğerinde toplam 176 adet parazit saptanmış olup elde edilen bu sonuç araştırmacıların (Spieler ve Schnyder, 2021) bulgularıyla paralel seyretmiştir. Spieler ve Schnyder (2021), yüksek hayvan yoğunluğunun yaban domuzlarındaki parazit yükünün fazla olmasıyla ilişkili olduğunu vurgulamıştır. Ayrıca düzenli gıda kaynaklarının bulunduğu ortamların ara konak yer solucanlarının da varlığında *Metastrongylus* spp. süperenfeksiyon riskini artırdığı kaydedilmiştir (Humbert ve Henry, 1989).

Domuzlarda akciğer kıl kurtlarının teşhisi ile ilgili olarak çeşitli gen bölgelerini hedefleyen moleküler yöntemlerle morfolojik özelliklerin doğrulaması için sınırlı araştırmalar yürütülmüştür (Leignel ve ark., 1997; Conole ve ark., 1999; Li ve ark., 2016). Li ve ark. (2016), COX1 gen bölgesinin yaklaşık 450 bp bölgesini çoğaltan primerlerle domuzlarda akciğer kıl kurtlarının genetik analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Ancak GenBank'taki referans mitokondrial genomları (Şekil 3) analizi sonucunda ilgili primerlerin özellikle 3' ucunda varyasyonlar gösterdiği ve dolayısıyla amplifikasyon problemlerinin ortaya çıkabileceği dikkati çekmiştir. Bu yönüyle çalışmamızda referans *Metastrongylus* mitokondrial genomları üzerinde COX1 gen bölgesi analiz edilerek türler arasında değişken bölgeleri içeren daha geniş (711 bp) bir bölgeyi çoğaltabilecek yeni primerler tasarlanmıştır. İlgili primerlerin yaban domuzunda belirlenen *M. pudendotectus* örneklerine ait gDNA izolatlarında etkin olarak amplifikasyon sağladığı görülmüştür. Ayrıca PCR ürünlerinin sekans analiziyle de primerlerin özgünlüğü onaylanmıştır. Tasarlanan primerlerin domuzlarda *Metastrongylus* türlerinin genetik karakterizasyon araştırmalarında kullanılabileceği düşünülmektedir.

Domuzlarda akciğer kıl kurtlarının mitokondrial DNA tabanında genetik karakterizasyonu ve filogenetik ilişkileri üzerine sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Ayrıca GenBank veri tabanında da sınırlı sayıda izolatu varlığı görülmektedir. Çalışmamızda filogenetik analizlere Fransa, Çin ve Vietnam'dan bildirilen *Metastrongylus* türlerine ait izolatların parsiyel COX1

sekansları ile Estonya'da karakterize edilen *M. pudendotectus* ve *M. salmi* mitokondrial genomları dahil edilmiştir. Yapılan sekans analizlerinde aralarında %0.4 genetik farklılık bulunan iki *M. pudendotectus* haplotipi karakterize edilmiştir. Her iki haplotipe ait izolatların monofiletik küme içerisinde Fransa, Estonya ve Çin'den bildirilen *M. pudendotectus* izolatlarıyla birlikte yerleşim gösterdiği ve Fransa ile Estonya izolatlarına yüksek identik oldukları (%99,3-99,7) görülmüştür. Çin'den rapor edilen *M. pudendotectus* izolatlarının ise Türkiye, Estonya ve Fransa izolatlarına %2.8 genetik farklılık göstererek monofiletik küme içerisinde ayrı gruplanma gösterdiği dikkati çekmiştir. Bu sonuç farklı coğrafik bölgelerde yayılış gösteren *M. pudendotectus* nesillerinin genetik çeşitliliğe sahip olduğuna dair kanıtlar ortaya koymuştur. Filogenetik analiz sonuçları ayrıca *M. pudendotectus*, *M. salmi* ve *M. aprini*'nin %10'un üzerinde genetik farklılık gösterdiğini ortaya çıkarmıştır.

Sonuç olarak; bu çalışma ile Türkiye'de yaban domuzlarında enfeksiyona yol açan akciğer kıl kurdu *M. pudendotectus* üzerine ilk filogenetik karakterizasyon verileri sağlanmıştır. Türkiye'nin farklı bölgelerindeki yaban domuzlarında *Metastrongylus* türlerinin genetik çeşitliliği üzerine fazla sayıda örneklem üzerinde ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Çalışma ile elde edilen çıktılar domuzlarda akciğer kıl kurdu enfeksiyonuna yol açan türlerin moleküler epidemiyolojisi üzerine mevcut olan sınırlı bilgi birikimine katkı sağlamıştır.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde desteklerinden dolayı Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Aypak S, Aysul N, Bakırcı S, Karagenç T. Aydın ilinde avlanan yaban domuzlarında *Trichinella* sp. varlığının araştırılması. *Animal Health Prod and Hyg* 2013; 2(2): 203-5.
- Barutzki D, Schoierer R, Gothe R. Helminth infections in wild boars in enclosures in southern Germany: species spectrum and infection frequency. *Tierarztl Prax* 1990; 18(5): 529-34.
- Chabaud AG, Gretillat S. *Metastrongylus madagascariensis*, a 4th species of pulmonary strongyle infesting the domestic swine. *Ann Parasitol Hum Comp* 1956; 31(5-6): 572-7.
- Conole JC, Chilton NB, Jarvis T, Gasser RB. Intraspecific and interspecific variation in the second internal transcribed spacer sequence for *Metastrongylus* (Nematoda:Metastrongyloidea) detected by high resolution PCR-linked restriction fragment length polymorphism. *Int J Parasitol* 1999; 29(12): 1935-

40.

- da Silva D, Müller G. Parasites of the respiratory tract of *Sus scrofa scrofa* (wild boar) from commercial breeder in southern Brazil and its relationship with *Ascaris suum*. *Parasitol Res* 2013; 112(3): 1353-6.
- Darabus G, Hora FS, Mederle N, Morariu S, Ilie M, Suici T, Imre M. Prevalence and intensity of digestive and pulmonary parasites in wild boars in Romania. *J Zoo Wildl Med* 2019; 50(1): 270-3.
- de Sousa B, de Carvalho M, Fazendeiro I, Castro RF, Afonso-Roque M. Contribution for the knowledge of wild boar (*Sus scrofa* L.) helminthic fauna in Tapanana Nacional de Mafra, an enclosure hountig area. *Res Rev Parasitol* 2004; 64: 3-7.
- Dodangeh S, Azami D, Daryani A, Gholami S, Sharif M, Mobedi I, Sarvi S, Soleymani E, Rahimi MT, Pirestani M, Gohardehi S, Bastani R. Parasitic helminths in wild boars (*Sus scrofa*) in Mazandaran Province, Northern Iran. *Iran J Parasitol* 2018; 13(3): 416-22.
- Fernandez-de-Mera IG, Gortazar C, Vicente J, Hofle U, Fierro Y. Wild boar helminths: risks in animal translocations. *Vet Parasitol* 2003; 115(4): 335-41.
- Gasso D, Rossi L, Mentaberre G, Casas E, Velarde R, Nosal P, Serrano E, Segales J, Fernandez-Llario P, Feliu C. An identification key for the five most common species of *Metastrongylus*. *Parasitol Res* 2014; 113(9): 3495-500.
- Guindon S, Gascuel O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol* 2003; 52(5): 696-704.
- Humbert JF, Henry C. Studies on the prevalence and the transmission of lung and stomach nematodes of the wild boar (*Sus scrofa*) in France. *J Wildl Dis* 1989; 25(3): 335-41.
- Kesik HK, Kilinc SG, Celik F, Simsek S, Ahmed H. A case-study of the molecular diagnosis of *Echinococcus multilocularis* in wild boar with comments on its public health significance in Turkey. *J Parasitol* 2020; 106(6): 730-4.
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 1980; 16(2): 111-20.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 2016; 33(7): 1870-4.
- Leignel V, Humbert JF, Elard L. Study by ribosomal DNA ITS 2 sequencing and RAPD analysis on the systematics of four *Metastrongylus* species

(Nematoda: Metastrongyloidea). J Parasitol 1997; 83(4): 606-11.

Li K, Luo H, Zhang H, Lan Y, Han Z, Shahzad M, Wang X, Qiu G, Huang S, Jiang W, Li J. First report of *Metastrongylus pudendotectus* by the genetic characterization of mitochondria genome of cox1 in pigs from Tibet, China. Vet Parasitol 2016; 223: 91-5.

Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. J Bioinform. 2009; 25(11): 1451-2.

Mansouri M, Sarkari B, Mowlavi GR. Helminth parasites of wild boars, Iran. J Parasitol 2016; 11(3): 377-82.

Marruchella G, Paoletti B, Speranza R, Di Guardo G. Fatal bronchopneumonia in a *Metastrongylus elongatus* and *Porcine circovirus* type 2 co-infected pig. Res Vet Sci 2012; 93(1): 310-2.

Merdivenci A. Son 30 yıl (1952-1982) içinde Türkiye'de varlığını ilk kez bildirdiğimiz parazitler. Turk Mikrobiyol Cem Derg 1983; 13: 23-37.

Merdivenci A. Türkiye'nin helmintolojik coğrafyası. Unat EK, Yaşarol Ş, Merdivenci A. eds. In: Türkiye'nin Parazitolojik Coğrafyası. İzmir; Ege Üniversitesi Matbaası, 1965; ss: 55-113.

Panayotova-Pencheva M, Dakova V. Studies on the gastrointestinal and lung parasite fauna of wild boars (*Sus scrofa scrofa* L.) from Bulgaria. Ann Parasitol 2018; 64(4): 379-84.

Poglayan G, Marchesi B, Dall'Oglio G, Barlozzari G, Galuppi R, Morandi B. Lung parasites of the genus *Metastrongylus* Molin, 1861 (Nematoda: Metastrongylidae) in wild boar (*Sus scrofa* L., 1758) in Central-Italy: An eco-epidemiological study. Vet Parasitol 2016; 217: 45-52.

Senlik B, Cirak VY, Girisgin O, Akyol CV. Helminth infections of wild boars (*Sus scrofa*) in the Bursa province of Turkey. J Helminthol 2011; 85(4): 404-8.

Spieler N, Schnyder M. Lungworms (*Metastrongylus* spp.) and intestinal parasitic stages of two separated Swiss wild boar populations north and south of the Alps: Similar parasite spectrum with regional idiosyncrasies. Int J Parasitol Parasites Wildl 2021; 14(2021): 202-10 .



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Olgu Sunumu / Case Report
19(1), 55-59, 2022
DOI: 10.32707/ercivet.1085266

Gebe Bir Anadolu Yaban Keçisinde (*Capra aegagrus aegagrus*) *Coenurus cerebralis* Olgusu

Emre TÜFEKÇİ^{1,a}, Yaşar AKAR^{2,b}, Gencay EKİNCİ^{1,c}, Yunus Emre ATAY^{2,d}, Vehbi GÜNEŞ^{1,e},
İhsan KELEŞ^{1,f}

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID Numbers: ^a0000-0002-9611-586X; ^b0000-0002-0205-493X; ^c0000-0002-4551-8749; ^d0000-0002-8616-7068;
^e0000-0002-4047-4409; ^f0000-0001-5751-9450

Sorumlu yazar: Emre TÜFEKÇİ, E-posta: tufekciemre@yahoo.com

Atıf için: Tüfekçi E, Akar Y, Ekinci G, Atay YE, Güneş V, Keleş İ. A case of *Coenurus cerebralis* in a pregnant Anatolian wild goat (*Capra aegagrus aegagrus*). Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(1): 55-59

Öz: Bu olguyu, Kayseri ili, Yahyalı ilçesi Aladağlar Yaban Hayatı Geliştirme sahası Arpalık mevkiinde bir çoban tarafından bitkin halde bulunan bir Anadolu yaban keçisi oluşturmuştur. 7-8 yaşlarında ve dişi yaban keçisi, Doğa Koruma ve Milli Parklar Müdürlüğü yetkilileri aracılığıyla Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Uygulama Hastanesine getirildi. İlk klinik muayenede iştahsızlık ve durgunluk dışında belirgin bir bulguya rastlanmadı. Kalp, solunum, vücut ısısı ve hematolojik değerleri normal sınırlar içinde tespit edildi. Transabdominal ultrasonografi muayenesinde keçinin yaklaşık 4 aylık gebe olduğu, kalp atımı olan tek bir fötüsü taşıdığı belirlenmiştir. Hastanede keçinin 16 gün süresince bakımı, beslenmesi ve destekleyici tedavileri yapıldı. Hospitalizasyon süresi içerisinde; durgunluk ve iştahsızlıkla birlikte, merkezi sinir sistemi bulgularından; kafayı duvara dayama, sürekli ayakta durma, kafanın ventrofleksiyonu, çiğneme yaparken bir süre duraksama, yürürken hafif sendeleme, kısmi her iki gözde körlük, sol tarafa dönme ve sol tarafa doğru başın döndürerek tutulması gibi belirtiler görüldü. Destekleyici tedavilere rağmen, son üç gün yeme içme durdu, sürekli uyku halinde yatma, kafada belirgin düzeyde ödem ve müköz karakterde burun akıntısını takiben ölüm gerçekleşti. Nekropside, sağ ve sol beyin hemisferlerinin tam ortasında, sola biraz daha fazla oranda kaymış, bol miktarda berrak sıvısı olan tek bir kist kesesi içinde çok sayıda beyaz renkli skoleks görülmüştür. Hayati organlarda herhangi bir patolojik bulgu görülmemiş olup, 4.5 aylık erkek ölü bir fötüs (annenin ölümüne bağlı) bulunmuştur. Üreme sezonu dışında gebe kalan, *C. cerebralis*'in kronik formunun klinik özelliklerini gösteren ve yaban hayatı bölgesinde yaşayan bir Anadolu yaban keçisinde Coenurosis vakası ilk defa görülmüştür.

Anahtar kelimeler: *Coenurus cerebralis*, gebelik, yaban keçisi

A Case of *Coenurus cerebralis* in a Pregnant Anatolian Wild Goat (*Capra aegagrus aegagrus*)

Abstract: An Anatolian wild goat found exhausted by a shepherd in Arpalık locality of Aladağlar Wildlife Development area in Yahyalı district of Kayseri province was presented in this case. A 7-8 year-old female wild goat was brought to the Faculty of Veterinary Medicine, Research and Application Hospital of Erciyes University by the officials of the Nature Conservation and National Parks Directorate. In the first clinical examination, there was no apparent finding except loss of appetite and stagnation. Heart, respiratory, body temperature and hematological values were within normal limits. In the transabdominal ultrasonographic examination, it was determined that the goat was about 4 months pregnant and carried a single fetus with a heartbeat. The goat was cared for, fed and supportive treatments for 16 days in the hospital. During the hospitalization period; central nervous system findings, with stagnation and anorexia; symptoms such as keeping the head against the wall, standing continuously, ventroflexion of the head, pausing for a while during chewing, slight staggering while walking, partial blindness in both eyes, turning to the left side and holding the head on the left side were observed. Despite supportive treatment, anorexia occurred during the last three days, death occurred following continuous sleep, marked edema in the head, and a mucous nasal discharge. In the necropsy, multiple white scolices were seen in the middle of the right and left cerebral hemispheres, in a single cyst sac with abundant clear fluid, slightly shifted to the left. No pathological finding was observed in vital organs, and a 4.5-month-old male dead fetus (owing to the death of the mother) was found. Coenurosis was seen for the first time in a wild goat that got pregnant outside the breeding season, showing clinical features of the chronic form of *C. cerebralis* and living in the wildlife area.

Keywords: *Coenurus cerebralis*, pregnancy, wild goat

Giriş

Coenurus cerebralis (*C. Cerebralis*), köpek, tilki, çakal gibi karnivorların ince bağırsağında yaşayan *Tae-*

nia multiceps'in larva formu olup, arakonak olarak kullandığı insan ve çeşitli hayvanlarda hastalığa neden olan zoonoz karakterde bir parazittir. *C. cerebralis* koyun, keçi, siğir, manda, deve, geyik, at ve insanlarda öncelikle beyin olmak üzere merkezi sinir sistemine yerleşirler. Son konağın dışkıyla ile dışarı çıkan yumurtaları ağız yolu ile alan arakonaklarda onkos-

Geliş Tarihi/Submission Date : 20.04.2021
Kabul Tarihi/Accepted Date : 25.08.2021

ferler kan yolu ile merkezi sinir sistemine ulaşmakta ve orada yerleşmektedir (Doğanay ve Vural, 2012). *C. cerebralis*'in inkubasyon süreci uzun olduğundan hastalığa özgü klinik belirtiler parazitin alınmasından yaklaşık 3 ay sonra ortaya çıkmaktadır (Gül ve ark., 2007). *C. cerebralis*'in merkezi sinir sisteminde yapmış olduğu tahribattan dolayı hayvanlarda belirgin olarak kendi etrafında dönme, diş gıcırdatması, inkoordinasyon ve tortikollis gibi sinirsel belirtilerin yanı sıra, beyinde atrofi, kafatası kemiğinde yumuşama ve incelemeler ortaya çıkmaktadır (Gogoi ve Lahon, 1991; Bussell ve ark., 1997; Akkaya ve Vuruşaner, 1998; Karim, 1979; Güçlü ve ark., 2006). *Coenurus* kistleri, beyin ve omurilik dahil olmak üzere sinir sisteminde sıklıkla bulunur. Bununla birlikte özellikle keçilerde, deri altı veya kas içi dokularda ve diğer organlarda görülmektedir. Kistlerin varlığına bağlı sinir lezyonları, doğası gereği oldukça farklı olan ve ölümcül olabilen nörolojik belirtilere yol açar. Kaslardaki kist, kas ağrısına veya ilgili organların işlev bozukluğuna neden olabilmektedir (Sharma ve Chauhan, 2006). Bu tür kas içi ve deri altı kist varlığı, farklı bir ajan olan *Taenia gaigeri*'den kaynaklanmaktadır ve bu farkın ilgili konakçı türüne, yani keçi türüne bağlı olduğu gözlenmiştir (Sharma ve Chauhan, 2006; Soulsby, 1982).

Coenurosis, küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde önemli kayıplara neden olan ve insan sağlığı için ihmal edilemeyecek kadar zoonotik riske sahip önemli bir parazitik hastalıktır (Sabbatani ve ark., 2004; Pau ve ark., 1987). Ayrıca Coenurosis literatürde 100'den fazla insanda vaka olarak tanımlanmış bir zoonozdur (Scala ve Varcasia, 2006). Enfeksiyon fekal-oral yolla larvalarla enfekte olmuş gıda ve/veya su ile gerçekleşmiştir (Said ve ark., 2017; Scala ve ark., 2007). İnsanlardaki ilk *C. cerebralis* vakası 1913 yılında tespit edilmiştir (Sabbatani ve ark., 2004). Türkiye'de ise insanlarda etkenden şüphelenilmesi dışında herhangi bir resmi rapor bulunmamıştır (Gıcık ve ark., 2007).

Olgu

Çalışma materyalini Kayseri ili, Yahyalı ilçesi Aladağlar Yaban Hayatı Geliştirme sahası Arpalık mevkiinde bir çoban tarafından bulunarak, Doğa Koruma ve Milli Parklar Müdürlüğü yetkilileri aracılığıyla Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Uygulama Hastanesine getirilen 7-8 yaşlarında olan dişi bir yaban keçisi oluşturdu (Şekil 1).

Alınan anamnez bilgide ormanlık alanda bitkin halde olduğu ve kolayca yakalandığı, gebe olmasından şüphelenildiği belirtildi. İncelemede hayvanın durgun fakat dış uyaranlara duyarlı olduğu gözlemlendi. Rektal vücut sıcaklığının 39.5 °C, solunum sayısının 40 inspirasyon/dk, nabız sayısının 80 atım/dk normal sınırlar içinde olduğu kaydedildi. Keçinin yapılan transabdominal ultrasonografi muayenesinde 4 aylık gebe olduğu, kalp atımı olan tek bir fötüsü taşıdığı belir-



Şekil 1. Hospitalizasyon esnasında kafasını sabit bir objeye dayama ve durgunluk davranışı gösteren yabanı dağ keçisinin görseli.

lendi. Hastanede keçinin 16 gün süresince bakımı, beslenmesi ve destekleyici tedavileri yapıldı. Hematoloji, biyokimya ve idrar analizi sonuçlarına ait bulgular sırasıyla Tablo 1 ve Tablo 2'de verilmiştir. Hospitalizasyonun ilk günlerinde keçinin iştahsız ve su alımının yetersiz olduğu gözlemlendi. Ayrıca yemin çiğnenmesi sırasında yemi ağızda bekletme, bir süre duraksama, kafayı engellere dayama, sürekli ayakta durma, kafanın ventrofleksiyonu ile yürürken hafif sendeleme gibi klinik bulguların hospitalizasyon süresi içerisinde şiddetini ve süresini artırarak devam ettiği gözlemlendi. İkinci haftanın başından itibaren her iki gözde kısmi körlük, sol tarafa dönme ve sol tarafa doğru başın döndürerek tutulması gibi belirtiler gözlemlendi. Ancak, son üç gün yeme içme durdu, sürekli uyku halinde yatma, başta belirgin düzeyde ödem ve müköz karakterde burun akıntısını takiben hospitalizasyonun 16. gününde ölüm gerçekleşti.

