

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 Dizini 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 : 2**

<http://ercivet.erciyes.edu.tr>

E-posta: [ercvet@gmail.com](mailto:ercvet@gmail.com)

**Baskı Tarihi:** Ağustos 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

<b>Assessment of Hematochemical Parameters and Canine Cognitive Dysfunction Rating Scale in Healthy Senior and Geriatric Dogs</b> .....	<b>83</b>
Sağlıklı Senior ve Geriatrik Köpeklerde Hematokimyasal Parametrelerin ve Köpek Bilişsel Disfonksiyon Derecelendirme Ölçeğinin Değerlendirilmesi <i>E. GÜLERSOY, S.S. İYİGÜN, H. GÜZELBEKTEŞ</i>	
<b>Buzağı Hastalıkları Üzerine Etkili Faktörlerin Sınıflandırılmasında Yapay Sinir Ağları, Rassal Orman Algoritması ve Lojistik Regresyon Analizi Performanslarının Karşılaştırılması</b> .....	<b>94</b>
Comparison of Artificial Neural Networks, Random Forest Algorithm and Logistic Regression Analysis Performances in Classification of Effective Factors on Calf Diseases <i>G. GÜNGÖR, A. AKÇAY, S. SARIÖZKAN, E. ÇELİK</i>	
<b>Farklı Dönemlerde Biçilen Korunga Kuru Otunun Kuzularda Besi Performansı Üzerine Etkileri</b> .....	<b>101</b>
Effects of Sainfoin Hay Harvested in Different Periods on Fattening Performance in Lambs <i>A. ÖZBİLGİN, R. GÜMÜŞ, B. COŞKUN</i>	
<b>Denizli ve Gerze Yerli Tavuk Irklarında TVB Lokusundaki Polimorfizmlerin Araştırılması</b> .....	<b>107</b>
Investigation of the TVB Locus Polymorphisms at Denizli and Gerze Native Chicken Breeds <i>D.D. İLHAN, M.KAYA</i>	
<b>Erciyes Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne 2019-2021 Yılları Arasında Getirilen Neonatal İshalli Buzağlarda Majör Enteropatojenlerin Yaygınlığının Araştırılması</b> .....	<b>113</b>
Investigation of the Prevalence of Major Enteropathogens in Neonatal Diarrheic Calves Brought to Erciyes University Animal Hospital between 2019-2021 years <i>G. EKİNCİ, E. TÜFEKÇİ, A.C. ONMAZ, M. ÇİTİL, İ. KELEŞ, V. GÜNEŞ,</i>	
<b>Effects of Food Restriction on PTGS2 and NRF2 Genes Expression Levels in Rat Testis</b> .....	<b>123</b>
Yem Kısıtlamasının Rat Testisinde PTGS2 ve NRF2 Genlerinin Ekspresyon Seviyelerine Etkileri <i>H. ÖZKAN, S. DALKIRAN, İ. KARAASLAN, U. KAYA, İ. ALAKUŞ, B. ÇAMDEVİREN, A. YAKAN</i>	
<b>Retrospective Evaluation of Pathological Lesions of the Oral Cavity in Dogs</b> .....	<b>129</b>
Köpeklerde Oral Kavitedeki Patolojik Lezyonlarının Retrospektif Değerlendirilmesi <i>H. ÖZTURK GURGEN, P.D. KECİCİ, K. SONMEZ, A. GUREL</i>	
<b>Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi (EÜVFD)'nin Bibliyometrik Analizi</b> .....	<b>136</b>
Bibliometric Analysis of Journal of Erciyes University Faculty of Veterinary Medicine <i>S. SARIÖZKAN, G. GÜNGÖR, M. KÜÇÜKOFLAZ</i>	

## DERLEMELER / REVIEW ARTICLES

<b>Sepsis Patogenezi, Tanı ve Tedavisi Sepsiste Oksidatif Stres ve Sepsis İnflamasyon İlişkisi, Sepsiste Deneysel Modeller</b> .....	<b>145</b>
Sepsis Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. Oxidative Stress in Sepsis and Sepsis Inflammation Relation. Experimental Models in Sepsis <i>E.N. ÜVENÇ, F. KOÇ</i>	
<b>MikroRNA Ekspresyon Profillemesinde Yaygın Kullanılan Normalizasyon Yaklaşımları</b> .....	<b>152</b>
Commonly Used Normalization Approaches in MicroRNA Expression Profiling <i>O. TURGUT, Ö. KORKMAZ AĞAOĞLU</i>	



**Assessment of Hematochemical Parameters and Canine Cognitive Dysfunction Rating Scale in Healthy Senior and Geriatric Dogs**

Erdem GÜLERSOY<sup>1,a</sup>, Süleyman Serhat İYİĞÜN<sup>2,b</sup>, Hasan GÜZELBEKTEŞ<sup>2,c</sup>

<sup>1</sup>Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Şanlıurfa-TURKEY

<sup>2</sup>Selçuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Konya-TURKEY

ORCID: <sup>a</sup>0000-0001-8511-0150; <sup>b</sup>0000-0002-3270-1931; <sup>c</sup>0000-0002-0227-0691

**Corresponding author:** Erdem GÜLERSOY; E-mail: egulersoy@harran.edu.tr

**How to cite:** Gülersoy E, İyigün SS, Güzelbekteş H. Assessment of hematochemical parameters and canine cognitive dysfunction rating scale in healthy senior and geriatric dogs. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2):83-93