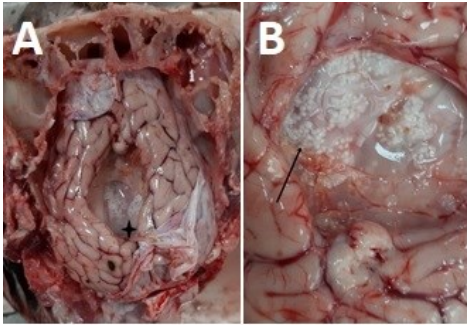
Klinik bulgular *C. cerebralis* etkenini doğrulasa da kesin tanı nekropside beyindeki parazit kistlerinin görülmesi ile ortaya konulmaktadır (Sharma ve Chauhan, 2006). *C. cerebralis* ile ilgili daha önceki birçok çalışmada larvanın daha çok serebral hemisferlere yerleşerek buralarda kist oluşturduğu bildirilmiştir (Uslu ve Güçlü, 2007). Kistlerin sıklıkla parieto-occipital bölgede yoğunlaştıkları birçok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Akkaya ve Vuruşaner, 1998; Edwards ve Herbert, 1982). Uygulanan nekropside, sağ ve sol beyin hemisferlerinin tam ortasında, sola biraz daha fazla oranda kaymış, bol miktarda berrak sıvısı olan tek bir kist kesesi içinde çok sayıda beyaz renkli skoleks görülmüştür (Şekil 2). Ayrıca 4,5 aylık erkek bir fötüs tespit edilmiştir (Şekil 3).

Tablo 1. Keçinin 1. ve 15. günlerdeki hematolojik ve serum biyokimyasal kan değerleri

Parametreler	1. Gün	15. Gün
WBC	9.5 x 10 ⁹ /L	8.5 x 10 ⁹ /L
LYMPH	2.0 x 10 ⁹ /L	3.4 x 10 ⁹ /L
MONO	0.6 x 10 ⁹ /L	0.5 x 10 ⁹ /L
GRAN	6.9 x 10 ⁹ /L	4.6 x 10 ⁹ /L
LYMPH%	%21.3	%40.3
MON%	%5.7	%5.3
GRAN%	%73	%54.4
RBC	15.53 x 10 ¹² /L	14.81 x 10 ¹² /L
HGB	11.9 g/dl	11.5 g/dl
HCT	%33.4	%30.8
MCV	21.5 fL	20.8 fL
MCH	7.7 pg	7.7 pg
MCHC	95.8 g/dl	37.3 g/dl
RDW%	%24.1	%25.1
RDW	13.9 fL	13.5 fL
KLOR	115.6 mmol/L	113 mmol/L
POTASYUM	4.18 mmol/L	-
ÜRE	14 mg/dl	4 mg/dl
GGT	33 U/L	34 U/L
GLİKOZ	162.74 mg/dl	63 mg/dl
KREATİNİN	0.93 mg/dl	1.19 mg/dl
KALSİYUM	9.8 mg/dl	7.6 mg/dl
ALT	47.5 U/L	-
AST	335.2 U/L	927 U/L
ALP	39 U/L	37 U/L
ALBUMİN	3.13 g/dl	2.6 g/dl
TOTAL PROTEİN	6.0 g/dl	1.5 g/dl
FOSFOR	4.1 mg/dl	5.7 mg/dl
MAGNEZYUM	2.8 mg/dl	2.9 mg/dl

Tablo 2. Keçinin 1. gün dipstick idrar analizi sonuçları

Parametreler	Sonuçlar
KAN	Negatif
BİLİRUBİN	Negatif
ÜROBİLİNOJEN	Negatif
KETON	Negatif
PROTEİN	(+) 10 mg/dl
NİTRİT	Negatif
GLİKOZ	Negatif
pH	8.5
LÖKOSİT	Negatif
DANSİTE	1000

**Şekil 2.** Yabani dağ keçininin beyinde tespit edilen *Coenu-rus cerebri* kisti. **A;** Beynin sol hemisferine daha yakın bulunan sıvı dolu kist (yıldız), **B;** Kist içerisinde bulunan skoleksler (ok).**Şekil 3.** Erkek, 4.5 aylık ölü fötüs.

Tartışma ve Sonuç

Taenia multiceps'in neden olduğu Coenurosis, özellikle küçük ruminantlarda meydana getirdiği hastalık ülkemizde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Türkiye'de *C. cerebralis*'in yaygınlığının daha önceki çalışmalarda %1.3-36.8 (Akkaya ve Vuruşaner, 1998; Sharma ve Chauhan, 2006; Uslu ve Güçlü, 2007; Kalkan, 1978), diğer ülkelerde %2.88-9.8 (Abo-Shehada ve ark., 2002; Oryan ve ark., 1994; Varma ve Malviya, 1989) oranında olduğu belirtilmiştir.

Enfekte koyunlarda, Coenurosis kistleri sağ ve sol serebral hemisferlerde (%88-96) ve daha az oranda serebellumda (%4-12) bulunur (Abbas ve Elbeskawy, 2016; Haridy ve ark., 2013; Karakurt ve ark., 2019). Bu çalışmada literatürdeki verilerle uyumlu olarak, *C. cerebralis* kisti sağ ve sol beyin hemisferlerinin tam ortasında, sola biraz daha fazla oranda kaymış olarak tespit edilmiştir. Kistin çapı 5.1 cm ve kist içerisinde beyaz kümeler halinde çok sayıda skoleks daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak tespit edilmiştir (Sharma ve Chauhan, 2006; Sharma ve ark., 1998; Nourani ve ark., 2009). Keçilerde Coenurosis kistlerinin karın boşluğu (Sharma ve Chauhan, 2006; Sharma ve ark., 1998; Nourani ve ark., 2009; Gharagozlu ve ark., 2003), deri altı doku, iskelet kasları, göğüs boşluğu ve akciğer parankimi (Nourani ve ark., 2009; Gharagozlu ve ark., 2003) dahil olmak üzere merkezi sinir sistemi dışındaki yerlerde de gelişebildiği çeşitli akademik çalışmalarla belirlenmiştir. Bu tür kas içi ve deri altı kist varlığı, farklı bir ajan olan *Taenia gaigeri*'den kaynaklanmaktadır ve bu farkın ilgili konakçı türüne, yani keçi türüne bağlı olduğu tespit edilmiştir (Soulsby, 1982; Sharma ve ark., 1998). Bu çalışmada yapılan nekropsi uygulamasında Coenurosis kisti serebral hemisfer dışında diğer akademik çalışmalarda belirtilen doku ve organlarda rastlanmamıştır.

Son konağın dışkısı ile atılan larvaların ara konak tarafından ağız yolu ile alınması sonucu hastalık belirtileri ortaya çıkmaktadır. Parazitin ara konaklara bulaşmasında mera ve çoban köpekleri önemli bir yer tutmaktadır (Sharma ve Chauhan, 2006; Gül ve Keleş, 2012; Herbert ve Edwards, 1984; Yılmaz ve ark., 2014). Keçilerde Coenurosis prevalansının koyunlardan daha az olmasının nedeni otlatma sırasında keçilerin genellikle çalı ve ağaç dallarındaki yaprakları yemelerine bağlı olarak koyunlara kıyasla toprakla daha az temasının bulunması olduğunu düşünülmektedir (Dezfouli ve ark., 2019; Javadi ve ark., 2010). Koyun ve keçi yetiştiriciliğinin yaygın olduğu bölgelerde hastalığın yoğun olarak bulunmasının başlıca sebebi olan çoban köpeklerine düzenli antiparaziter uygulamaların yapılması gerekmektedir. Hastalığın

yayılmasının önüne geçilebilmesi için son konak ve ara konakta koruyucu önlemlerin alınması ve hayvan sahiplerinin Coenurosis ve benzer hastalıklar hakkında bilgilendirilmesi önemlidir.

Sonuç olarak, yaban keçileri evcil hayvanların otlaklarından genellikle uzaklarda ve parazitlerle temasından bu hastalık ile karşılaşma ihtimalleri daha düşüktür. Buna rağmen, sunulan bu çalışma ile yaban hayatın otlaklarının da enfekte köpekler ve yabani karnivorlar tarafından kontamine edilebileceği öngörülmüştür. Bu nedenle, hastalığın yayılmasında önemli yeri olan köpeklerin, hastalık etkenlerine karşı düzenli, sürekli ve yeterli düzeyde ilaçlanmaları, sadece evcil hayvanların korunmaları için değil, aynı zamanda yaban hayatın korunması için de gerekli olduğu bu sunu ile ortaya konmuştur. Bunun dışında, bulaşmada az da olsa etkisi olan yabani karnivora karşı da tıpkı kuduz aşılı gibi antiparaziter mücadelelerinin de yapılması, hastalıktan korunma açısından önem arz ettiği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

- Abbas IE, Elbeskawy M. Molecular and phylogenetic status of *Coenurus cerebralis* infecting sheep from Dakahlia Province, Egypt. J Adv Parasitol 2016; 3 (4): 117-24.
- Abo-Shehada MN, Jebreen E, Arab B, Mukbel R, Torgerson PR. Prevalence of *Taenia multiceps* in sheep in Northern Jordan. Prev Vet Med 2002; 55: 201-7.
- Akkaya H, Vuruşaner C. İstanbul'da kesilen koyunlarda ve danalarda *Coenurus cerebralis*. Türkiye Parazit Derg 1998; 22: 320-4.
- Bussell KM, Kinder AE, Scott PR. Posterior paralysis in a lamb caused by a *Coenurus cerebralis* cyst in the lumbar spinal cord. Vet Rec 1997; 140: 560.
- Dezfouli MRM, Abbasi J, Nouri M, Golshahi H, Sureshkani MH. A report on *Coenuruses cerebralis* infection in a wild goat (*Capra aegagrus*). Vet Res Forum 2019; 10(1): 85-8.
- Doğanay A, Vural G. Coenurosis. Türkiye Klinikleri, Veteriner Bilimleri, Sığır ve Koyunlarda Parazit Hastalıklar Özel Sayısı 2012; 3(2): 83-7.
- Edwards GT, Herbert IV. Observations on the course of *Taenia multiceps* infections in sheep: Clinical signs and postmortem findings. Br Vet J 1982; 138: 489-99.
- Gharagozlu MJ, Mobedi I, Akhavan P. A pathological and parasitological study of *Coenurus Gaigeri* infestation of goats from Iran. Indian J Vet Pathol 2003; 27: 95-7.

- Gıcık Y, Kara M, Arslan MO. Prevalence of *Coenurus cerebralis* in sheep Kars province, Turkey. Bull Vet Inst Pulawy 2007; 51: 379-82.
- Gogoi D, Lahon DK, Bhattacharya M, Lekharu JC. Histopathological studies on coenurosis in goat. Indian J Anim Sci 1991; 61: 283-5.
- Güçlü F, Uslu U, Özdemir Ö. Bir koyunda *Coenurus cerebralis*'in neden olduğu bilateral kemik perforasyonu: Olgu Sunumu. Türkiye Parazitoloj Derg 2006; 30(4): 282-4.
- Gül Y, Keleş İ. Sinir sistemi hastalıkları. In: Geviş Getirenlerin İç Hastalıkları. Gül Y, ed. Üçüncü Baskı. Malatya: Medipress Matbaacılık, 2012; s. 405-7.
- Gül Y, M İssi, Özer S. Clinical and pathological observations of flock of sheep showing epileptoid spasm related to Oestrosis and Coenurosis. FÜ Sağlık Bil Derg 2007; 21: 173-7.
- Haridy M, Sakai H, El-Nahass El-S, El-Morseay A, Anwar S, Yani T. *Coenurus cerebralis* cysts in the Left lateral cerebral ventricle of a ewe. J Vet Med Sci 2013; 75(12): 1643-6.
- Herbert LV, Edwards GT. Some host factors which influence the epidemiology of *Taenia multiceps* in sheep. Ann Trop Med Par 1984; 78: 243-8.
- Javadi A, Hashemzadeh Farhang H, Shahbazi P. Infection rate of brain to *Coenurus cerebralis* in slaughtered sheep and goats in Tabriz abattoir. Sci Res Iran Vet J 2010; 1(26): 59-6.
- Kalkan A. Güney Doğu Anadolu'yu temsilen Diyarbakır koyun ve kuzularında paraziter fona tespiti çalışmaları. Etlik Vet Kont Araşt Enst Derg 1977; 4: 64-78.
- Karakurt E, Nuhoğlu H, Sarı B, Dağ S, Akça A, Beytüt E. Clinical, pathological and parasitological evaluation of *Coenurus cerebralis* infecting domestic and wild ruminants. Dicle Univ Vet Fak Derg 2019; 12(2): 122-7.
- Karim MA. A survey of coenurosis in sheep in Northern Iraq. Trop Anim Health Prod 1979; 11: 157-8.
- Nourani H, Pirali, Kheirabadi K. Cerebral coenurosis in a goat: Pathological findings and literature review. Comp Clin Pathol 2009; 18: 85-7.
- Oryan A, Moghaddar N, Gaur SNS. Metacestodes of sheep with special reference to their epidemiological status, pathogenesis and economic implications in Fars Province Iran. Vet Parasitol 1994; 51: 231-40.
- Pau A, Turtas S, Brambilla M, Leoni A, Rosa M, Viale GL. Computed tomography and magnetic resonance imaging of cerebral coenurosis. Surg Neurol 1987; 27: 548-52.
- Sabbatani S, Zucchelli M, Calbucci F, Roncaroli F, Chiodo F. A case of cerebral coenurosis. Infez Med 2004; 12: 205-10.
- Said A, ElKhatam A, Fukuda Y, Bakr L, Zidan S, El-sify A, Mohamed M A, Tada C, Nakai Y. Prevalence and Identity of *Taenia multiceps* cysts "*Coenurus cerebralis*" in Sheep in Egypt. Acta Tropica 2017; 76: 270-6.
- Scala A, Cancedda GM, Varcasia A, Ligios C, Garippa G, Genchi C. A survey of *Taenia multiceps* coenurosis in Sardinian sheep. Vet Parasitol 2007; 143: 294-8.
- Scala A, Varcasia A. Updates on morphobiology, epidemiology and molecular characterization of coenurosis in sheep. Parassitologia 2006; 48: 61-3.
- Sharma DK, Chauhan PPS. Coenurosis status in Afro-Asian region: A review. Small Rumin Res 2006; 64: 197-202.
- Sharma DK, Singh N, Tiwari HA. Prevalence and pathology of coenurosis in organized goat farms. J Vet Parasitol 1998; 12: 30-2.
- Soulsby E.J.L. Helminths Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. ELBS and Bailliere Tindall, London. 1982; p. 809.
- Uslu U, Guclu F. Prevalence of *Coenurus cerebralis* in sheep in Turkey. Vet Med 2007; 63(6): 678-680.
- Varma TK, Malviya HC. Prevalence of coenurosis in sheep, goat and pigs in Bareilly, Uttar Pradesh. J Vet Parasitol 1989; 3: 69-71.
- Yılmaz R, Özyıldız Z, Yumuşak N. Koyunlarda *Coenurus cerebralis*'in patomorfolojik bulguları. Harran Üniv Vet Fak Derg 2014; 3(2): 73-7.



Uzayda Gıdalar ve Gıdaların Muhafazası

Gonca TÜLÜCE^{1,a}, Harun HIZLISOY^{1,b}

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE
ORCID No: ^a0000-0003-2280-1725; ^b0000-0003-3391-0185

Sorumlu yazar: Gonca TÜLÜCE; E-mail: tulucegonca@gmail.com

Atıf yapmak için: Tülüce G, Hızlısoy H. Uzayda gıdalar ve gıdaların muhafazası. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19 (1): 60-66

Öz: Beslenme, canlılığın sağlanması ve sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için gerekli olan besin maddelerinin yeterli ve dengeli bir şekilde vücuda alınmasıdır. İlk uzay uçuşunun yapıldığı tarihten itibaren uzay yiyeceklerinin gelişimi devam etmektedir. Uzay aracının yaşanabilirliğindeki ilerlemeler, uzay yiyeceklerinin kalitesindeki gelişmelere de izin vermiştir. Uzay araçlarındaki görev süreleri uzadıkça daha iyi beslenme ihtiyacı, daha fazla çeşitlilik, daha kolay tüketilebilen yiyecekler de daha önemli hale gelmiştir. Bu derlemede uzay yiyeceklerinin gelişim süreci, uzayda tüketilen temel yiyecek maddeleri ve bazı ülkelerin uzay ajanlarının astronotlarına sundukları menülerle alakalı bilgilerle beraber gelecekteki uzay yolculukları için kullanılacak fikirler verilmiştir.

Anahtar kelimeler: Beslenme, gıda muhafazası, uzay, yiyecek

Food and Food Preservation in Space

Abstract: Nutrition is the intake of the nutrients that are essential to provide and maintain life in a balanced and sufficient way. The development of space food has continued since the first spaceflight. Advances in spacecraft's viability have also allowed the development in the quality of space food. As the space mission extended, the need for better nutrition, more variety, and more easily consumable food has become more important. In this review, the development process of space food, the fundamental nutrients consumed in space, information about the menus offered by some countries' space agency to their astronauts as well as ideas that can be used in future space travels have been given.

Keywords: Food, food preservation, nutrition, space

Giriş

Besinler, organizmanın yapısının ve organizmadaki fonksiyonların devamlılığının sağlanması amacıyla gereklidir. Çevresel değişiklikler de besinlerin metabolizması ve gereksinimleri açısından önemli etkilere sahiptir (Herr ve ark., 2015). Bu nedenle beslenme, uzay uçuşları gibi değişik çevre şartlarında, günlük ritim, sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, hematoloji, gastrointestinal sistem, iskelet kas fizyolojisi ve immunoloji çalışmaları ile yakından ilişkilidir (Enrico, 2016).

Uzay ortamı; mikro yerçekimi, ağırlıksız olma, hava içeriğindeki ve basıncındaki değişimler, radyasyon ve buna bağlı olarak gelişen oksidatif hasar gibi etkilerden dolayı kendine has zorluklara sahiptir. Yeterli ve dengeli beslenme, bu tip ortamlarda astronotların ortama adapte olmalarını sağlayıp, görevlerini layıkıyla yerine getirebilmeleri açısından elzemdir. Öğün zamanları, astronotlar arasında fizyolojik etkileşim sağlamak ve besin maddelerinin potansiyel etkilerini artırarak uzay yolculuklarının insan bedeni üzerindeki negatif etkilerini azaltmaktadır. Ayrıca astronotlar uzay yolculuklarının ilk günlerinde, uzay aracındaki

oryantasyon uyumsuzlukları, görsel farklılıklar ve değişen ortam şartlarından ötürü mide bulantısı, kusma ve iştahta azalma yaşayabilirler. Bu durum sonraki 2-3 gün içinde düzelir. Ancak astronotlara sunulan gıda maddelerinin yetersiz olduğu durumlarda, bu etki devam edecektir ve uzay görevi sekteye uğrayacaktır (Kunz ve ark., 2017). Bu derlemede geçmişten günümüze kadar gerçekleşen uzay uçuşlarında teknolojik gelişmeler ile birlikte kullanılan yiyeceklerin gelişim süreçleri hakkında bilgi verilerek literatüre katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

Uzayda Kullanılan Yiyecek Tipleri

Uzaydaki yiyecek çeşitlerini termostabilize edilmiş yiyecekler, rehidre olabilen yiyecekler, orta nemli yiyecekler, doğal formdaki yiyecekler, ışına maruz kalmış yiyecekler, dondurulmuş yiyecekler, taze yiyecekler ve soğutulmuş yiyecekler olmak üzere sekiz kategoride incelenmek mümkündür (Casaburri ve Gardner, 1999).

Termostabilize edilmiş yiyecekler: Üretim aşamalarında ısı işlem gören ve bu nedenle ortam sıcaklıklarında depolanabilen yiyeceklerdir. Konserve ürünler ve plastik kaplarda paketlenen tatlılardan oluşan bu yiyecekler çekme aparatlarıyla kolayca açılabilir fakat depolanırken fazla yer kaplamaları dezavantajdır.

tajlı sayılmalarına neden olmaktadır.

Rehidre olabilen yiyecekler: Suyun rehidre olabilen gıdalardan çıkarılması olarak tanımlanan dehidrasyon süreci, dondurarak kurutma yöntemi olarak da bilinmektedir. Tüketimleri sırasında su ilavesiyle eski formlarına dönen rehidre yiyecekler, konserve ürünlerle göre yaklaşık dört kat daha az yer kaplamaktadır.

Orta nemli yiyecekler: Gıdalardaki yumuşak dokuyu korumak için yeterli miktarda su kalacak şekilde üründen bir miktar su çekilmesidir. Kurutulmuş şeftali, armut, kayısı, kurutulmuş et örnek olarak verilebilen orta nemli yiyecekler herhangi bir hazırlık yapılmaksızın tüketilebilmektedir.

Doğal formdaki yiyecekler: Kabuklu yemişler, kuru meyve ve tahıl karışımları, kurabiye ve bisküviler gibi esnek torbalar içinde ambalajlanan bu yiyecekler tüketime hazır gıdalar içerisinde yer almaktadır ve uzay ortamında doğal formdaki yiyeceklere örnektir.

İşına maruz kalmış yiyecekler: Pişirildikten sonra esnek folyo torbalar içerisinde paketlenen ve iyonize edici radyasyon ile sterilize edilen bu yiyecekler ortam sıcaklığında saklanabilmektedir. Biftek ve tütsülenmiş hindi gibi ürünler işına maruz kalmış yiyecekler örnek olarak verilebilmektedir.

Dondurulmuş yiyecekler: Sebze tart, güveç, tavuklu börek gibi yiyecekler büyük buz kristallerinin oluşmasını önlemek amacıyla hızlı dondurulmaktadır. Dondurma yöntemi ile yiyeceklerin kendine has dokusu ve tazelikleri korunmaktadır.

Taze yiyecekler: Elma, muz gibi taze formdaki yiyecekler herhangi bir işlem görmemekte ve yapay olarak korunmamaktadır.

Soğutulmuş yiyecekler: Bu yiyeceklerin bozulmasını önlemek için uzay aracında buzdolabı veya dondurucunun bulunması gerekmektedir. Bu yiyeceklere krem peynir ve ekşi krema örnek olarak verilebilmektedir.

İnsanoğlunun Uzay Serüveni

Rusya tarafından Sputnik isimli ilk yapay uydunun 1957 yılında Dünya yörüngesine yerleştirilmesiyle birlikte, insanoğlu uzayda keşifler yapmaya başlamıştır (Bal, 2014). Uzay uçuşu teknolojilerinde 1960'ların başından beri önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Uzay araştırmalarındaki bu teknolojik gelişmeler, uzayda kalınan sürenin dakikalardan yıllara kadar uzamasına olanak sağlamıştır (Özçivici, 2013).

Yuri Gagarin'in 1961 yılındaki 108 dakikalık uzay uçuşundan beri uzayda yemek yenilmektedir. Bu yıllardan itibaren Rusya ve Amerika, hızlı hazırlanıp kolay tüketilebilen ve daha az atık kullanılarak ambalajlanan güvenli gıdaları geliştirmeye çalışmışlardır. Soğutma imkânının kısıtlı olduğu uzay aracındaki çoğu gıda, ortam sıcaklığında uzun süre muhafaza edilmek için üretilmektedir. Bu gıdalar çoğunlukla rehidre olabilen veya termostabilize olarak hazırlanan ürünlerdir. Meyveler gibi taze formdaki yiyecekler ise bozulma riskine karşı çok kısa süreli saklanmakta ve

Tablo 1. Uzay programlarının kronolojik olarak özeti (Lane, 2002)

Yıllar	Uçuş programı	Program başarısı
1961-1963	Vostok	Uzaya çıkan ilk insan (Gagarin), 12 Nisan 1961, 108 dk.
1961-1963	Mercury	Kısmen Dünya yörüngeli uçuş yapan ilk Amerikalı astronot (Shepard), 5 Mayıs 1961, 15 dk 28sn
		Dünya yörüngesindeki ilk Amerikalı astronot (Glenn), 20 Şubat 1962, 4 sa 55 dk 23 sn
1964-1965	Voskhod	Uzayda yaşama dair ilk araştırmalar
1965-1966	Gemini	Uzun süreli ilk uzay uçuşu
		Uzay uçuşu boyunca uzay yaşamına dair araştırmalar devam etmiştir
1968-1972	Apollo	Ay'ın yüzeyinde yapılan ilk çalışmalar Ay yüzeyine ayak basan ilk insan (Armstrong)
1967-1985	Soyuz ve Salyut	Uzay yaşamına dair çalışmalar Rus uzay istasyonu
1973	Skylab	Uzayda kurulan ilk laboratuvar
1975	Apollo-Soyuz Test Projesi	Uzayda yapılan ilk metabolik denge çalışmaları Uluslararası ilk ortak uzay test projesi
1981-2011	Space Shuttle	Uydu ve mürettebat taşınması Uzay yaşamına dair çalışmalar
1986-2000	Mir	Rus uzay istasyonu Uzay yaşamına dair çalışmalar
1994-1998	Shuttle/Mir	Uluslararası ortak uzay programı (Amerika-Rusya)
1999-halen	International Space Station	Bünyesinde 16 ülke mürettebatını barındıran uluslararası uzay istasyonu

diyet listelerinde öncelikli yiyecek grubu olarak yer almaktadır (Deveci ve Deveci, 2018).

Uzay yiyecekleri, kolay sindirilebilir nitelikteki besin maddelerinden hazırlandıkları için mikrobiyal üremeye oldukça elverişlidir. Astronotları bu riskten korumak amacıyla NASA (National Aeronautics and Space Administration: ABD Ulusal Havacılık ve Uzay İdaresi) tarafından HACCP (Hazard Analyses Critical Control Points) kavramı Apollo uzay uçuş çalışmalarında geliştirilmiştir. Amerikan Hava Kuvvetleri Uzay Laboratuvarı ve NASA, Pillsbury Gıda Firması Proje Grubu'yla, güvenli gıda üretimini amaçlayan bir projede birlikte çalışmış ve HACCP sisteminin temelleri atılmıştır. Bu sistemde üretim süreçlerinde sürekli izleme ve denetim gerekmektedir. Sonraki yıllarda Pillsbury Şirketi, HACCP sistemini daha da geliştirmiş ve 1971 yılında bir Gıda Kongresinde duyurmuştur (Karaali, 2003; Herr ve ark., 2015).

Aşağıda geçmişten günümüze bazı uzay uçuş programları ve bu uçuşlardaki gıdaların gelişim serüveni verilmiştir.

Mercury (1961-1963)

Amerika Birleşik Devletleri'nin uzaya insan gönderdiği ilk uzay projesidir (Smith ve ark., 2012). Projedeki uzay uçuşlarının süresi kısa olduğu için astronotlar uçuş öncesinde ihtiyaçları olan gıda maddelerini tüketmişlerdir. Astronotlar uzay ortamında katı gıda maddeleri yutma, çiğneme ve içecekleri içme gibi testler yaparak uzay yiyeceklerinin gelişmesine katkıda bulunmuşlardır. Bu astronotlar tek ısıyıkta yenilebilen, dondurularak kurutulmuş ve alüminyum tüplerin içindeki yarı sıvı yiyeceklerin nasıl daha kolay tüketilebileceğine dair yöntemleri keşfetmişlerdir (Casaburri ve Gardner, 1999). Ayrıca astronotlar bu yiyeceklerin tadını lezzetsiz bulmuşlar ve dondurularak kurutulmuş gıdaları sulandırmak isterken bazı problemler yaşadıklarını belirtmişlerdir. Bundan dolayı, katı gıdaların boyutları basınçla sıkıştırılıp küçültülmüş ve yenilebilir bir jelatin ile kaplanarak tek lokmalık hale getirilmiştir. Böylece, yiyecek kırıntılarının yerçekimsiz ortamda hareket ederek ekipmanlara veya mürettebatın solunum yollarına zarar verme ihtimali en aza indirilmektedir. Vakumlu paketlerde bireysel porsiyon halinde hazırlanan bu yiyecekler, bozulmaya karşı maksimum koruma ve depolama açısından kolaylık sağlamıştır (Casaburri ve Gardner, 1999; NASA, 2021).

Gemini (1965-1966)

Gemini programı, Ay'a yaklaşmak için NASA tarafından oluşturulan uzay serüvenindeki ilk iki kişilik görevdir. Ed White tarafından ilk uzay yürüyüşü bu program ile gerçekleştirilmiştir (Smith ve ark., 2012). Böylelikle araç dışı ilk etkinlik Amerikalılar tarafından başarıyla tamamlanmıştır. Araç dışı etkinlikle uzay kıyafetlerinde önemli yeniliklerin temeli atılmıştır. Ay-

rica daha önceki uçuşlara göre uzayda kalış süresinin artmasıyla Gemini programı, uzayda beslenmenin önemini vurgulandığı ilk program olmuştur (Lane ve Feedback, 2002). Gemini programında yiyecek ve içeceklerdeki çeşitliliğin artması ve yeni paketleme yöntemlerinin geliştirilmesiyle önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Genel olarak dondurularak kurutma tekniği ile hazırlanan yiyecekler pişirildikten veya işleme tabi tutulduktan sonra hızla dondurulmakta, daha sonra kurutma tepsisine yerleştirilmekte ve ardından hava basıncının azaltıldığı bir vakum haznesine konulmaktadır. Dondurularak kurutma yönteminde suyu alınan hafif yiyecekler, küp şeklinde kesilmekte ya da dilimlenmiş formda paketlenmektedir. Tatları doğal formlarına yakın olan bu yiyecekler ve içecekler, ortam sıcaklığında depolanabilirken raf ömürleri de oldukça uzamaktadır (Casaburri ve Gardner, 1999).

Apollo (1968-1972)

Mercury ve Gemini uçuşları menülerin hazırlanması, gıdaların paketlenmesi ve bu gıdaların tüketimiyle sonraki uzay uçuşlarındaki menülerin geliştirilmesine zemin hazırlamıştır. Bu programdaki paketleme sistemi, Gemini programında kullanılan paketleme sistemine benzemekle beraber yiyecek çeşitliliği oldukça fazladır (Perchonok ve Bourland, 2002). Ayrıca bu uçuştaki astronotların uzay ortamında sıcak suya sahip ilk kişiler oldukları ifade edilmektedir (Smith ve ark., 2012). Rehidre olabilen yiyecekler plastik kaplara veya paketlere konulmaktadır. Su püskürtme tabancasıyla yemeden önce pakete su eklenmekte ve ardından paketteki plastik fermuar açılarak veya paket makasla kesilerek içinde bulunan yiyecek, kaşık yardımı ile tüketilmektedir. Başka bir paketleme yöntemi olarak ıslak paket ya da termostabilize esnek paketler karşımıza çıkmaktadır. Termostabilize paketler, esnek formdaki plastik veya alüminyum folyodan oluşan bir paket ya da konserve kutusu olabilmektedir. Ancak termostabilize ürünlerin rehidre olanlara nazaran yaklaşık dört kat daha fazla yer kapladığı ifade edilmektedir (Casaburri ve Gardner, 1999).

Skylab (1973-1974)

Skylab birincil hedefi yaşam bilimleri olan ilk uzay istasyonudur. Yerçekiminin olmadığı uzay ortamında kardiyovasküler sistem, egzersiz fizyolojisi, kas-iskelet sistemi, hematoloji gibi konularda insan bedninde meydana gelen fizyolojik değişiklikleri anlamak amacıyla tasarlanmıştır (Lane ve Feedback, 2002). Skylab'ta uzun süreli uzay görevlerinde insan fizyolojisi hakkında kayda değer veriler toplanmıştır (Lane ve Feedback, 2002; Kerwin ve Seddon, 2002; Perchonok ve Bourland, 2002). Ayrıca NASA, uzay görevleri esnasında beslenme ihtiyaçlarının anlaşılmasının temelinin oluşturulan en kapsamlı uzayda beslenme veri setini elde etmiştir (Bourland ve ark., 1999). Skylab uzay istasyonunda bulunan dondurucu, buzdolabı, ısıtma tepsileri ve masa sayesinde buradaki yemek yeme deneyiminin diğer uzay uçuşlarından ayrıldığı

ve hatta ev ortamına benzediği ifade edilmektedir (Bourland ve ark., 1999; Smith ve ark., 2012; Lane ve ark., 2013). Skylab'ta mevcut yiyecek kapasitesi yaklaşık 112 gün boyunca üç astronota yetecek miktardadır. Menüler astronotların yaşı, vücut ağırlıkları ve astronotların yapacakları etkinliklere bağlı olarak her bir astronotun günlük beslenme ihtiyacını karşılamaya yönelik tasarlanmıştır. Skylab'ta rehidre olabilen içecekler için akordeon gibi açılıp katlanan özel kaplar kullanılmıştır. Diğer yiyecekler ise farklı boyutlardaki teneke kutular veya rehidre olabilen kaplar kullanılarak paketlenmiştir. Mürettebat yemek hazırlamak istediği zaman, yiyeceklerini ısıttıkları ve bu amaçla kullanılan ilk alet olduğu ifade edilen ısıtma tepsilerinden yararlanmaktadır (Casaburri ve Gardner, 1999).

Apollo-Soyuz Test Projesi (1975)

Amerika ve Rusya tarafından gerçekleştirilen ilk ortak uzay test projesidir (Bourland ve ark., 1999; Smith ve ark., 2009; Smith ve ark., 2012). Rus kozmonotlar alüminyum tüplerde ve metal kutularda paketlenmiş yiyecek ve içecekleri tercih ederken; Amerikalı astronotlar Apollo ve Skylab'taki ürünlere benzer gıdaları tüketmeyi tercih etmişlerdir. Bu projede mürettebat için özel hazırlanmış diyet menüleri ve yiyecekleri hazırlamak için minik ısıtma üniteleri mevcuttur (Casaburri ve Gardner, 1999). Ayrıca Amerikalı astronotlar ve Rus kozmonotlar test projesinde yemeklerini paylaşmış ve birlikte çeşitli deneyler gerçekleştirmişlerdir. Bu nedenle Apollo-Soyuz test projesi, bu iki ulusun uzayda yeniden birlikte çalışmalarına zemin hazırladığı için ayrı bir öneme sahiptir (Smith ve ark., 2012).

Space Shuttle (Uzay Mekiği) (1981-2011)

Space Shuttle programında, dünyadakine benzer yiyecek-içecek paketleme sistemi kullanılmış ve çeşitlilik artırılmıştır. Planlanan düzenli uçuşlar ve mürettebata sunulan imkanlar, programın yeniliklerinde önemli rol oynamıştır. Bu sayede, Space Shuttle astronotları kendilerine sunulan menülerden istedikleri yiyecekleri seçebilmekte ve kendi diyet listelerini hazırlayabilmektedirler. Kendi zevklerine göre hazırladıkları bu diyet listeleri uzman diyetisyenler tarafından kontrol edilmekte ve böylece olası aksaklıklar önlenmektedir (Casaburri ve Gardner, 1999; Lane ve ark., 2013). Space Shuttle programında, dondurucu ve buzdolabını destekleyecek güç alt yapısı bulunmamaktadır. Bu durum gıda seçiminde de uzun raf ömrüne sahip rehidre ve konserve ürünlere yönelmeye neden olmuştur (Smith ve ark., 2009). Mürettebat mekiğin orta kısmında su dağıtım cihazı ve fırının bulunduğu mutfak benzeri bir ortamda, yaklaşık beş dakikada tüm yemek hazırlığını tamamlayabilmektedir. Fırın yiyecekleri ısıtıp uygun servis sıcaklığında muhafaza ederken, su dağıtım cihazı da rehidre gıdaların yeniden yapılandırılması amacıyla kullanılmaktadır (Casaburri ve Gardner, 1999; Bourland ve ark.,

1999; Perchonok ve Bourland, 2002; Smith ve ark., 2012).

Shuttle-Mir Programı (1994-1998)

Bu program Rus Uzay İstasyonu Mir'e gerçekleştirilen ve sekiz yıl boyunca devam eden 11 uçuştan oluşmaktadır (Smith ve ark., 2012). Shuttle-Mir programı, günümüzdeki International Space Station menüsünün temelini oluşturduğu için de ayrı bir öneme sahiptir. Çünkü Amerika ve Rus Uzay İstasyonu arasında imzalanan bir anlaşmaya göre diyet listeleri eşit miktarlarda ulus yemeklerinden hazırlanmaktadır. Shuttle-Mir programı, diğer uzay uçuşlarına göre oldukça uzun soluklu olduğu için yiyecek seçiminde de uzun ömürlü yiyeceklerin önemi vurgulanmıştır. Isıl işlem görmüş yiyeceklerin rehidre ürünlere göre çok daha uzun ömürlü oldukları keşfedilmiştir (Smith ve ark., 2009). Aynı yiyecek ve içecek çeşitlerine diyet listelerinde çok sık yer verilmesi menü yorgunluğu olarak adlandırılır (Rızaoğlu ve Hançer, 2013). Bu program kapsamında da uzay ortamında uzun süreli kalındığı için yiyecek ve içecek menülerinin sık sık değiştirilmesi ve yeni hazırlama tekniklerinin kullanımıyla menü yorgunluğu giderilebilmektedir (Deveci ve Deveci, 2018).

International Space Station (Uluslararası Uzay İstasyonu) (1999-halen)

International Space Station başlangıçta bünyesinde 16 ülkeyi barındıran, NASA ve diğer ülkelerin uzay istasyonlarının ortak çalışmaları sonucu yapılmış 2011 yılında tamamlanmış uluslararası uzay istasyonudur (Smith ve ark., 2012). Yiyecek ve içecekler Space Shuttle'daki gibi tek tek paketlenmiş dondurularak kurutulmuş, ısıl işlem görmüş, ışına maruz kalmış, doğal formu ve orta nemli yiyeceklerden oluşmaktadır. Uluslararası Uzay İstasyonu'nun elektrik gücü, yakıt hücrelerinden ziyade, güneş panellerince sağlandığı için menülerde rehidre olan gıdalar yerine termostabilize gıdalara daha çok yer verilmiştir (Casaburri ve Gardner, 1999; Perchonok ve Bourland, 2002).

Uluslararası Uzay İstasyonu mürettebatı çeşitli ülkelerden gelen astronotlardan oluşmakta ve bu durum yiyecek-içecek çeşitliliğini de uluslararası düzeyde artırmaktadır. Yiyecek-içeceklerde Amerika Birleşik Devletleri, Rusya, Kanada, Japonya gibi ülkelerin mutfaklarından örneklere yer verilmektedir (Smith ve ark., 2012). Mürettebattaki Japon astronotlar, Japon Uzay Ajansı'nın sağladığı tavuk ve soya sosu çeşnili erişte, Japon usulü yakisoba, körili pirinç, yuzu biberi çeşnili izgara tavuk, kurutulmuş yosun, soya soslu konserve ton balığı gibi gıda çeşitlerine ulaşabilmektedir (JAXA, 2021). Kanadalı astronotların menülerinde ise akçaağaç şuruplu kurabiye, ördek riletleri, şekerlenmiş ya da fümelenmiş somon gibi yiyecekler yer almaktadır (Canadian Space Agency, 2021).

Astronot menüleri, günde üç öğün yemek ve bir atıştırmalıktan oluşmaktadır. Bu menüler astronotların uzayda kaldıkları süre boyunca yeterli ve dengeli beslenmelerini sağlamak için tasarlanmıştır. Uzman diyetisyenler, astronotun durumuna bağlı olarak tüm menülerin günde 1900 ila 3200 kalori içermesini sağlamaya çalışmaktadır. Günlük alınması gereken kalori miktarı ağırlık, cinsiyet ve astronotun özel ihtiyaçlarına göre değişmektedir (Canadian Space Agency, 2021).

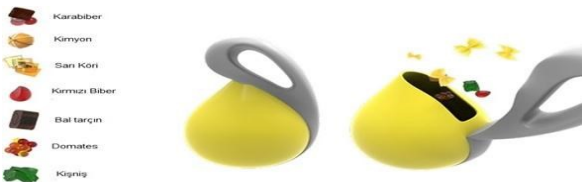
Uzay Tasarım Fikirleri

Son zamanlarda, ticari uzay uçuşlarına dünya çapında artan bir ilgi mevcuttur ve artan bu ilgi konuya yönelik çalışmaların sayısını da artırmıştır. SpaceX, Blue Origin ve Virgin Galactic gibi girişimler, uzay turizmi üzerine çalışmalar yürütmektedir ve astronot olmayan insanları uzaya göndermeyi amaçlamaktadır. NASA, insanları 2030'larda Mars'a ve Mars'ın daha ilerisine göndermeyi hedeflemektedir (NASA, 2021).

Ay veya Mars'ta yaşam koşullarının sağlanabilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Teknolojinin ilerlemesi ile bu çalışmalar da hız kazanacaktır. Teknoloji, dünya dışı ortamlarda yiyeceklerin üretimi, dağıtımı ve hazırlama biçimlerine yönelik nasıl çalışmalar yapılacağına dair çözümler üretmektedir (Obrist ve ark., 2018). Bu çözümlere ilişkin tasarım fikirleri aşağıda ifade edilmiştir.

Baharat Bombası Karışımı (Spice Bomb Mixing)

Baharat bombası karışımı fikri, uzay deneyimini iyileştirmek ve keyifli hale getirmek için insanların yemek yemeden önce uygun bir ruh haline getirildiği "duygusal" bir kavramdan ilham almaktadır (Spence ve ark., 2014). Yapılan çalışmalarda, astronotların burunlarındaki tıkanıklık nedeniyle uzayda lezzet duyularının azaldığı yönünde bulgular mevcuttur (Olabi ve ark., 2002). Bu durum, yemek yeme deneyiminde dünyadakine nazaran bazı değişiklikler olduğunu ortaya koymakta ve bu da astronotların menülerine çeşitli lezzet artırıcı çeşniler ve baharatlı sosları ilave etmelerine neden olmaktadır (Kerwin ve Seddon, 2002). Baharat Bombası Karışımı kavramı bu zorluğu ele alır ve uzayda yemek yemenin duygusal yönlerini geliştirmek için astronotlara bir fırsat sunar



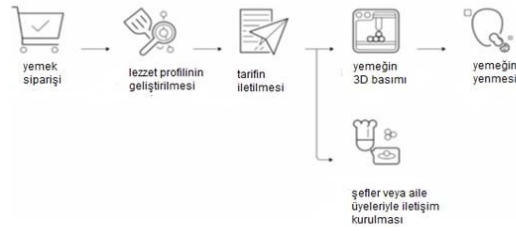
Şekil 1. Baharat bombası karıştırma cihazı (Obrist ve ark., 2019).

(Obrist ve ark., 2019).

Bu tasarım fikri Şekil 1'deki gibi baharat bombasının karıştırma bölmesinin çalkalanarak mikro yerçekimi ortamında yiyeceklerin karıştırılmasını ve tatlandırılmasını sağlamaktadır. Baharat bombası lezzet algısını artırarak yiyeceklerin organoleptik yönünü zenginleştirirken, yemek hazırlamayı eğlenceli hale getirerek duygusal yönden olumlu etkilere neden olur (Obrist ve ark., 2019).

Üç Boyutlu (3D) Yazıcılı Lezzet Seyahati

Bu tasarım fikrinde, uzayda bulunan kişi; aile, arkadaş veya şef gibi insanlardan tarif isteyerek, dünyada yediği yiyeceklerin tat profilini tasarlayabilir ya da sipariş edebilir. Tarifler, fiziksel bir uçuşla teslim edilmek yerine, bunu tasarlayacak olan yazıcıya direkt olarak gönderilmektedir. Tarifi alan yazıcı da arzu edilen tatları ve besin maddelerinin içeriklerini yeniden yapılandırabilmektedir. Şekil 2'de, Dünya'daki ve uzaydaki insanları birbirine bağlayan 3D yazıcılı lezzet seyahatinin kavramsal tasarımını gösterilmektedir (Obrist ve ark., 2019).

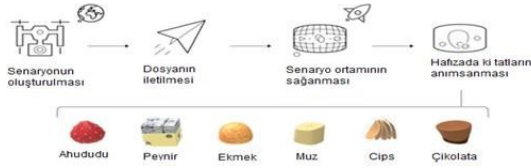


Şekil 2. 3D yazıcılı lezzet seyahatinin iş akış şeması (Obrist ve ark., 2019).

Bu tasarım konsepti fonksiyonel olarak birden fazla besin maddesinin ve lezzetinin, hibrit bir yiyecek basım mekanizması ile 3 boyutlu olarak meydana getirilmesini mümkün kılmaktadır. Bu konsept uzaydaki lezzetleri farklı algılamaktan kaynaklanan duygusal durumları da karşılayabilmektedir. Üç boyutlu yazıcı sayesinde Dünya ile iletişimin mümkün olmasıyla birlikte (Ay'a 1.3 sn, Mars'a 3-21 dk gecikme) yemek hazırlamak sosyal ve kişisel olarak tatmin edici bir deneyim haline gelebilmektedir (Obrist ve ark., 2019).

Dünya Hafıza Isırıkları (Earth Memory Bites)

Dünya Hafıza Isırıkları kavramı; gıda ile ilgili farklı bölgeleri, kültürleri veya belirli deneyimleri temsil eden ve farklı tatları içeren küçük ısırıklar tasarımıdır (Ahn ve ark., 2011). Aynı zamanda tanıdık tatlar yoluyla uzaydaki insanların refahını artırmak için önceden sisteme tanımlanmış tat seçeneklerini de içermektedir (bkz. Şekil 3' deki örnekler). Dünya hafıza ısırıklarının her biri sisteme tanımlanmıştır ve yemeği farklı bir şekilde hissettirmeye yarayan belirli bir ortama yerleştirilmiştir (Salamon ve ark., 2018).



Şekil 3. Simüle edilmiş bir yemek ortamından sunuma kadar yemeklerin ve özel tatların hazırlanması (Obrist ve ark., 2019).

Bu tasarım konseptinde, belirli bir lezzet profili ve çoklu duyuşal deneyim kombinasyonu birlikte yer almaktadır ve arzu edilen sipariş için iki seçenek mevcuttur. Birincisi, istenen lezzeti ve yemek ortamını birlikte sipariş etmek; ikincisi, lezzeti sipariş edip, önerilen bir yemek ortamı ile siparişi almaktır. İkinci seçenek, sanal gerçeklikte mükemmel bir yemek ortamı tasarlayan otomatik algoritma aracılığıyla oluşturulabilir. Farklı tatlar, 3 boyutlu baskı tarifi olarak hazırlanıp çok duyulu ortamla birlikte kişiye gönderilmektedir. Basılan tatların her biri gerçek gıda maddesi biçiminde ve dokusunda olup tek lokma şeklindedir (örneğin bir çilek lokması, bir muz lokması; bkz. Şekil 3). Dünya'daki farklı ortamlarla tanıdık yer ve mekanların müzikleri, görsel projeksiyonları, ortam ışıkları, sıcaklık ve nem ayarlamaları ile duyuşal yönden güçlü yemek senaryoları oluşturulabilmektedir. Oluşturulan bu güçlü yemek senaryoları, uzay gemisindeki insanların sevdiği tatları birbirleri ile paylaşıp sosyalleşmelerine imkân tanırken; yaşadıkları yerlere duyulan özlem duygusu ile başa çıkmalarına da yardımcı olmaktadır (Obrist ve ark., 2019).

Sonuç

Uzay uçuşlarına gösterilen ilginin son zamanlarda artması, küresel anlamda yeni arayışlara neden olmuştur. NASA'nın gelecek hedeflerinden biri de 2030'lu yıllarda insanları Mars'a göndermektir. İnsanın ilk uzay çalışmalarına başladığı 1961 yılından günümüze kadar geçen 60 yıllık süreçte birçok ilerleme kaydedilmiştir. Hızla gelişen teknolojinin de bu yoldaki ilerlemelere katkısı büyüktür. Mikro yerçekiminin etkileri; uzay gıda paketlenmesinin, gıda seçiminin ve ilgili gıda sistemi gereksinimlerinin gelişimi üzerinde muazzam bir etkiye sahip olmuştur. Yapılan araştırmalar; uzay ortamında hızlı tüketilebilen, atık oluşumunu en aza indirmeye çalışan ambalajlarda güvenli ve besleyici gıda üretimi üzerinde yoğunlaşmaktadır. Günümüzde menüler astronotların görüşleri alınarak hazırlanmaktadır ve bu menülerin besin değerleri uzmanlar tarafından kontrol edilmektedir. Gelecekte de uzayda kalınan sürenin artacağı öngörülmektedir. Bu durum uzun raf ömrüne sahip yiyeceklerin daha önemli hale gelmesine yol açmaktadır. Fakat konserve gibi uzun raf ömürlü yiyecekler kapladıkları depo-

lama alanı ve ağırlıkları nedeniyle olumsuz etkiye sahiptir. Bu olumsuz etkinin üstesinden gelmek için uzay istasyonunda yetiştirilmeye başlanan sebzeler olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda dünya çapında uzay alanına yönelik artan ilgi ve merakla birlikte uzay yaşamının gizemi çözülmeye devam etmektedir. Her geçen gün daha fazla fikir sahibi olduğumuz uzay yaşamı araştırmaları, teknolojik gelişmelerin de katkısıyla elde edilen bulgular sayesinde geleceğe ışık tutacaktır.

Kaynaklar

- Ahn YY, Ahnert SE, Bagrow JP, Barabási, AL. Flavor network and the principles of food pairing. *Nat Sci Reports* 2011; 1(196): 1-7.
- Bal A. Hava-uzay araçlarının (aerospace craft) hukuki rejimi. *DEÜHFD* 2014; 15: 1465-528.
- Bourland C, Kloeris V, Rice BL, Vodovotz Y. Food system for space and planetary flights. Lane HW, Schoeller DA eds. In: *Nutrition in Space flight and Weightlessness Models*. United States of America: CRC Press, 1999; pp. 19-32.
- Canadian Space Agency. Eating in Space. <https://www.asc-csa.gc.ca/eng/astronauts/living-in-space/eating-in-space.asp>; Erişim Tarihi: 02.01.2021.
- Jane AG. *Space Food and Nutrition: An Educator's Guide with Activities in Science and Mathematics*. First Edition. Washington DC: NASA. 1999; pp. 2-8
- Deveci B, Deveci B. Uzayda beslenme ve gelişim süreci üzerine teorik bir değerlendirme. *JOTAGS* 2018; 3: 26-38.
- Enrico C. Space nutrition: the key role of nutrition in human space flight. <https://arxiv.org/abs/1610.00703>; Erişim Tarihi: 03.01.2021.
- Herr M, Titze J, Smith SM, Baecker N. *Nutrition, Physiology and Metabolism in Space Flight and Analog Studies*. London: Springer International Publishing, 2015; pp. 1-3.
- JAXA. Certified Space Foods. <https://iss.jaxa.jp/en/spacefood/about/japanese/detail/>; Erişim Tarihi: 02.01.2021.
- Karaali A. *Gıda İşletmelerinde HACCP Uygulamaları ve Denetimi*. Birinci Baskı. Ankara: Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, 2003; pp. 1-3.
- Kerwin J, Seddon R. Eating in space-from an astronaut's perspective. *Nutr* 2002; 18: 921-5.
- Kunz H, Quirriarte H, Simpson RJ, Snyder RP, McMonigal K, Sams C, Crucian B. Alterations in hematologic indices during long-duration space

- flight. BMC Hematology 2017; 17(19): 1-8.
- Lane HW, Bourland C, Barrett A, Herr M, Smith SM. The role of nutritional research in the success of human space flight. ASN 2013; 4: 521-3.
- Lane HW, Feedback DL. History of nutrition in spaceflight: Overview. Nutr 2002; 18(10): 797-804.
- NASA. Moon to Mars Overview. <https://www.nasa.gov/content/journey-to-mars-overview>; Erişim Tarihi: 02.01.2021.
- Obrist M, Marti P, Velasco C, Tu Y, Narumi T, Möller NLH. The future of computing and food. Proceedings of the 2018 International Conference on Advanced Visual Interfaces (AVI'18). 29 May, 2018- 1 June, 2018; New York-USA.
- Obrist M, Tu Y, Yao L, Velasco C. Space food experiences: Designing passenger's eating experiences for future space travels cenarios. Front Comput Sci 2019; 1(3): 7-12.
- Olabi AA, Lawless HT, Hunter JB, Levitsky DA, Halpern BP. The effect of microgravity and space flight on the chemical senses. J Food Sci 2002; 67: 468-78.
- Özçivici E. Effects of spaceflight on cells of bone marrow origin. Turk Hematol 2013; 30: 1-7.
- Perchonok M, Bourland C. NASA food systems: Past, present and future. Nutr 2002; 18: 913-20
- Rızaoğlu B, Hançer M. Menü ve Yönetim. İkinci Baskı. Ankara: Detay Yayıncılık, 2013; pp. 70-1.
- Salamon N, Grimm JM, Horack JM, Newton EK. Application of virtual reality for crew mental health in extended-duration space missions. Acta Astronaut 2018; 146: 117-22.
- Smith SM, Street JD, Neasbitt L, Zwart SR. Space Nutrition. First Edition. United States of America: NASA Press, 2012; pp. 6-21.
- Smith SM, Zwart SR, Kloeris V, Heer M. Nutritional Biochemistry of Space Flight Nutritional Biochemistry of Space Flight. First Edition. New York: Nova Science Publishers, 2009; pp. 3-12.
- Spence C, Velasco C, Knoeflerle K. A large sample study on the influence of the multi sensory environment on the wine drinking experience. Flvr 2014; 3(1): 8.



Investigating the Uses of "Nanotechnology" as an Alternative Approach to Increasing Animal Welfare in Dairy Cattle

Mustafa GARİP^{1,a}, Emre ARSLAN^{1,b}, Sigid PRABOWO^{1,2,c}, Hasan KESKİN^{1,d}

¹Selçuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Science, Konya-TURKEY
²IPB University, Faculty of Animal Science, Department of Animal Production and Technology, West Java-INDONESIA
ORCID Number: ^a0000-0002-1429-2724; ^b0000-0002-4609-8395; ^c0000-0002-6965-0824; ^d0000-0001-7390-3444

Corresponding author: Emre ARSLAN; E-mail: emre.arслан@selcuk.edu.tr

How to cite: Garip M, Arslan E, Prabowo S, Keskin H. Investigating the uses of "nanotechnology" as an alternative approach to increasing animal welfare in dairy cattle. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(1): 67-73

Abstract: In the recent years, proper animal welfare practices in dairy farming have become an urgent topic to investigate in the animal sciences fields. Practices made in accordance with the five principles of freedom (hunger, thirst, well-being etc.), which are important for animal welfare, will improve the levels of animal welfare and the level of product (milk yield, fertility etc.) quality. There is a multitude of technologies to be selected to achieve proper animal welfare practices. One of the most complex and newest technologies is nanotechnology. Nanotechnology is used in many different fields such as nanomaterials, nano-bio system, nanomedicine, nanomineral, nanoimaging, nanoencapsulation, nano lubricants, nanocoating, nano paint, nano insulation, etc. Since animal welfare practices in dairy cattle affect yield, research have been carried out to improve animal welfare nowadays. But the limited information available on the use of nanotechnology as an alternative approach to improve animal welfare has made this research necessary. The purpose of this review is to shed light on further research in this area, and to better understand and select useable nanotechnologies for dairy cattle to improve animal welfare.

Keywords: Animal welfare, dairy cattle, nanotechnology

Süt Sığırlarında Hayvan Refahının Artırılmasına Alternatif Bir Yaklaşım Olarak "Nanoteknoloji"nin Kullanım Olanaklarının Araştırılması

Öz: Süt sığırcılığında doğru refah uygulamaları hayvan yetiştiriciliği alanı için son yıllarda çalışılması gereken bir konu haline gelmiştir. Hayvan refahı için önemli olan beş özgürlük ilkesine (açlık, susuzluk sağlıklı olma hali vb.) uygun olarak yapılan uygulamalar, hayvan refahı ve ürün (süt verimi, döl verimi vb.) kalite düzeyini artıracaktır. Hayvan refahı uygulamalarını geliştirebilecek pek çok uygulama vardır. Bunlardan biri de karmaşık ve yeni bir uygulama olan nanoteknolojidir. Nanoteknoloji birçok farklı alanda kullanılmakta örneğin, nanomalzemeler, nano-biyosistem, nanotıp, nanomineral, nanogörüntüleme, nanokapsülasyon, nano yağlayıcılar, nanokaplama, nano boya, nano yalıtım vd. Süt sığırlarında hayvan refahı uygulamaları verimi etkilediğinden nanoteknolojinin hayvan refahını artırmada alternatif bir yaklaşım olarak kullanılması hakkında sınırlı bilgi olması araştırmayı gerekli kılmıştır. Bu derlemenin amacı; hayvan refahının iyileştirilmesi ile ilgili olarak süt sığırları için kullanılabilir nanoteknolojilerin daha iyi anlaşılması ve seçilmesi için bu alanda yapılacak yeni araştırmalara ışık tutmaktır.

Anahtar kelimeler: Hayvan refahı, nanoteknoloji, süt sığırcılığı

Introduction

The term "nanotechnology" was invented at the University of Tokyo in 1971 by Professor Norio Taniguchi (Rajak, 2018). The prefix "nano" is derived from the Greek word "nanos", signifying "dwarf" (Ye et al., 2012). Nanotechnology can be defined as the design, synthesis, and application of materials and devices whose size and shape have been engineered at the nanoscale (Buzea et al., 2007). It exploits unique chemical, physical, electrical, and mechanical properties that emerge when matter is structured at the nanoscale (Buzea et al., 2007). The nanoscopic scale (or nanoscale) usually refers to structures with

a length scale applicable to nanotechnology, usually cited as 1-100 nano meters. In more technical terms, the word "nano" means 10^{-9} , or one billionth of something (Kirdar, 2015). So, nanotechnology is the study of very small structures, having the size of 0.1 to 100 nm (Nikalje, 2015).

There are three methods to synthesize nanomaterials. Top-down manufacturing, bottom-up manufacturing, and convergence of top-down and bottom-up techniques (RSE, 2004). Firstly, top down manufacturing is begun with a pattern generated on a larger scale, then reduced to nanoscale. This method have some weakness there is by nature, aren't cheap and quick to manufacture also slow and not suitable for large scale production (Anonym, 2021). Secondly,

bottom-up method is start with atoms or molecules and build up to nanostructures. But this method also has weakness, there is for fabrication process much less expensive (Anonym, 2021). Finally, convergence of top-down and bottom-up techniques is a combination between top-down and bottom-up manufacturing (RSE, 2004).

In recent years nanotechnology has been widely used in the many fields since they attract increasing investment from governments and industry around the world (Dowling, 2004). Governments and organizations around the world compete to commercialize nanotechnologies and nanomaterials. Nanotechnology stands to produce scientific and technological advances in diverse fields. For examples, nanotechnology can be applied in the human health, medicine, engineering, food, biosystem, electronics, imaging, fiber, composites, cosmetics, coating, paint, agriculture, and dairy cattle.

Properties of Nanotechnology

In practice, the physical, chemical, and biological properties of a substance are determined by the association of physicochemical phenomena that act on the matter (Fesseha et al., 2020). Nanoparticles or nanomaterials show some effects produced by their active ingredients. There are quantum tunneling, quantum phase transition, surface effect, quantum size-effect confinement and nonlinear susceptibility enhancements (Lue, 2007). Thus, the active ingredient of nanoparticles has provided and increased their stability (King et al., 2018). Moreover, they stabilize under high temperature and pressure (Stoimenov et al., 2002).

There are many types of the nanoparticles. The most common ones are polymeric nanoparticles, liposomes, fullerenes, nanotubes, nanoshells, solid lipid nanoparticles (SLNs), micelles, dendrimers, metallic nanomaterials, magnetic nanoparticles, ceramic nanomaterials, quantum dots, nanoemulsion, microbubbles, and respirocytes (Meena et al., 2018). Furthermore, nanomaterials can be categorized in two types as organic nanomaterials and inorganic nanomaterials (Fesseha et al., 2020). Organic nanomaterials can be produced from organic materials, such as proteins, lipid, sugar and the other. For instance, nanocapsules with lipid formulations are possible with improved solubility, high bioavailability and establishment of sustained liberation of the nano-encapsulated food constituents (Akhavan et al., 2018). Nanomaterials can be produced from minerals such as silicon dioxide, calcium and magnesium, silver nanoparticles, and the other. The example is the nano-ZnO promoted the proliferation of the cells and did not injury the cells at lower concentrations (Feng et al., 2009).

The Significance of Nanotechnology in Dairy Cattle

Challenges in the dairy farming sector are getting more complex year by year, because livestock production will face some problems in the future as well as today. The problems are covering at all production system stage. The upstream includes the dairy farming system and the downstream includes the dairy product processing system. The main goal of breeders was to increase productivity and efficiency in the past. However, this discussion will be focused only in the upstream area or on-farming. Key drivers for future innovation are basically genomics, information & communication technology (ICT), microsystem and nanotechnology (Den Hartog and Sijtsma, 2013). The most challenges in the dairy cattle can be divided into some areas. There is feed quality, metabolic and reproduction disorders, infectious diseases, barn facilities, and pollutants. Some examples of the application of nanotechnology to solve those dairy challenges are Ag nanoparticles at concentrations lower than the MIC drastically inhibited production of aflatoxin by *A. parasiticus* (Mousavi and Pourtalebi, 2015), carboxymethyl chitosan-loaded reduced glutathione treatment might alleviate SCK by enhancing gluconeogenesis and reducing ketogenesis in amino acids (Zhao et al., 2020), nanotube implanted under the skin to provide real time measurement of changes in the level of estradiol in the blood (Patil et al., 2009), Ag nanoparticles had marked antibacterial effect against bacteria isolated from calf diarrhoea (Zeedan et al., 2018), TiO₂ nanocoating system filled with hollow microspheres reflects solar radiation of all incoming wavelengths (Sandin et al., 2017), and the addition of zinc oxide nanoparticles into the manure were reduced significantly (Alvarado et al., 2015). Because of that, nanotechnology is an alternative instrument that can be selected to solve dairy farming challenges in the future. As far as we know that esteem for animals within the food chain is considered within the context of an ethical matrix that affords respect according to the principles of well-being, farmers and the living environment, farm animals, autonomy and justice to consumers (Webster, 2001). Because the five principles of freedom have had major impact on animal welfare thinking internationally (Mellor, 2016). The five principles of freedom are:

- Freedom from discomfort,
- Freedom from hunger, thirst and malnutrition,
- Freedom from fear and distress
- Freedom to express normal behavior
- Freedom from injury, pain and disease (Gill, 2012).

Although in the recent years, the five principles of freedom to evaluate animal welfare levels has ex-

panded to more than five criteria. For example, according to Kjærnes and Keeling (2002) there are 12 criteria to evaluate animal welfare levels, but the expansion of the criteria is also based on the five principles of freedom. So, there is a connection among nanotechnology, animal welfare, and dairy cattle. Moreover, nanotechnology can be used as an alternative solution to solve the problem in dairy cattle welfare.

Compatibility of Nanotechnology in Dairy Cattle

It is generally known that every system has limited factors, including nanotechnologies. Although nanotechnology is a new invented technology, it cannot cover all of the fields. Nanotechnology also has some disadvantages; the potential danger to humans, the environment, and an economic market crash related to a potential lower value (Lauterwasser, 2008). However, it is only needed to identify which nanotechnologies are applicable in dairy farming.

The Application of Nanotechnology in Dairy Cattle Welfare Improvement

Freedom from discomfort

The animal welfare in the dairy farms should be possible in shelters with a comfortable rest area (Gill, 2012). Specific areas in this aspect include; thermal comfort, comfort around resting, and ease of movement of all the cows (EFSA, 2009). Some areas in the dairy farms can be improved with the nanotechnology approach. But in general, it is connected with construction and facilities in the barn. For example, cow bedding, milking grease, milking machine, feeder, cubicles, and the other facilities. However, the discomfort aspect is also related with pollutants in the barn, and the nanotechnology is also able to solve the problems in this field. Mat-stall (bedding) improves the productive and reproductive performance (Singh et al., 2020). Mat-stall (bedding) materials are related with odds ratio of lameness. If the bedding is made from hard materials, it will improve the odds ratio of lameness. The bedding is also affected by the overall gaseous emissions (Hartung and Phillips, 1994). Using mat-stall for the bedding for the cows will improve comfort levels in the barn. Nanotechnology might apply for mat-stall materials.

Se, NPs is proven to increase the activity of anti-oxidative enzyme in serum also relieve and improve oxidative damage in dairy cows caused by heat stress (Weixing et al., 2009). To decrease the heat stress effect in the tropic and hot climates, construction manipulation is one of the solutions. Construction manipulation is always correlated with materials used to building the barn especially roof materials to decrease the heat radiation. Nanoparticle TiO_2 has the capability of photocatalytic activities, so this material is good for heat insulation. Furthermore, using TiO_2

nanoparticle in the feeder can improve the comfort level of the cattle because this material has self-cleaning coating which will reduce the contaminant agents in the feed. Another discomfort factor is gas emissions in the barn that causes odours. There are two approaches to reduce the emission of gas in dairy farms; reduced gas emissions inside of the body metabolic system and reduce the emissions in the slurry degradation processes. Applicable nanotechnology approach can be used to solve gas emission problems with some nanomaterials. For instance, using SiO_2 as a feed additive can reduce ammonia emission in the body metabolic system (Pieszka et al., 2018). Another example is an approach to animal waste management involving adding nanoparticles to manure to enhance biogas production from anaerobic digesters or to reduce odours (Scott, 2007).

Freedom from thirst, hunger and malnutrition

This principle of freedom in process evaluation can be measured by access to clean, fresh water and a diet to maintain full health and vigor (Gill, 2012). Some food and nutrition products containing nanoscale additives are already commercially available, and nanotechnology has begun to be widely used in different fields (Brunori et al., 2009). For example, in the application of nanotechnology, various compounds are used as a supplemental source of trace minerals (MgO , Na_2O , SiO_2 , CaO , K_2O , TiO_2 , Al_2O_3 , and Fe_2O_3) nanoparticles (NPs) in diets (Meena et al., 2018).

Each nanomaterial has a specific function in the metabolism system. For example, ZnO nanoparticles as feed additives can improve the growth of rumen microorganisms and ruminal microbial protein synthesis (Huang et al., 2015) and raise the energy utilization efficiency (Riazi et al., 2019). Then, Se NPs can stimulate rumen microbial activity, digestive microorganisms or enzyme activity (Shi et al., 2011) and Se NPs exhibit lower toxicity than selenite (Çiçek et al., 2021). Moreover, CuSO_4 can significantly improve the digestibility of crude fat and energy, levels of IgG, γ -globulin and total globulin protein, and SOD activity (Gonzales-Eguia et al., 2009). Further, SiO_2 can significantly increase the number of lactic acid bacteria and decrease in the number of bacterial pathogens (Pieszka et al., 2018). Technique nanoencapsulation can be applied for rumen protection for some amino acids. Because some researches have reported that rumen protected methionine (RPM) plus rumen protected lysine (RPL) can improve milk yield and protein contents of dairy cows (Awawdeh, 2016).

From the examples that are mentioned above, we can conclude that nanoparticles can become an alternative solution to improve the dairy cattle welfare quality level in the aspect of freedom from thirst, hunger, and malnutrition. Because the data shows that

the usage of nanoparticles in the feed can improve digestibility, enzyme activity in the digestive system, and inhibit pathogen bacteria growth (Huang et al., 2015, Riazi et al., 2019). As a result, the evaluation of dairy cattle welfare improvement in this aspect can be done with body condition score (BCS) method (Spigarelli et al., 2020). After nanotechnology application, the BCS of cows can be tested to see if they are in the normal range and are not over-conditioned or under-conditioned. It can be concluded that animal welfare levels in this aspect have been improved.

Freedom from fear and distress

The last aspect to evaluate animal welfare is freedom from fear and distress. This aspect can be achieved by ensuring conditions that avoid mental suffering (Gill, 2012). Some production management methods that are applied in the farm might cause fear and distress to the cattle. For example, not normal parity process (dystocia) and the need of human assistance might cause trauma to the cattle. The nanoparticle MgO has preventive capability in the memory impairment induced by postpartum depression (Zadedarvish et al., 2020). Furthermore, the milking process also has potency for trauma if the process is not properly done. Therefore, nanotechnology can be applied in this area. To improve the comfort levels in the milking process, generally some dairy farms use milk grease. Nanoparticles can be applied in this area, especially nano-lubricants fields. Thin and short multi-walled carbon nanotubes could improve the friction-reduction and anti-wear properties of vegetable-based oil more effectively than thick and long multi-walled carbon nanotubes (Su et al., 2018). Furthermore, some part in the milking machine uses rubber, so nanotechnology can also take a part in this area to improve the comfort quality while the milking process is carried out. For example, the tensile strength, tensile stress, and elongation at break of rubber nanocomposites were found to increase with addition of CNC regardless of cellulose sources (Dittanet et al., 2019).

Freedom to express normal behavior

Providing sufficient space, proper facilities and company for animals is a procedure to improve the animal welfare level in the aspect of freedom to express normal behaviour (Gill, 2012). Appropriate or normal behaviour can be evaluated from four areas; expression of social behaviours, expression of other behaviours, good human-animal relationship, and absence of general fear (EFSA, 2009). Social behaviour expression in dairy cattle is usually related with social dominance. Social dominance can be defined as a relationship where an animal through threat, force, or mere pleasure causes a subordinate animal to yield space (Lamb, 1976). The expression of other behaviours in dairy cattle can be divided into eating time,

lying time, ruminating time, standing time, and idle time (Nikkhah and Kowsar, 2012). Space of the facilities in the barn and pasture for dairy cattle have big impact for comfort levels. Because of that, to make a connection between cattle behaviour and nanotechnology is very limited. However, nanotechnology can apply in the pasture to improve the quality of grass. Encouraging nitrogen use efficiency (NUE) results have been found when using nano-fertilizers (Mejias et al., 2021). Moreover, the release pattern demonstrated that the nanocomposite had a slow release behaviour for urea dissolution (Golbashy et al., 2017). Nanocomposite coating has a compact and non-porous microstructure; therefore, it prevents the penetration of chloride ions (Lekka et al., 2010). Another application of nanotechnology in the area of good human-animal relationship and the absence of general fear. Many studies that reported the effect of colours in the dairy farm. For instance, cows learn to discriminate among handlers partially based on the colours of their clothes (Munksgaard et al., 1997).

Freedom from injury, pain and diseases

Improvement process in the aspect of freedom from injury, pain and diseases can be done by prevention or rapid diagnosis and treatment (Gill, 2012). Absence of injuries, pain and disease induced by management procedures are the scope in this aspect (EFSA, 2009). Nanotechnologies are widely used for rapid detection and diagnosis, notably for clinical examination, food safety testing, and animal epidemic surveillance (Huang et al., 2015). One of the biggest diseases prevalent in the dairy farming is mastitis. Mastitis is caused by infectious bacteria in the milking process. Teat dip is always applied in the dairy farm to reduce the prevalence of mastitis. In usual Iodine and Chlorine are used in this dip process. Because of that nanotechnology can take a part in the process. Teat dip containing 4% povidone-iodine and 1% chitosan was more effective than 10% povidone-iodine in preventing subclinical mastitis (Hui-min et al., 2020).

Diseases seen in calves is mostly diarrhoea. In general, this disease is also caused by bacteria. Some nanoparticles are proven to reduce the odds ratio of this disease. There is SiO₂ and TiO₂. The literatures show TiO₂ has antimicrobial effect reaction Gram-positive bacteria (*Lactobacillus acidophilus*), yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*) and green algae (*Chlorella vulgaris*) (Haider et al., 2019). Moreover, SiO₂ has the capability to reduce the prevalence of diarrhoea (Pieszka et al., 2018). Some incidences of disease in the dairy farms are caused by viruses. For instance, foot-and-mouth disease virus (FMDV), bovine virus diarrhoea (BVD), bovine herpes virus (BHV-1), and brucellosis. The research resulted those nanotechnologies are applicable to fight virus attack in dairy cattle. Nano-

particle of MgO NPs can inhibit foot-and-mouth disease (FMDV) by more than 90% at the early stages of infection (Rafiei et al., 2015a). Then, nanoparticle of Au NPs can inhibit post-entry stages of viral replication concomitant with the onset of intracellular viral RNA synthesis (Rafiei et al., 2015b). Another area of application of nanotechnology for dairy cattle is nanoencapsulation. One of the nanoencapsulations that is usually used is synthesized from chitosan nanoparticle. Chitosan nanoparticle of hCG (*Human Chorionic Gonadotrophin*) hormone or CS-NPh as a nasal spray can be used in enhancing the induction of ovulation in dairy cattle (Pamungkas et al., 2016).

Conclusion

Animal welfare is an essential management practice in dairy farms. Improvement in the five aspects of animal welfare will impact to the performance and productivity of the cattle because all the environment conditions are supported to express maximum potency. The new technology can be used as an approach to achieve that purpose. Nanotechnology is one of the most advanced technological inventions of the 20th centuries. In general, nanotechnology can be applied in dairy cattle for animal welfare improvement. The management only needs to select the correct nanotechnology that would be applied in the dairy farm to solve the challenges. In some specific areas related with animal welfare improvement, there are some potential nanotechnologies that can be applied. However, compatibility of nanotechnologies in the dairy animal welfare can still be elaborated in a more detailed aspect depending on the challenges in the farm. As a result of the study, it can be stated that nanotechnology should be used to improve the welfare standards of dairy cows.

References

- Akhavan S, Assadpour E, Katouzian I, Jafari SM. Lipid nano scale cargos for the protection and delivery of food bioactive ingredients and nutraceuticals. *Trends Food Sci Technol* 2018; 74: 132-46.
- Alvarado AC, Predicala BZ, Asis DA. Mixing nanoparticles with swine manure to reduce hydrogen sulfide and ammonia emissions. *Int J Environ Sci Technol* 2015; 12(3): 893-904.
- Anonymous. Techniques for synthesis of nanomaterials. In: 40. Lahore College for Women University, LCWU. Accessed Adress: <https://www.slideshare.net/Krishanyadav28/synthesis-of-nanomaterials>, Accessed Date: 13.04 2021.
- Awawdeh MS. Rumen-protected methionine and lysine: effects on milk production and plasma amino acids of dairy cows with reference to metabolizable protein status. *J Dairy Res* 2016; 83: 151-5.
- Brunori, G., L. Jiggins, R. Gallardo, and O. Schmidt. *New Challenges for Agricultural Research: Climate Change, Food Security, Rural Development, Agricultural Knowledge Systems*. Second SCAR Foresight Report. EU Commission, SCAR, Brussels 2009.
- Buzea C, Pacheco , Robbie K. *Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity*, *Biointerphases*, 2(4): MR17-MR71 2007.
- Çiçek S, Turhan S, Işık S. Application of selenium nanoparticles diets in ruminants. *Atatürk Uni Agri Fac* 2021; 52: 98-107.
- Den Hartog LA, Sijtsma R. Challenges and opportunities in animal feed and nutrition. *Eleventh World Conference on Animal Production*. October, 15-20, 2013; Beijing-China.
- Dittanet P, Somphol W, Lampang N, Prapainainar P, Loykulnan S. Natural rubber reinforced by nanocellulose extracted from dried rubber leaves. *Seventh International Conference on Nano and Materials Science (ICNMS 2019) AIP Conf Proc* 2019; 2083 (030008): 1-5.
- Dowling AP. Development of nanotechnologies. *Materials Today* 2004; 7 (12): 30-5.
- EFSA. Scientific report of EFSA prepared by the Animal Health and Animal Welfare Unit on the effects of farming systems on dairy cow welfare and disease. *Annex to the EFSA* 2009; 1143: 1-38.
- El-Hammadi MM, Arias JL. Nanomedicine for vaginal drug delivery. In: *Theory and Applications of Non-parenteral Nanomedicines*. Academic Press, 2021; pp. 235-57.
- Feng M, Wang ZS, Zhou AG, Ai DW. The effects of different sizes of nanometer zinc oxide on the proliferation and cell integrity of mice duodenum-epithelial cells in primary culture. *Pak J Nutr* 2009; 8(8): 1164-6.
- Fesseha H, Degu T, Getachew Y. Nanotechnology and its application in animal production: A review. *Vet Med* 2020; 5(2): 43-50.
- Gill R. Animal Welfare and the "Five Freedoms". <https://animalscience.tamu.edu/wp-content/uploads/sites/14/2012/04/Five-Freedoms-Long-vers.pdf>; Accessed Date : 16.08.2021.
- Golbashy M, Sabahi H, Allahdadi I, Nazokdast H, Hosseini M. Synthesis of highly intercalated urea-clay nanocomposite via domestic montmorillonite as eco-friendly slow-release fertilizer. *Arch Agro Soil Sci* 2017; 63(1): 84-95.

- Gonzales-Eguia A, Fu CM, Lu FY, Lien TF. Effects of nanocopper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets. *Livest Sci* 2009; 126(1-3): 122-9.
- Haider AJ, Jameel ZN, Al-Hussaini IHM. Review on: titanium dioxide applications. *Energy Procedia* 2019; 157: 17-29.
- Hartung J, Phillips VR. Control of gaseous emissions from livestock buildings and manure stores. *Agri Engineering Res* 1994; 57: 173-89.
- Huang S, Wang L, Liu L, Hou Y, Li L. Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in China. A review. *Agron Sustain Dev* 2015; 35: 369-400.
- Hui-min Z, Hong-rui J, Dai-jie C, Zi-lian S, Yong-jiang M, Yu-sheng L, Loo JJ, Zhang-ping YY. Evaluation of a povidone-iodine and chitosan-based barrier teat dip in the prevention of mastitis in dairy cows. *Integrative Agri* 2020; 19: 2-12.
- King T, Osmond-McLeod MJ, Duffy LL. Nanotechnology in the food sector and potential applications for the poultry industry. *Trends Food Sci Technol* 2018; 72: 62-73.
- Kirdar SS. Current and future applications of nanotechnology in the food industry. In: ISITES2015 Valencia-Spain: Akademik Platform 2015; pp.1517-27.
- Kjærnes U, Keeling L. Principles and criteria of good animal welfare. In: 2. Lelystad, The Netherlands: Animal Sciences Group of Wageningen UR 2002.
- Lamb RC. Relationship between cow behavior patterns and management systems to reduce stress. *Dairy Sci* 1976; 59: 1630-6.
- Lauterwasser C. Opportunities and risks of Nanotechnologies: Report in co-operation with the OECD International Futures Programme. In: München, Germany: Allianz Center for Technology & The OECD International Futures Programme 2008; pp. 44-6.
- Lekka M, Zanella C, Klorikowska A, Bonora PL. Scaling-up of the electrodeposition process of nanocomposite coating for corrosion and wear protection. *Electrochimica Acta* 2010; 55 (27): 7876-83.
- Lue JT. Physical properties of nanomaterials. *Encyclopedia of nanosci nanotechnol* 2007; 10: 1-46.
- Meena N, Sahni Y, Thakur D, Singh R. Applications of nanotechnology in veterinary. *Vet World* 2018; 3: 477-80.
- Mejías JH, Salazar FJ, Pérez L, Hube S, Rodriguez M, Alfaro MA. Nanofertilizers: A cutting-edge approach to increase nitrogen use efficiency in grasslands. *Front Environ Sci* 2021; 9: 52.
- Mellor DJ. Updating animal welfare thinking: Moving beyond the "Five Freedoms" towards "a Life Worth Living". *Animals* 2016; 6(3): 21.
- Munksgaard L, De Passillé AM, Rushen J, Thodberg K, Jensen MB. Discrimination of people by dairy cows based on handling. *Dairy Sci* 1997; 80(6): 1106-12.
- Mousavi SAA, Pourtalebi S. Inhibitory effects of silver nanoparticles on growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus Parasiticus*. *Iran J Med Sci* 2015; 40(6): 501-6.
- Nikalje AP. Nanotechnology and its applications in medicine. *Med Chem* 2015; 5(2): 81-9.
- Nikkhah A, Kowsar R. Seasonal and group effects on dairy cow behavior in large yards. *Turk Vet Anim Sci* 2012; 36(2): 123-9.
- Pamungkas FA, Sianturi RG, Wina E, Kusumaningrum DA. Chitosan nanoparticle of hCG (human chorionic gonadotrophin) hormone in increasing induction of dairy cattle ovulation. *JITV* 2016; 21 (1): 34-40.
- Patil SS, Kore KB, Kumar P. Nanotechnology and its applications in veterinary and animal science. *Vet World* 2009; 2: 475-7.
- Pieszka M, Szczurek P, Pietras M. SiO₂ nanostructures as a feed additive to prevent bacterial infections in piglets. *J Annals of Warsaw Uni Life Sci-SGGW Anim Sci* 2018; 57.
- Rafiei S, Rezatofighi SE, Ardakani MR, Madadgar O. In vitro anti-foot-and-mouth disease virus activity of magnesium oxide nanoparticles. *IET Nanobiotechnol* 2015a; 9(5): 247-51.
- Rafiei S, Rezatofighi SE, Ardakani MR, Rastegarzadeh S. Gold nanoparticles impair foot-and-mouth disease virus replication. *IEEE transactions on nanobiosci* 2015b; 15(1): 34-40.
- Rajak A. Nanotechnology and its application. *J Nano-med Nanotechnol* 2018; 9: 3.
- Riazi H, Rezaei J, Rouzbehan Y. Effects of supplementary nano-ZnO on in vitro ruminal fermentation, methane release, antioxidants, and microbial biomass. *Turk Vet J Anim Sci* 2019; 43: 737-46.
- Sandin O, Nordin J, Jonsson M. Reflective properties of hollow microspheres in cool roof coatings. *Coatings Technol Res* 2017; 14(4): 817-21

- Scott NR. Impact of nanoscale technologies in animal management. *Anim Pro Anim Sci Worldwide* 2007; 1: 283-91.
- Shi L, Xun W, Yue W, Zhang C, Ren Y, Liu Q, Wang Q, Shi L. Effect of elemental nano-selenium on feed digestibility, rumen fermentation, and purine derivatives in sheep. *Anim Feed Sci Technol* 2011; 163: 136-42.
- Singh AK, Kumari T, Rajput MS, Baishya A, Bhatt N, Roy S. A review: Effect of bedding material on production, reproduction and health and behavior of dairy animals. *Int J Livest Res* 2020; 10(7): 11-20.
- Spigarelli C, Zuliani A, Battini M, Mattiello S, Bovolen-ta S. Welfare assessment on pasture: A review on animal-based measures for ruminants. *J Anim* 2020; 10(4): 609.
- Stoimenov PK, Klinger RL, Marchin GL, Klabunde KJ. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *J Langmuir* 2002; 18 (17): 6679-86.
- Su Y, Tang Z, Wang G, Wan R. Influence of carbon nanotube on the tribological properties of vegetable -based oil. *Adv Mech Eng* 2018; 10 (5): 1-11.
- The Royal Society, and The Royal Academy of Engi-neering (RSE). In: *Nanomanufacturing Nanosci-ence and nanotechnology* Clyvedon Press: Cardiff, UK 2004; pp. 25-30.
- Webster AJF. Farm Animal Welfare: The five free-dom and the free market. *The Vet J* 2001; 161: 229-37.
- Weixing D, Dongmei W, Zheng L, Cheng M, Depo Y, Chaoliang L, Shaobao L. Effects of nano-Se and vitamin E on anti-oxidative capability of dairy cows in heat stress. *China Dairy Cattle* 2009; 9: 21-4.
- Ye BC, Zhang M, Yin BC. *Nano-bio probe design and its application for biochemical analysis* Springer Science & Business Media 2012; 1: pp. 1.
- Zadedarvish F, Kesmati M, Khajepour L, Torabi M. Effects of magnesium oxide nanoparticles on memory impairment induced by postpartum de-pression model. *Physiol Pharmacol* 2020; 24 (1): 63-73.
- Zeedan GSG, Abdalhamed AM, Ibrahim ES, El-Sadawy HAF. Antibacterial efficacy of green silver nanoparticles against bacteria isolated from calf diarrhoea. *Asian J Epidemiol* 2018; 11(2): 65-73.
- Zhao C, Bai Y, Fu S, Wu L, Xia C, Xu C. Metabolic alterations in dairy cows with subclinical ketosis after treatment with carboxymethyl chitosan□ loaded, reduced glutathione nanoparticles. *Vet Int Med* 2020; 34(6): 2787-99.



Utilization of Crude Glycerin in Ruminant Diets

Bora BÖLÜKBAŞ^{1,a}, İsmail KAYA^{1,b}

¹Ondokuz Mayıs University, Veterinary Medicine Faculty, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Samsun-TURKEY

ORCID Numbers: ^a0000-0002-0732-0192; ^b0000-0002-2570-0877

Corresponding author: Bora BÖLÜKBAŞ; bora.bolukbas@omu.edu.tr

How to cite: Bölükbaş B, Kaya İ. Utilization of crude glycerin in ruminant diets. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19 (1): 74-82

Abstract: The intensive use of grains as feed in ruminant production systems raises concerns about future food security. The replacement of food raw materials used in animal nutrition with industrial by-products and other waste biomass that are not suitable for human consumption is viewed as the most important potential strategy that can decrease food-feed competition and increase the profitability of animal production. Crude glycerin (CG) is a byproduct of the biodiesel industry and has been used as an alternative to grains in ruminant diets in recent years. Glycerol, which is the main component of CG, rapidly participates in energy metabolism by undergoing fermentation to propionate and butyrate in the rumen. Depending on the biodiesel production method, the effect of CG, which is obtained at varying levels of purity, on ruminants may vary according to the amount of glycerol, and other impurities in it and the amount of CG added to the diet. Due to this variability, inconsistent results are obtained regarding the efficiency of CG usage in ruminants. Based on the literature, it was concluded that CG could be used in ruminant diets at levels of 10-15% of dry matter after taking into account the levels of impurities without adversely affecting the performance.

Keywords: Biodiesel, by-product, crude glycerin, glycerol, ruminant

Ruminant Rasyonlarında Ham Gliserin Kullanımı

Öz: Ruminant beslemede tahılların yoğun olarak kullanılması geleceğin gıda güvenliği konusunda endişelere yol açmaktadır. Hayvan beslemede kullanılan gıda hammaddelerinin insan tüketimine uygun olmayan sanayi yan ürünleri ve bazı diğer atık biyokütleler ile değiştirilmesi gıda-yem rekabetini ve hayvansal üretimin karlılığını artıracak en önemli potansiyel strateji olarak görülmektedir. Ham gliserin (HG), biyodizel endüstrisinin yan ürünüdür ve son yıllarda ruminant rasyonlarında tahıllara alternatif bir enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. HG'nin ana bileşeni olan gliserol, rumende hızlı bir şekilde propiyonat ve bütirata fermente olarak enerji metabolizmasına katılmaktadır. Biyodizel üretim metoduna bağlı olarak değişken saflıklarda elde edilen ham gliserinin ruminantlar üzerindeki etkisi içerisindeki gliserol ve diğer kirliliklerin miktarına ve rasyona eklenme düzeyine göre değişkenlik gösterebilmektedir. Bu değişkenlik sebebiyle ham gliserinin ruminantlarda kullanım etkinliği konusunda çok çeşitli sonuçlar elde edilmektedir. Literatür bulguları değerlendirildiğinde HG'nin içeriğindeki kirlilikler gözetilerek ruminant rasyonlarında kuru maddenin %10 ila 15 düzeyinde performansı olumsuz etkilemeden kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Biodizel, gliserol, ham gliserin, ruminant, yan ürün

Introduction

Biodiesel is a liquid fuel, a mono alcohol ester obtained in the reaction of vegetable, animal, or waste oils (e.g., frying oil, grease trap) with alcohol (methanol or ethanol) in the presence of catalysts (acid, alkali, or enzyme). As a result of this process called transesterification, methyl or ethyl esters (biodiesel) are obtained as the final product, and approximately 0.1 m³ of crude glycerin (CG) is obtained as a byproduct for every 1 m³ of biodiesel produced (Kholif, 2019). Glycerol obtained during biodiesel production is called CG because it mixes with contaminants such as alcohol, catalysts, salts, and fatty acids. Whereas the term glycerol (1,2,3-propanetriol)

is used to describe the pure substance whose physical and chemical structure is known, the term glycerin is generally used for commercial products containing more than 95% glycerol in aqueous solution (Knothe et al., 2005). The percentage of glycerol in CG can vary from 45–90% depending on the raw material used for production, reaction conditions, and to what extent CG is refined by the biodiesel plant.

Decreasing fossil fuel resources in the world, increasing greenhouse gas emissions, and unstable oil prices direct the policies of different countries to seek alternative energy resources that are sustainable, renewable, cost-effective, and environmentally friendly. According to the European Union's "2030 Framework for Climate and Energy Policies" statement (Parliament Regulation, 2018), it is aimed to increase the share of renewable energy sources in the global

energy supply to 32% and reduce greenhouse gas emissions by 40% by the year 2030. Biodiesel production has increased rapidly in recent years due to the lower cost of biodiesel compared to that of many other renewable energy sources such as wind and solar energy. Global biodiesel production, which was 39 billion liters by 2020, is expected to increase to 46 billion liters by 2029 (OECD/FAO, 2020). Biodiesel production in Turkey increased by 112% in the last five years, reaching 134 million liters in 2019 (BSD, 2019).

With the rapidly increasing biodiesel production globally, there exist some difficulties in terms of sustainable utilization of crude glycerol, which constitutes nearly 10% of the final product. Generally, glycerol has more than 1500 applications in various categories and industries, such as personal care, cosmetics, medicine, and food industries. Although these widespread applications are limited by the purity of the product, attaining 99% purity of CG requires additional costs. Therefore, as is the case with many biofuel by-products such as distillers dried grains and soluble obtained from ethanol production (Şahin et al., 2013), the feed industry is viewed as one of the potential markets in which CG may be utilized without additional purification.

Feed costs constitute the largest share of expense in livestock production systems (Elmalı et al., 2010). Besides, the intensive use of grains in traditional animal nutrition raises concerns about future food security. Therefore, it is advantageous to include economic products such as CG in ruminant diets as an alternative to grains in terms of profitability and reducing food-feed competition. In ruminant feeds, glycerol was first used as a drench in the ketosis treatment of dairy cows with negative energy balance as a glucogenic precursor (Goff and Horst, 2001; Linke et al., 2005). As CG became a surplus product in the global market and its price decreased considerably, it was started to be used as an alternative energy source in animal diets instead of starch-based ingredients such as corn, which are generally widely used in ruminant diets (Musselman et al., 2008; Gunn et al., 2010). Moreover, based on the hypothesis that glycerol reduces rumen biohydrogenation and lipolysis (Edwards et al., 2012), its application in increasing beneficial fatty acids in meat and milk has been the subject of research in recent years (Carvalho et al., 2015; Fiorentini et al., 2018). In this review, the effects of CG added to ruminant diets on performance, digestibility, and levels of the certain rumen and blood parameters, as well as that of meat and milk fatty acid composition are presented to evaluate its effectiveness in ruminant nutrition.

Nutritional content of crude glycerin

The energy content of glycerol is very close to that of

corn with an estimated 1.98–2.27 Mcal/kg dry matter (DM) net energy lactation (NEL) and 4.32 Mcal/kg DM gross energy values (Schröder and Südekum, 1999) for ruminants. The energy value of CG can vary according to the amount of glycerol present. As long as the composition of methanol or other pollutants in CG is at acceptable levels, their use in ruminant feeding is considered safe (FDA, 2006). The most important factor limiting the use of CG in animal nutrition is the level of methanol present in it. Methanol in CG can be found up to 37.5%, depending on the method used during biodiesel production. While EFSA (2010) determined the upper limit of methanol in raw glycerin obtained from vegetable origin raw materials that can be used in feed as 0.2%, FDA (2006) determined the maximum upper limit of methanol in animal feed as 150 ppm. Methanol at the specified levels is considered extremely safe for ruminants as it is rapidly metabolized by the rumen flora to methane, carbon dioxide, and water. However, when more than the amount of methanol that can be metabolized in the rumen is consumed, severe effects such as a decrease in milk yield, anorexia, dullness, and sudden death could occur (Nazato et al., 2019). However, in studies where CG was used in animal diets, no toxic effects were reported due to high methanol levels in CG. In a study investigating the effect of crude glycerin containing 26.7% methanol in beef cattle, it was reported that there was no change in the nutrient digestibility and DM consumption of animals fed with 1.1 L/day CG compared to the control group (Schröder and Südekum, 1999). In another study, 12% CG (containing 8.7% methanol) was added to lamb diets, and no adverse effects were reported (Lage et al., 2014).

The second important pollutant in CG after methanol is sodium. Salt (NaCl), which is used as a catalyst in biodiesel production, can be found in CG at levels of up to 6.6% (Knothe et al., 2005). High sodium levels in the diet can be tolerated as long as the animal consumes sufficient amount of water; however, in some cases, it can negatively affect rumen fermentation and reduce appetite and energy use efficiency (Knothe et al., 2005). High dietary salt and sodium levels may cause electrolyte imbalances in animals and reduce the acceptability of the diet with CG. Ezequiel et al. (2015) indicated that diets containing 300 g/kg DM of CG increased the dietary content of NaCl by 500% and reduced feed intake of dairy cows.

CG can be obtained from any renewable biological oil source (such as vegetable oils or animal fats) consisting of triglycerides. However, as it is known, feeds of animal origin are prohibited in ruminant feeding due to their association with bovine spongiform encephalopathy. Hence, only CG obtained from vegetable oils can be used in the diet of ruminant animals.

Glycerol metabolism

In ruminants, most of the glycerol is fermented by rumen bacteria, mainly propionic acid and butyric acid. Whereas glycerol converted to butyrate is metabolized to β -hydroxybutyrate (BHBA) by the rumen epithelium (ketogenic), propionate can be directly absorbed from the rumen wall and participate in glucose synthesis in the liver (glycogenic). The low amount of glycerol that passes through the rumen and reaches the small intestine can be absorbed from there and used in glucose synthesis in the liver as a glycogenic substrate (Kholif, 2019). In the liver, glycerol is converted into triose phosphate and then to glucose via gluconeogenesis (Figure 1.) or catabolized by glycolysis (Carvalho et al., 2015). In a study examining the metabolic pathways of glycerol in rumen-cannulated cows, it has been reported that 25% of the glycerol entering the rumen is fermented in the rumen, 45% is absorbed by passive diffusion through the rumen wall, and 30% leaves the rumen through the omasal groove (Werner Omazic et al., 2015). In another study by Rémond et al. (1993) investigating glycerol metabolism in the rumen with cannulated cows, it has been reported that 32 g out of 250 g of glycerol ingested were passed to the omasum, 105 g were fermented, and 103 g were absorbed from the rumen wall. However, the mode of glycerol administration to the animal is another factor affecting the rumen metabolic pathway. It has been reported that a large quantity of glycerol is fermented in the rumen if administered as mixed diet, whereas most of it is absorbed from the rumen wall when administered as a drink (DeFrain et al., 2004).

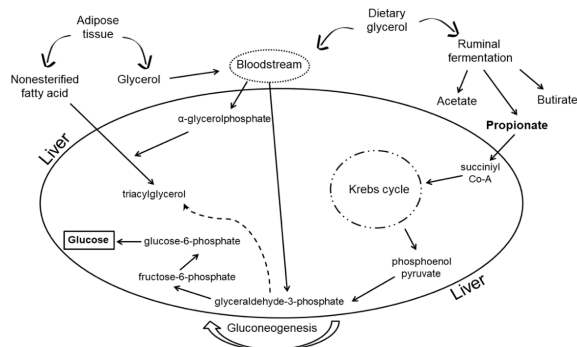


Figure 1. Metabolic pathway of glycerol and liver gluconeogenesis, modified from Kupczyński et al. (2020).

Effect of crude glycerin on dry matter intake and performance

The effects of CG on DM intake (DMI) and fattening performance vary depending on the degree of purity and the level at which it is added to the diet. In many studies, it has been reported that the use of CG at a level over 10% of the DM diet negatively affects DMI (Musselman et al., 2008; Gunn et al., 2010; Chanjula

et al., 2016). In related studies, it has been suggested that high levels of CG supplementation cause a decrease in DMI by negatively affecting rumen fermentation. Furthermore, it is suggested that glycerol fermentation increases propionate concentration in the rumen, and propionate at increased levels acts as a DMI inhibitor in ruminants (Allen, 2000). According to another hypothesis, CG increases the energy density in the diet by inducing a chemical feeling of satiety, and eventually, DMI is suppressed (Saleem and Singer, 2018). Fiorentini et al. (2018) stated that the DMI decrease might be related to the decrease in the taste of the diet due to the presence of impurities such as methanol in CG.

The effects of CG on daily body weight gain (DBWG) and feed conversion rate (FCR) are mostly compatible with that on DMI. Versemann et al. (2008) and Parsons et al. (2009) reported that the addition of CG up to a level of 10% in beef cattle diets increases DBWG and the addition of CG at levels over 10% caused a decrease in DBWG by suppressing DMI. In some studies using CG, an increase in fattening performance was observed despite the decrease in DMI. This situation generally occurs due to balancing of the decreasing DMI with a high metabolisable energy value and high nutrient digestibility in the glycerol groups (Saleem and Singer, 2018). Moore et al. (2011) observed a positive increase in DBWG and FCR in fattening cattle fed with diets containing CG at 0%, 3%, 6%, and 9% levels, although DMI decreased. In their study, Gunn et al. (2010) added 0%, 5%, 10%, 15%, and 20% CG to lamb diets, and they associated the increase in DBWG, up to 15% CG addition to the increases in DMI, and the decrease in DBWG observed in the group with 20% CG to the decrease in DMI due to the decreased rumen fermentation. Consistent with this study, in a study where 0%, 15%, 30%, and 45% levels of CG were added to lamb diets, the addition of more than 15% CG to the diets was reported to negatively affect DMI, DBWG, and FCR (Musselman et al., 2008). In a study by Avila-Stagno et al. (2013), they added 0%, 7%, 14%, and 21% CG to lamb diets and reported that DMI and DBWG were decreased, although no significant effect was observed in FCR at a level of over 7% CG addition.

In general, current studies report that the addition of CG up to levels of 10%–15% does not harm fattening performance; however, its use above these levels damages rumen fermentation.

Effect of crude glycerin on nutrient digestibility

CG can adversely affect cellulose digestion by suppressing cellulolytic bacterial activity in the rumen. Paggi et al. (1999) reported that as the *in vitro* glycerol concentration in rumen culture increased from 50 to 300 mM, the cellulolytic activity decreased by 8–15%. El-Nor et al. (2010) investigated the effect of

different levels of glycerol (0, 36, 72, and 108 g glycerol/kg DM) on bacteria by measuring the DNA concentrations of some bacteria in *in vitro* culture of rumen samples. They observed that the number of cellulolytic bacteria (*Butyrivibrio fibrisolvens* and *Selenomonas ruminantium*) decreased in diets containing 72 g and 108 g glycerol. However, it has been reported that increased glycerol amount has no effect on acid detergent fiber (ADF) digestibility, and it negatively affects neutral detergent fiber (NDF) digestibility. In studies by Chanjula et al. (2014) and Lage et al. (2017), respectively, on beef cattle diets containing CG up to 20 and 10%, CG level did not have a significant effect on DM, crude protein (CP), crude fat, NDF, and ADF digestibility. On the other hand, in a study by Ribeiro et al. (2018) in which 0, 7, 14, and 21% CG was added to lamb diets, they reported that the digestibility of DM, CP, and NDF decreased in proportion to the increasing amount of CG.

Literature survey reveals that high CG level in ruminant diets suppresses the activity of cellulolytic bacteria. In this context, it should be considered that the use of glycerol, especially in concentrate diets, may create an unsuitable environment for cellulolytic bacterial species and may adversely affect NDF and ADF digestion.

Effect of crude glycerin on ruminal fermentation

Ruminal pH

The diet composition of ruminants is the most important factor that shapes the microbial flora and fermentation parameters in the rumen (Kaya, 1997). High starch diets decrease ruminal pH by increasing the amount of lactate produced by homolactic species such as *Streptococcus bovis* and *Selenomonas spp.*, thereby promoting their growth. Glycerol is metabolized in the rumen mainly by lactate-metabolizing bacteria. Thus, lactate can be removed from the rumen environment, and the decrease in ruminal pH can be prevented. However, there are conflicting reports about ruminal pH findings in studies using CG. Van Cleef et al. (2018) reported that the ruminal pH increased with increasing levels of CG in lamb diets; Chanjula et al. (2014) reported that CG addition does not affect ruminal pH; whereas Lage et al. (2017) reported that ruminal pH decreases with the addition of CG. The differences between the ruminal pH values obtained in the related studies are believed to be caused by diet composition rather than CG levels.

Ruminal ammonia nitrogen

Paggi et al. (1999) determined that glycerol reduced the proteolytic activity in rumen fluid by 20% and suggested that it may also decrease the ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ level. Consistent with this study, Wang et al. (2009) reported that the ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration de-

creased in parallel with the increase in the CG ratio in beef cattle diets. Syahniar et al. (2016) reported that ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ level decreased with the increase in the glycerol level in the diet, and this situation may be caused by lower levels of proteolytic and/or deaminating activity during ruminal fermentation. Kijora et al. (1998) found that the addition of glycerol at the level of 10% of the DM in the diet to rumen and duodenal cannulated bulls reduced the total $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration and the proportion of bacterial nitrogen in the rumen. Chanjula et al. (2014) reported that CG added to goat diets at a rate of 20% decreased the ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration. However, El-Nor et al. (2010) did not find a significant change in the $\text{NH}_3\text{-N}$ concentration between the groups in their study in which they added different levels of glycerol (0, 36, 72, and 108 g glycerol/kg DM) in *in vitro* fermenters.

Rumen microbial population and rumen volatile fatty acids

Glycerol is metabolized in the rumen mainly by *Megasphaera elsdenii*, *Streptococcus bovis*, and *Selenomonas ruminantium* (Hobson et al., 1997). *Selenomonas ruminantium* and *Streptococcus bovis* are the main fermenters of glycerol, and the main products of fermentation are propionate, lactate, succinate, and acetate. *Megasphaera elsdenii*, on the other hand, metabolizes the lactate formed by species such as *Streptococcus bovis* and *Selenomonas ruminantium* to propionate and butyrate with acrylate as an intermediate and indirectly takes part in glycerol metabolism (Shin et al., 2012). Therefore, as a result of the rumen metabolism of glycerol, the amount of propionate increases mainly in the rumen, whereas that of butyrate increases to a lesser extent. However, fermentation of glycerol in the rumen is largely dependent on the ratio of roughage to concentrate in the diet. For example, when high levels of carbohydrate sources such as easily fermentable starch are present in the diet, the contribution of the acrylate pathway is high, and when the level of cellulose in the diet is high (roughage-based diet), the contribution of the acrylate pathway is negligible (El-Nor et al., 2010). Hence, the increase caused by glycerol in the ratios of propionate and butyrate in concentrated feed diets in the rumen may be higher.

In many *in vivo* and *in vitro* studies investigating the effect of glycerol in ruminant feeding, an increase in the total volatile fatty acid (TVFA) levels, mainly those of propionic and butyric acid, and a decrease in acetate/propionate ratios were observed in glycerol fermentation (El-Nor et al., 2010). In addition, with the increasing amount of CG in the diet, there was an increase in butyric acid and valeric acid concentrations, although no difference was observed in iso-butyric and iso-valeric acid levels (Van Cleef et al., 2015). In a study in which CG was added to goat diets at 0, 5, 10, and 20% levels, there was no differ-

ence between the ruminal TVFA concentration and the molar ratios of butyrate and other volatile fatty acids (iso-butyrate, iso-valerate, valerate, and caproate). However, with increasing CG levels, a decrease in the molar ratio of acetate and an increase in that of propionate have been reported (Chanjula et al., 2014). In another study in which CG was added to lamb diets, a linear decrease was observed in total molar concentrations of TVFA, acetic, butyric, iso-butyric, and iso-valeric acids, whereas no change was observed in propionic and valeric acid levels (Van Cleef et al., 2018). In an *in vitro* study with experimental groups fed with diets containing 0, 10, and 30% CG on the DM basis, propionate and TVFA concentrations increased linearly in parallel with the increase in the amount of CG, whereas acetate, butyrate, iso-valerate, and acetate:propionate ratios were decreased (Benedeti et al., 2015).

Effect of crude glycerin on blood parameters

Glycerol is used as a glucose precursor in hepatic gluconeogenesis. Therefore, an increase in serum glucose concentration is expected as a result of the addition of CG to ruminant diets (Gunn et al., 2010). Chanjula et al. (2014) and Gomes et al. (2011) added CG to goat and lamb diets, respectively, and reported that there was no significant change in glucose levels between groups, although there was a numerical increase in serum glucose levels in parallel with the increasing CG level in the groups. Contrary to these studies, Gunn, Schultz, et al. (2010) reported a significant decrease in serum glucose concentrations with increasing glycerol levels in lamb diets. Researchers have reported that the unexpected decrease in blood glucose level due to glycerol supplementation may be due to the decrease in DMI. In contrast, in studies on lambs by Saleem and Singer (2018) and Terré et al. (2011), it was reported that CG does not affect serum total protein, albumin, globulin, total lipid, cholesterol, and glucose concentrations.

The effects of CG on serum glucose concentration are directly related to the mode of CG administration to animals. Linke et al. (2005) and Goff and Horst (2001) compared two different administration methods, namely glycerol as a drink and as an additive to feed, and reported that ingestion of glycerol by drinking was more effective in increasing plasma glucose and insulin concentrations, whereas the administration of glucose in the form of feed supplements increased blood BHBA levels. When glycerol is administered as a feed supplement, it gets fermented to butyrate, which has a ketogenic nature in the rumen, and therefore glycerol may show a ketogenic effect rather than a glycogenic effect. However, the rumen fermentation of glycerol administered via drench is more limited, and glycerol, which reaches the intestines bypassing the rumen without being converted to butyrate, is absorbed from the intestine and used as

an effective glycogenic substrate in the liver (Linke et al., 2005).

Previous reports support that administration of CG to animals via the drench route is the most effective in increasing serum glucose levels. Therefore, drench glycerol application may be advantageous for dairy cows that experience ketosis as a result of negative energy balance during the transition period.

Effect of crude glycerin on meat fatty acid composition

After understanding the beneficial effects of polyunsaturated fatty acids (PUFA) on human health in recent years, it is aimed to increase the polyunsaturated/saturated fatty acid ratio (PUFA/SFA) in ruminant meat and dairy products with various dietary modifications. Ruminants transform the dietary unsaturated fatty acids into SFAs by hydrogenating them using the biohydrogenation (BH) mechanism in their rumen. Glycerol has the potential to inhibit the lipolysis stage, which is the preliminary stage of BH (Edwards et al., 2012). With this effect of glycerol that disrupts the BH mechanism, and more PUFA flow occurs from the rumen to the abomasum. With the increase in the amount of PUFA that passes from the rumen without hydrogenation, the availability of PUFAs in meat and dairy products derived from the animal could increase.

Based on the suppressive effect of glycerol on BH, it has been hypothesized that CG supplementation may increase the amount of PUFA in ruminant products. Terré et al. (2011) investigated the effect of 0, 5, and 10% CG addition to lamb diets on the fatty acid profile of lamb meat. They reported that although CG did not affect the levels of PUFA, SFA, and n-6/n-3 ratio in meat, the amounts of C12:0 and C17:0 fatty acids were higher, and that of C18:1 fatty acid was lower in the groups that were administered glycerol. Avila-Stagno et al. (2013) added CG to lamb diets at levels of 0, 7, 14, and 21%, reported that linoleic acid (C18:2 n-6) percentage in total fatty acids (TFAs) in meat decreased linearly with increasing glycerol concentration, whereas that of α -linolenic acid (C18:3 n-3) did not change. Additionally, among SFAs, the level of palmitic acid (C16:0), which leads to cholesterol accumulation in humans (Carvalho et al., 2015), was reported to decrease and those of stearic acid (18:0), which has no adverse effects on cholesterol accumulation, and oleic acid (C18:1), which is associated with the concentrations of cholesterol (high-density lipoprotein) known as beneficial cholesterol in humans, were reported to increase. Carvalho et al. (2015) supplemented lamb diets with 0, 7.5, 15, 22.5, and 30% CG and reported that CG decreased stearic, palmitic, transvaccenic, and total SFA percentage in TFAs in meat, while increased odd-chain fatty acids, oleic, palmitoleic, total unsaturated, and monoun-

saturated fatty acids percentage. Borghi et al. (2016) added 0, 10, and 20% CG to lamb diets, and they did not observe any significant changes in other fatty acids, except for an increase in margaric acid percentage in TFAs in meat. Fiorentini et al. (2018) supplemented beef cattle diets with soybean oil and CG. They found that animals given soybean oil incorporated 32% more linoleic acids and 40% more conjugated linoleic acids into their muscles than those given CG.

Effect of crude glycerin on lactation performance and milk composition

Because CG increases the density of energy in a lactating animal's diet, it may improve lactation performance (Kholif, 2019). Lomender et al. (2012) observed an enhanced milk yield in cows supplemented with 450 g glycerol/day. Also, Thoh et al. (2017) reported that increasing CG supplementation from 0 to 5% of DM in goats' diet increased milk yield from 2.38 to 2.64 kg/goat/day. Inconsistent with these findings, in a study by Ezequiel et al. (2015), in which 0, 15, and 30% CG was added to dairy cow diets, they reported that DMI and milk yield decreased numerically in proportion to the increasing amount of CG. They also indicated that feeding diets that replace corn with crude glycerin at 30% of dietary DM significantly reduced animal performance. Similarly, Pavia et al. (2016) added 0, 70, 140, and 210 g of CG/kg DM to lactating cows' diets and observed a linear decrease in DMI (15%) and milk yield (3.1 kg/day) as the glycerol content in the diet increased. The authors described CG's negative effects on animal performance in four ways: 1) the impurities in CG, such as methanol and salts (Ezequiel et al., 2015), 2) the rate at which glycerol is fermented in the rumen (Rémond et al., 1993), 3) the rumen epithelium's ability to absorb glycerol to be metabolized in the liver (Krehbiel, 2008), 4) increasing the production of Krebs cycle intermediates that stimulating satiety (Allen, 2000).

Several studies indicated that the addition of glycerol to ruminant diets depressed milk fat yield and milk fat content (Ezequiel et al., 2015; Thoh et al., 2017; Freitas et al., 2020). The main lipogenic precursor in the mammary gland is acetate, and it is absorbed and incorporated into milk fat. As previously stated, glycerol increases ruminal propionate concentration and decreases the acetate/propionate ratio, which may be the primary cause of milk fat depression (Kholif, 2019). On the other hand, glycerol feeding can improve milk protein synthesis by increasing dietary energy and blood insulin levels (Willbert et al., 2013). Insulin has been shown to play an important role in the synthesis of milk protein in dairy cows (Hurley et al., 2012). Another factor that might be related to the increase in milk protein content is the greater production of propionate in the rumen. The

increase of propionate in the rumen decreases the use of gluconeogenic amino acids for glucose synthesis or oxidation for energy production, allowing it to be used for protein synthesis in the mammary gland.

Ruminant milk fat is a major source of odd-chain fatty acids (OCFAs), which are primarily produced by rumen microorganisms. Glycerol can stimulate the production of OCFAs by increasing the available primers (e.g., propionate) for rumen microorganisms. Ezequiel et al. (2015) reported that OCFAs and conjugated linoleic acid in milk fat increased linearly with the addition of CG to cow diets. On the other hand, adding CG to ruminant diets can increase beneficial fatty acids like unsaturated fatty acids (UFA) and biohydrogenation intermediates (trans-11 C18:1 and cis-9 C18:1) in milk because glycerol inhibits rumen biohydrogenation. Freitas et al. (2020) observed that supplementing lactating goats' diets with CG at 0, 7, 14, and 21% of dietary DM linearly increased UFA, UFA/SFA, and cis-9, C18:1 while linearly decreasing SFA concentration in milk.

Conclusion

With the rapid surge in global biodiesel production, the surplus amounts of CG obtained as a byproduct threatens the sustainability of the biodiesel sector by causing environmental concerns. Meanwhile, the animal feed sector is under pressure due to food-feed competition and food security discussions associated with the intensive use of grain. Therefore, the effective utilization of CG as an alternative to grains in ruminant feed is strategically important in alleviating environmental problems and improving the profitability of both sectors. In conclusion, CG can be used in ruminant diets at levels of 10-15% of DM without adversely affecting the performance. However, elucidating the level of impurities and glycerol in CG is critical in determining the optimal level of CG to be added to the diet without adversely affecting performance, nutrient digestion, and rumen fermentation. Moreover, although there is a limited number of studies investigating the effects of CG on meat fatty acid profile, current literature data support that CG supplementation partially increases the levels of beneficial fatty acids in meat.

References

- Allen MS. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 2000; 83(7): 1598-624.
- Avila-Stagno J, Chaves AV, He ML, Harstad OM, Beauchemin KA, McGinn SM, McAllister TA. Effects of increasing concentrations of glycerol in concentrate diets on nutrient digestibility, methane emissions, growth, fatty acid profiles, and carcass traits of lambs. *J Anim Sci* 2013; 91(2): 829-37.

- Benedeti PDB, Silva, LG, Paula EM, Shenkoru T, Marcondes MI, Monteiro HF, Amorati B, Yeh Y, Poulson SR, Faciola AP. Effects of partial replacement of corn with glycerin on ruminal fermentation in a dual-flow continuous culture system. *PLoS One* 2015; 10(11): e0143201.
- BSD. Biodiesel production of Turkey. <http://www.biyodizel.org.tr>; Accessed Date: 15.03.2021.
- Borghini TH, Silva Sobrinho AGD, Zeola NMBL, Almeida, FAD, Cirne LGA, Lima ARC. Dietary glycerin does not affect meat quality of Ile de France lambs. *R Bras Zootec* 2016; 45: 554-62.
- Carvalho VB, Leite RF, Almeida MT, Paschoaloto JR, Carvalho EB, Lanna DPD, Perez HL, Van Cleef EH, Homem Junior AC, Ezequiel JM. Carcass characteristics and meat quality of lambs fed high concentrations of crude glycerin in low-starch diets. *Meat Sci* 2015; 110: 285-92.
- Chanjula P, Pakdeecheuan P, Wattanasit S. Effects of dietary crude glycerin supplementation on nutrient digestibility, ruminal fermentation, blood metabolites, and nitrogen balance of goats. *Asian-Aust J Anim Sci* 2014; 27(3): 365-74.
- Chanjula P, Pongprayoon S, Kongpan S, Cherdthong A. Effects of crude glycerin from waste vegetable oil supplementation on feed intake, ruminal fermentation characteristics, and nitrogen utilization of goats. *Trop Anim Health Prod* 2016; 48(5): 995-1004.
- DeFrain JM, Hippen AR, Kalscheur KF, Jardon PW. Feeding glycerol to transition dairy cows: effects on blood metabolites and lactation performance. *J Dairy Sci* 2004; 87(12): 4195-206.
- Edwards HD, Anderson RC, Miller RK, Taylor TM, Hardin MD, Smith SB, Krueger NA, Nisbet DJ. Glycerol inhibition of ruminal lipolysis in vitro. *J Dairy Sci* 2012; 95(9): 5176-81.
- Elmalı DA, Demir P, Kaya I. Cost-benefit analyses of feeding with different concentrate feeds in Tuj (Tushin) lambs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010; 16(5): 771-5.
- EFSA. Scientific Opinion on the abiotic risks for public and animal health of glycerine as co-product from the biodiesel production from animal by-products (ABP) and vegetable oils. *EFSA J* 2010; 8: 1934.
- El-Nor SA, Abu-Ghazaleh AA, Potu RB, Hastings D, Khattab MSA. Effects of differing levels of glycerol on rumen fermentation and bacteria. *Anim Feed Sci Technol* 2010; 162(3-4): 99-105.
- Ezequiel JMB, Sančanari JBD, Machado Neto OR, da Silva ZF, Almeida MTC, Silva DAV, van Cleef FOS, van Cleef EHCB. Effects of high concentrations of dietary crude glycerin on dairy cow productivity and milk quality. *J Dairy Sci* 2015; 98(11): 8009-17.
- FDA. Code of Federal Regulations Title 21. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=582.1320>; Accessed Date: 10.03.2021.
- Fiorentini G, Messana JD, José Neto AJ, Sgobi EG, Castagnino PS, Berchielli TT. Performance and meat quality of Nelore bulls fed crude glycerin combined with soybean oil. *Anim Feed Sci Technol* 2018; 241: 45-54.
- Freitas NE, Araújo MJ, Oliveira RL, Lanna DPD, Marques CAT, Torreão JNC, Santos JB, Silva Júnior JM, Edvan RL. Production, composition, fatty acid profile and sensory traits of milk from goats fed crude glycerin from waste frying oils used in biodiesel production. *Livest Sci* 2020; 238: 104060.
- Goff J, Horst R. Oral glycerol as an aid in the treatment of ketosis/fatty liver complex. *J Dairy Sci* 2001; 84.
- Gomes MAB, Moraes GVD, Mataveli M, Macedo FDAFD, Carneiro TC, Rossi RM. Performance and carcass characteristics of lambs fed on diets supplemented with glycerin from biodiesel production. *Rev Bras Zootec* 2011; 40(10): 2211-9.
- Gunn PJ, Schultz AF, Van Emon ML, Neary MK, Lemenager RP, Rusk CP, Lake SL. Effects of elevated crude glycerin concentrations on feedlot performance, carcass characteristics, and serum metabolite and hormone concentrations in finishing ewe and weather lambs. *Prof Anim Sci* 2010; 26(3): 298-306.
- Hobson PN, Stewart CS. The rumen microbial ecosystem. Stewart CS, Flint HJ, Bryant MP. eds. In: *The Rumen Bacteria*. Berlin: Springer, Dordrecht, 1997; pp. 10-72.
- Hurley W. Milk protein. Bionaz M, Hurley W, Looor J. eds. In: *Milk Protein Synthesis in The Lactating Mammary Gland: Insights from Transcriptomics Analyses*. Rijeka: InTech, 2012; pp. 285-322.
- Kaya I. The effects of rations containing different amounts of common vetch seed on growth performance, digestibility and some blood and rumen metabolites in male lambs, Doctoral thesis, Ankara Univ Sag Bil Ens, Ankara 1997; p. 54-55.
- Kholif AE. Glycerol use in dairy diets: A systemic review. *Anim Nutr* 2019; 5(3):209-16.

- Kijora C, Bergner H, Götz KP, Bartelt J, Szakács J, Sommer A. Research note: Investigation on the metabolism of glycerol in the rumen of bulls. *Arch Anim Nutr* 1998; 51(4): 341-8.
- Knothe G, Van Gerpen JH, Krahl J. The biodiesel handbook. Champaign, IL: AOCS press, 2005.
- Krehbiel CR. Ruminant and physiological metabolism of glycerin. *J Anim Sci* 2008; 86(2): 392.
- Kupczyński R, Szumny A, Wujcikowska K, Pachura N. Metabolism, ketosis treatment and milk production after using glycerol in dairy cows: A review. *Animals* 2020; 10(8): 1379.
- Lage JF, Paulino PV, Pereira LG, Duarte MS, Valadares Filho SC, Oliveira AS, Souza NK, Lima JC. Carcass characteristics of feedlot lambs fed crude glycerin contaminated with high concentrations of crude fat. *Meat Sci* 2014; 96(1): 108-13.
- Lage JF, San Vito ES, Reis RDA, Delevatti LM, Pierre NS, Berchielli TT. Ruminant fermentation of Nellore steers fed crude glycerine replacing starch vs. fibre-based energy ingredient in low or high concentrate diets. *Acta Sci Anim Sci* 2017; 39(1): 57-64.
- Linke P, DeFrain J, Hippen A, Jardon P. Ruminant and plasma responses in dairy cows to drenching or feeding glycerol. *Am J Undergrad Res* 2005; 3(1): 8.
- Lomander H, Frössling J, Ingvarsten KL, Gustafsson H, Svensson C. Supplemental feeding with glycerol or propylene glycol of dairy cows in early lactation-effects on metabolic status, body condition, and milk yield. *J Dairy Sci* 2012; 95(5): 2397-408.
- Moore JP, Furman SA, Erickson Erickson G, Vasconcelos J, Griffin WA, Milton T. Effects of glycerin in steam flaked corn feedlot diets. *Nebraska Beef Cattle Report* 615; 2011.
- Musselman A, Van Emon M, Gunn P, Rusk C, Neary M, Lemenager R, Lake S, 2008. Effects of crude glycerin on feedlot performance and carcass characteristics of market lambs. *Am Soc Anim Sci West Sect Proc* 59, 353-5.
- Nazato C, Romero ADC, Abdalla AL. Determination of methanol residues in crude glycerol for animal feed by gas chromatography. *Sci Agric* 2019; 76(6): 527-31.
- OECD/FAO. OECD-FAO Agricultural Outlook 2020-2029. Paris: Rome/OECD Publishing, 2020; p.199.
- Paggi RA, Fay JP, Fernández HM. Effect of short-chain acids and glycerol on the proteolytic activity of rumen fluid. *Anim Feed Sci Technol* 1999; 78(3-4): 341-7.
- Parliament Regulation (EU). 2030 climate & energy framework. https://ec.europa.eu/clima/policies/strategies/2030_en; Accessed Date: 10.03.2021.
- Parsons GL, Shelor MK, Drouillard JS. Performance and carcass traits of finishing heifers fed crude glycerin. *J Anim Sci* 2009; 87(2): 653-7.
- Paiva PG, Del Valle TA, Jesus EF, Bettero VP, Almeida G, Bueno ICS, Bradford BJ, Renno FP. Effects of crude glycerin on milk composition, nutrient digestibility and ruminal fermentation of dairy cows fed corn silage-based diets. *Anim Feed Sci Technol* 2016; 212:136-42.
- Ribeiro RDX, Carvalho GGP, Silva TM, Costa JB, Bezerra LR, Cambuí GB, Barbosa AM, Oliveira RL. Effects of crude glycerin from biodiesel on the diets of lambs: intake, digestibility, performance, feeding behavior, and serum metabolites. *J Anim Sci* 2018; 96(5): 1952-61.
- Rémond B, Souday E, Jouany J. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Anim Feed Sci Technol* 1993; 41(2): 121-32.
- Saleem AM, Singer AM. Growth performance and digestion of growing lambs fed diets supplemented with glycerol. *Animal* 2018; 12(5): 959-63.
- Schröder A, Südekum KH. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. Tenth international Rapeseed Congress. September, 26-29, 1999; Canberra-Australia.
- Shin JH, Wang D, Kim SC, Adesogan AT, Staples CR. Effects of feeding crude glycerin on performance and ruminal kinetics of lactating Holstein cows fed corn silage-or cottonseed hull-based, low-fiber diets. *J Dairy Sci* 2012; 95(7): 4006-16.
- Syahniar TM, Ridla M, Samsudin AA, Jayanegara A. Glycerol as an energy source for ruminants: a meta-analysis of in vitro experiments. *Media Peternakan* 2016; 39(3): 189-94.
- Şahin T, Kaya Ö, Elmali DA, Kaya I. Effects of dietary supplementation with distiller dried grain with solubles in growing lambs on growth, nutrient digestibility and rumen parameters. *Revue Med Vet* 2013; 164: 173-8.
- Terré M, Nudda A, Casado P, Bach A. The use of glycerine in rations for light lamb during the fattening period. *Anim Feed Sci Technol* 2011; 164(3-4): 262-7.
- Thoh D, Pakdeechanuan P, Chanjula P. Effect of supplementary glycerin on milk composition and heat stability in dairy goats. *Asian-Australas J Anim*

Sci 2017; 30(12): 1711-7.

Van Cleef EHCB, Almeida MTC, Perez HL, Van Cleef FOS, Silva DAV, Ezequiel JMB. Crude glycerin changes ruminal parameters, in vitro greenhouse gas profile, and bacterial fractions of beef cattle. *Livest Sci* 2015; 178: 158-64.

Van Cleef EHCB, Almeida MTC, Perez HL, Paschoaloto JR, Filho ESC, Ezequiel JMB. Effects of partial or total replacement of corn cracked grain with high concentrations of crude glycerin on rumen metabolism of crossbred sheep. *Small Rumin Res* 2018; 159:45-51.

Verseman BA, Wiegand B, Kerley M, Porter J, Roberts K, Evans H. Dietary inclusion of crude glycerol changes beef steer growth performance and intramuscular fat deposition. *J Anim Sci* 2008; 86: 478.

Wang C, Liu Q, Yang WZ, Huo WJ, Dong KH, Huang YX, Yang XM, He DC. Effects of glycerol on lactation performance, energy balance and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Anim Feed Sci Technol* 2009; 151(1-2): 12-20.

Werner Omazic A, Kronqvist C, Zhongyan L, Martens H, Holtenius K. The fate of glycerol entering the rumen of dairy cows and sheep. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2015; 99(2): 258-64.

Wilbert CA, Prates ÊR, Barcellos JOJ, Schafhäuser J. Crude glycerin as an alternative energy feedstuff for dairy cows. *Anim Feed Sci Technol* 2013;183(3-4): 116-23.

Yazım Kuralları

1. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde veteriner bilimlerini ilgilendiren alanlarda orijinal araştırmalar, olgu sunumları, araştırma notları, kısa bildiri, derleme ve editöre mektup yayımlanır.
2. Dergide yayımlanacak yayınlar için resmi dil Türkçe'dir. İngilizce yazılmış eserler de yayımlanabilir. **İngilizce hazırlanmış makalelerin yayımlanmasına öncelik verilir.**
3. Yayınlar A4 tipi formatta, çift aralık, Arial, 10 punto ve iki yana yaslı olarak yazılmalıdır. Her kenardan 2.5 cm boşluk bırakılarak, sayfaların sağ altına numara verilmelidir. Resimler, şekiller ve kaynaklar dâhil orijinal makaleler ve derlemeler 14, olgu sunumları, araştırma notu ve kısa bildiriler 7 sayfayı geçmemelidir.
4. Yazılar, ercvet@gmail.com adresine gönderilmelidir. Yazışmalar için, makale kapak sayfasında, sorumlu yazarın yazar adı, unvanı, ORCID numarası ve E-posta adresi yazılmalıdır.
5. Daha önce kongrelerde tebliğ edilmiş ve özeti yayımlanmış çalışmalar, bu durum kapak sayfasında belirtilmek üzere kabul edilir.
6. Araştırma herhangi bir kuruluş tarafından desteklenmiş ise kapak sayfasında dipnot olarak belirtilir.
7. Kapak sayfasında Türkçe makale başlığı (koyu ve ilk harfleri büyük), İngilizce başlık (ilk harfler büyük), kısa başlık (40 karakteri geçmemeli ve ilk kelimenin ilk harfi büyük, diğerleri küçük olarak yazılmalıdır), yazar adları (unvansız), çalıştıkları kuruma ait bilgiler (soyadı üstüne numara konulup dipnot olarak) verilmelidir.
8. Türkçe ve İngilizce özetlerin bir sonraki sayfaya yazılması gerekir. Bu sayfa, paragrafsız olarak Türkçe ve İngilizce özetleri (en fazla 250 kelime) içermelidir. Anahtar kelimeler özetlerin altına alfabetik olarak (virgülle ayrılmış şekilde) yazılmalıdır. Yalnızca ilk anahtar kelime büyük harfle başlamalıdır. **Türkçe Bilmeyen yazarlar için Türkçe özet ve anahtar kelimeler yazma zorunluluğu bulunmamaktadır.**
9. Araştırma makalesi; Kapak Sayfası - Özet (Türkçe ve İngilizce) - Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Sonuç, Teşekkür, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller, Sorumlu yazar (Correspondence Author) bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir. Metin içindeki tüm başlıklar koyu yazılmalıdır. Metin içinde paragraf girintisi yapılmamalı, devamlı satır numarası verilmelidir.
10. Derlemeler, orijinal olması, en son yenilikleri içermesi, yazarların konu ile doğrudan ilişkili **en az 3 adet** çalışmalarının olması ve bunların derleme içinde kullanılması durumunda yayımlanmak üzere kabul edilebilecektir. Derlemeler kapak sayfası, Özet (Türkçe ve İngilizce), Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, konunun kendine ait alt başlıkları, Sonuç, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller ve Sorumlu yazar (Correspondence) bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir.
11. Olgu Sunumları, Özet (Türkçe ve İngilizce), Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, Olgu(lar), Tartışma ve Sonuç, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller ve Sorumlu yazar bölümlerini içermelidir.
12. Etik kurul onayı gerektiren çalışmalarda Etik Kurul onayı alınan kurumun adı ve onay numarası, çalışmanın Gereç ve Yöntem kısmında belirtilmelidir.
13. Tablo ve şekillerin metinde geçeceği yer, altı ve üstü çizgili olarak belirtilmelidir.
14. Ondalık ifadelerde nokta kullanılmalıdır.
15. Tür isimleri ve anatomik terimler gibi Latince ifadeler *italik* karakterle yazılmalıdır. Tüm ölçü birimleri SI (*Système Internationale*)'e göre verilmelidir.
16. Tablolar kaynaklar kısmından sonra, her bir tablo ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tablo başlıklarının yalnızca ilk harfleri büyük olmalıdır. Tablo başlıkları tablonun üzerinde bulunmalı ve **Tablo 1.** şeklinde numaralandırılmalıdır. Tablolarda iç ve yan kılavuz çizgiler kullanılmamalıdır. Tanımlayıcı bilgi ve açıklamalar tabloların altına yerleştirilmelidir.
17. Her resim, grafik ve çizim; şekil olarak kabul edilip **Şekil 1.** gibi yazılmalı, her biri ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tanımlayıcı bilgi ve açıklamalar şekil ismi ile birlikte şeklin altına yerleştirilmelidir. Resimler 300dpi çözünürlükte olmalıdır.
18. Kaynaklar metin içinde cümle sonunda belirtilmelidir. Yazar soy isimleri ve tarihi yazı içinde her kaynağa ait yayın yılı yazar isminden hemen sonra parantez içinde belirtilmelidir. Kaynak iki isimli ise isimler belirtilmeli (örn; Kaldhone ve Nayak, 2008). Kaynakta yazar sayısı ikiden fazla ise sorumlu yazar "ve ark." şeklinde belirtilmelidir (örn, Kaldhone ve ark., 2008). Eğer kaynak cümlenin başında kullanılıyorsa yazar isimlerinden sonra parantez içinde yayın yılı belirtilmelidir.
19. Kaynaklar yazılırken alfabetik sıraya konulmalı, kaynaklar bölümünde 0.5 cm içeri doğru asılı halde yazılmalıdır. Noktalama işaretlerine örneklerde gösterildiği şekilde dikkat edilmelidir. Dergi kısaltmaları *Index Medicus* ile uyum içerisinde olmalıdır. **Orijinal araştırma makaleleri, derlemeler ve olgu sunumları sırasıyla 30, 45 ve 15'ten fazla kaynak içermemelidir.**
Kaynaklar;
19.1. Kaynak süreli yayın ise;
Örnek: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaid DE, McDermott PF. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from Turkey-associated sources. Appl Environ Microbiol 2008; 74(16): 5038-46.
19.2. Kaynak editörlü kitaptan bir bölüm ise;
Örnek: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Kruisbeek AM, Marguiles DH. eds. In: Current Protocols in Immunology. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
19.3. Kaynak kitap ise;
Örnek: Fleiss JL. Statistical Methods for Rates and Proportions. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103.
19.4. Kaynak editörlü kitap ise;
Örnek: Balows A, Mousier WJ, Herramafli KL, eds. Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
19.5. Kaynak kongre bildirisi ise;
Örnek: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; İzmir-Türkiye.
19.6. Kaynak tez ise;
Örnek: Erdem V. Köpek göz hastalıklarında klinik oftalmoskopik ve ultrasonografik bulguların değerlendirilmesi, Doktora tezi, Ankara Üniv Sağ Bil Ens, Ankara 2003; s. 1-2.
19.7. Kaynak internette bulunan bir web sitesi ise;
Örnek: TÜİK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/hayvancilik.app/hayvancilik.zul>; Accessed Date: 14.03.2010.
20. Eserler dergide yayımlandıktan sonra, bütün sorumluluk sahiplerine aittir.
21. Yazılar gönderilirken son kontrol listesi izlenecek ve "Telif Hakkı Devir Formu" tüm yazarlarca isim sırasına göre imzalanacaktır. **Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmayan yayınlar işleme alınmayacaktır.**

Instructions to Authors

1. The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University publishes original research articles, short communications, case reports, letter to editor and original review articles related to the field of Veterinary Medicine.
2. Formal language of manuscripts is Turkish. Manuscripts in English are also accepted. **The publication of English-language manuscripts is given priority.**
3. Publications should be in A4 format, double spacing and Arial 10 font size. With a margin of 2.5 cm from each edge, the page number should be placed at the bottom right of the pages. Original articles and reviews should not exceed 14 pages and case reports, research notes and short papers should not exceed 7 pages including illustrations, figures and references.
4. Manuscripts should be sent to ercvet@gmail.com. For correspondence, author's name, title, ORCID number, and E-mail address should be written on cover page of the manuscripts.
5. Studies were presented in a meeting and published as an abstract can be published with indication of this status at the bottom of the cover page.
6. Information should be included on any institutions financially contributed to the study as a footnote on the cover page.
7. The cover page should be supplied as a separate page and include: Turkish running title (bold and first letters capital), English title (first letters capital), short title (max 40 characters and first letters of first word is capital, others should be written as small), author(s) names (without titles), author(s) affiliations (Superscript numbers should be given to the surnames of authors as affiliation information).
8. The summaries in Turkish and English should be written on the next page. The title page must contain the Turkish and English summaries (up to 250 words) with no paragraph and not more than five Key words in Turkish and English. Key words must be placed below summary with an alphabetical order (comma delimited). Only the first Key word must start with a capital letter. **For non-Turkish authors, there is no obligation to write summary and keywords in Turkish.**
9. Original research paper must be organized as follows: Cover page, Summary (Turkish and English), Key words (Turkish and English), Introduction, Material and Methods, Results, Discussion and Conclusion, Acknowledgements, References, Tables and Figures and Correspondence. All titles in the text should be written in bold. There should be no paragraph indent in the text and continuous line number should be given.
10. Review articles are considered for publications if they are original and contain recent developments and accepted for publication if the authors have **at least 3 papers** directly related to the subject. Reviews must be organized as follows: Summary (Turkish and English), Key Words (Turkish and English), Introduction, Sub-headings of the subject, Conclusion, Acknowledgements, References, Tables and Figures and Correspondence.
11. Case reports must be organized as follows: Summary (Turkish and English), Key Words (Turkish and English), Introduction, Case(s), Discussion and Conclusion, Acknowledgements, References, Tables and Figures and Correspondence.
12. In the studies requiring the ethics approval, the name and approval number of the institution of the Ethics Committee must be specified in the Materials and Methods section of manuscript.
13. The place where the tables and figures belong in the text should be indicated as underlined and upperlined.
14. Decimal expressions should be used in the dot.
15. Species names and anatomical terms in Latin should be italicized. All measurement specifications must follow the SI (Système Internationale) units.
16. Tables must be given in a separate page after the text. First letters of first word should be capital, others should be written as small in the headings of the tables. Title of tables and figures should be numbered in order as **Table 1**. Internal and lateral lines should not be used in the tables. Descriptive information and explanations should be placed below the tables.
17. Each picture, graphic and drawing; should be given as figure and should be written as **Figure 1**. Each one should be on a separate page. Descriptive information and explanations should be placed below the figures. Pictures should be the least 300dpi resolution.
18. References should be specified in the text at the end of the sentence. Author surnames and the date of publication should be specified in parentheses. If the reference has two names, the names should be given after the publication year (eg, Kaldhone and Nayak, 2008). If the reference has more than two names should be given as "et al.," (eg, Kaldhone et al., 2008). If the source is used at the beginning of the sentence, the year of publication should be specified in parentheses after the names of the authors.
19. References should be placed in alphabetical order and hanging 0.5 cm inwards in the references section. Punctuation should be taken into consideration as shown in the examples, Journal abbreviations must be in line with *Index Medicus*. **The reference list must not contain more than 30, 45, and 15 references for original research articles, reviews and case reports, respectively.**
References;
 - 19.1. If the reference is a periodical, citation must be done as shown below;
Example: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaidd DE, McDermott PF, Logue CM, Foley SL. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from turkey-associated sources. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74(16): 5038-46.
 - 19.2. If the reference is from chapter of a book with an editor, citation must be done as shown below;
Example: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Kruisbeek AM, Marguiles DH. eds. In: *Current Protocols in Immunology*. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
 - 19.3. If the reference is a book, citation must be done as shown below;
Example: Fleiss JL. *Statistical Methods for Rates and Proportions*. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103.
 - 19.4. If the reference is whole book with an editor, citation must be as below;
Example: Balows A, Mousier WJ, Herramafl KL, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
 - 19.5. If the reference is from meeting, citation must be done as shown below;
Example: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; Izmir-Türkiye.
 - 19.6. If the reference is from a thesis, citation must be done as shown below;
Example: Erakinci G. Investigation of Antibodies Against Parasites in Blood Donors. PhD Thesis. Ege Univ. Institute of Health Sciences. Parasitology Program, Izmir-Turkey, 1993.
 - 19.7. The reference is a website on the internet, citation must be done as shown below;
Example: TUIK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tujk.gov.tr/hayvancilik.app/hayvancilik.zul>; Accessed Date: 14.03.2010.
20. Once the studies one published in the journal, all the responsibility belongs to the authors.
21. The final checklist should be followed when submitting manuscripts and the "Copyright Release Form" must be signed by all authors in order. **Manuscripts which are not prepared in accordance with the "Instructions for authors" will not be processed.**

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ / JOURNAL OF FACULTY OF
VETERINARY MEDICINE, ERCIYES UNIVERSITY

Makale Türü/ Article Type:

.../.../20..

(...) Araştırma / Research (...) Derleme / Review (...) Kısa Bilimsel Çalışma / Short Communication

(...) Olgu Sunumu / Case Report (...) Editöre Mektup / Letter to Editor

Makale Başlığı/Article

Entitled:.....
.....
.....

Sayın Editör,

- Yayınlanması dileğiyle Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne gönderdiğimiz makalenin yazarları olarak;
- 1- Derginizde yayımlanmak üzere yollamış olduğumuz makalenin orijinal olduğunu; bilimsel ve etik sorumluluğunun bize ait olduğunu,
 - 2- Makalenin; daha önce yayımlanmadığını, derginizdeki değerlendirme sürecinde başka bir yayın organına yayımlanmak üzere gönderilmediğini ve gönderilmeyeceğini,
 - 3- Makalenin; kişilik ve telif haklarına aykırı kanun dışı maddeler içermediğini,
 - 4- Gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayımlandığı günden itibaren Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne ait olduğunu kabul ve beyan ederiz.

Dear Editor,

Here we affirm and warranty as the Author(s) of this manuscript submitted to Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University that;

- 1- The manuscript /We submitted to the Bulletin is original and responsibilities belong to us ethically and scientifically,
- 2- The manuscript has not been previously published, being considered for publication by any other journal and will not be submitted to any other journal for such review while under evaluation by this bulletin,
- 3- The manuscript contains no unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rights.
- 4- The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University reserves all rights with due corrections from the date it has been published onwards.

Yazar/ Yazarların Adı

Author's/Authors' Printed Name

1).....İmza/Signature:.....

2).....İmza/Signature:.....

3).....İmza/Signature:.....

4).....İmza/Signature:.....

5).....İmza/Signature:.....

Not/Note: Formu aşağıdaki adrese,e-mail ya da posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz./ Please send this form to the address below by e-mail, post or deliver personally.

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi / Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi Editörlüğü, 38039, Melikgazi-KAYSERİ / TÜRKİYE
Tel/Phone: 0352 339 94 84 Faks/Fax: 0352 337 27 40 e-posta/e-mail: ercvet@gmail.com

SON KONTROL LİSTESİ

Makalenizi göndermeden önce lütfen bu bölümdeki maddelerle karşılaştırma yapınız ve eksiklikleri gideriniz.

- Eksiksiz doldurulmuş ve bütün yazarlarca imzalanmış **“Telif Hakkı Devri Formu”** (<http://ercvet.gmail.com> adresinden ulaşabilirsiniz) makale ile birlikte gönderildi.
- Metnin tamamı çift aralıklı (5 mm) yazıldı (özetler, tablolar, şekil alt yazıları, kaynaklar v.d. dahil).
- Her bir kenarda 2,5 cm boşluk bırakıldı.
- Yazılar 10 punto (Arial) ile yazıldı.
- Satır numaraları verildi.
- Kapak sayfasında, makalenin başlığı (sadece yazım dilindeki) koyu (bold) yazıldı, kısa başlık eklendi.
- Kapak sayfasında, yazar isimleri açık olarak yazıldı (kısaltma yok).
- Kapak sayfasına dipnot (varsa) eklendi.
- Türkçe başlık yazıldı.
- Türkçe özet yazıldı.
- Türkçe anahtar kelimeler (alfabetik sıralı ve ilk kelimenin ilk harfi büyük diğerleri küçük harfle yazıldı) verildi.
- İngilizce başlık yazıldı.
- İngilizce özet yazıldı.
- İngilizce anahtar kelimeler verildi.
- Şekillerin orijinal halleri eklendi.
- Metin içinde şekiller ardışık numaralandı.
- Şekil boyutları min.=8x20; max.=16x20 cm.
- Metin içinde tablolar ardışık numaralandı.
- Tablo boyutları min.=8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Şekil ve tabloların metin içinde gelmesi istenilen yer belirtildi.
- Şekiller listesi ayrı bir sayfa olarak hazırlandı.
- Her şekil ayrı sayfaya yerleştirildi.
- Tablolar listesi ayrı bir sayfa olarak hazırlandı.
- Her tablo ayrı sayfaya yerleştirildi.
- Kaynaklar yazım kurallarına uygun yazıldı.
- Yazışma adresi verildi.

FINAL CHECKLIST

Before you submit your work, please take the time to be certain that your paper (and other writings as applicable) is in the correct format and that you have included everything necessary by checking it against this checklist.

- Copyright Release Form has been enclosed, completed and signed by all authors (<http://ercvet.gmail.com>).
- Entire paper has been 5 mm double-spaced (abstract, tables, captions/legends, references).
- Margins have been 2,5 cm each side.
- Font size has been 10 pt (Arial).
- Lines have been numbered.
- Title of the manuscript has been written bold and short title added on the cover page.
- Author(s) names have been fully written (not abbreviated) on the cover page.
- Footnote has been given on the cover page (if necessary)
- English title has been given.
- English summary has been given.
- English keywords have been given alphabetically.
- Turkish title has been given.
- Turkish summary has been given.
- Turkish keywords have been given alphabetically.
- Original figures have been enclosed.
- Original figures have been prepared correctly according to instructions.
- Figures have been referred to consecutively in the paper.
- Dimensions of figures have been min =8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Tables have been referred to consecutively in the paper.
- Dimensions of tables have been min =8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Figures and tables have been stated requiring put on the manuscript.
- Names of figures have been given on a separate page as figure list.
- Each figure has been given on a separate page.
- Names of tables have been given in a separate page as table list.
- Each table has been given on a separate page.
- References has been typed according to instructions.
- Corresponding address has been given.