**Abstract:** Aging is a process that includes natural and time-dependent changes in the body. Dogs whose quality of life is not adversely affected are classified as healthy elderly dogs. Behavioral and cognitive status should be taken into consideration together with blood analyzes in the health evaluation of old dogs. Therefore, it was aimed to evaluate hematochemical parameters and canine cognitive dysfunction (CCD) scale in 10 healthy senior (senior group, SG) and 14 healthy geriatric (geriatric group, GG) dogs in this study. No statistical difference was determined between the groups in the CBC analysis. In the blood gases analysis, pCO<sub>2</sub> (P=0.006), base excess (P=0.020) and HCO<sub>3</sub> (P=0.041) levels were found to be lower in GG compared to the SG. In serum biochemistry analysis, BUN (P=0.016) and GGT (P=0.003) levels were found to be higher whereas LDH (P=0.008) and triglyceride (P=0.003) levels were found to be lower in GG compared to SG. The total CCD scale score was 14.50 (12-23) in the SG and 50.50 (32-68) in the GG (P<0.001). In conclusion, differences in some parameters were determined as a result of blood gases and serum biochemistry analyzes between healthy senior and geriatric dogs, and it was concluded that routine hematochemical analyzes are important also in healthy elderly dogs. In addition, it was observed that the CCD scale scores of *Terriers* were higher in this study.

**Keywords:** Cognitive dysfunction, dog, geriatric, hematochemical analysis, senior

**Sağlıklı Senior ve Geriatrik Köpeklerde Hematokimyasal Parametrelerin ve Köpek Bilişsel Disfonksiyon Derecelendirme Ölçeğinin Değerlendirilmesi**

**Öz:** Yaşlanma, vücutta meydana gelen doğal ve zamana bağlı değişiklikleri içeren bir süreçtir. Yaşam kalitesi olumsuz etkilenmemiş köpekler, sağlıklı yaşlı olarak sınıflandırılır. Yaşlı köpeklerin sağlık değerlendirmesinde kan analizleri ile birlikte davranışsal ve bilişsel durum da dikkate alınmalıdır. Bu nedenle bu çalışmada 10 sağlıklı yaşlı (Senior grup, SG) ve 14 sağlıklı geriatrik (Geriatrik grup, GG) köpekte hematokimyasal parametrelerin ve köpek bilişsel işlev bozukluğu (CCD) ölçeğinin değerlendirilmesi amaçlandı. Tam kan sayımı (CBC) analizinde gruplar arasında istatistiksel herhangi bir fark belirlenmedi. Kan gazı analizinde GG'de pCO<sub>2</sub> (P=0.006), baz açığı (P=0.020) ve HCO<sub>3</sub> (P=0.041) düzeyleri SG'ye göre daha düşük bulundu. Serum biyokimyası analizinde GG'de BUN (P=0.016) ve GGT (P=0.003) düzeyleri SG'ye göre daha yüksek olarak belirlenirken, LDH (P=0.008) ve trigliserit (P=0.003) düzeyleri daha düşüktü. Toplam CCD skala skoru SG'de 14.50 (12-23), GG'de 50.50 (32-68) olarak belirlendi (P=0.000). Sonuç olarak, sağlıklı yaşlı ve geriatrik köpekler arasında kan gazları ve serum biyokimya analizleri sonucunda bazı parametrelerde farklılıklar saptandı ve sağlıklı yaşlı köpeklerde de rutin hematokimyasal analizlerin önemli olduğu sonucuna varıldı. Ayrıca, bu çalışma kapsamında *Terrier* ırkı köpeklerin CCD skala skorlarının daha yüksek olduğu gözlemlendi.

**Anahtar kelimeler:** Bilişsel işlev bozukluğu, geriatrik, hematokimyasal analiz, köpek, senior

**Introduction**

Aging is a process that involves natural and time-dependent changes that occurs in the later stages of life in both humans and animals, rather than the pathological changes observed in the body. Owing to advanced medical care techniques, it was stated by several researchers that healthy aging is possible (Gilmer and Aldwin, 2003; Bellows et al., 2015). Healthy aging in humans has been defined as an

absence of risk of disease or disease-related abnormal conditions. Healthy aging in humans includes cognitive, physical and physiological health and this scope can also be available for dogs (Rowe and Kahn, 1997; Bellows et al., 2015). Developing a valid definition for healthy aging is important for future studies in elderly dogs. In addition, it was reported that determining clinical methods that can distinguish healthy aging from disease-related conditions when evaluating old age dogs is essential (Salvin et al., 2011, Bellows et al., 2015). The definition of healthy aging in dogs can be defined as the absence of any

clinically significant disease. As dogs age, they naturally undergo a series of changes; however, dogs whose age-related changes are minimal or whose quality of life is not adversely affected can be classified as healthy elderly dogs (Neilson et al., 2001; Bellows et al., 2015). Various factors including breed and age affect the aging process. Generally, small-medium breed dogs which are between 7-10 years old are considered senior, and dogs that are older than 11 years old are considered geriatric (Bellows et al., 2015).

Diseases of elderly dogs are often multi systemic and complex. Blood laboratory analyzes are important in the early diagnosis of the diseases in order to achieve a successful treatment and monitor the quality of life (Thrall et al., 2012; Bellows et al., 2015). For this reason, annual or 6-month blood laboratory analyzes are important not only to the early diagnosis of diseases but also to determine if there are any disease predisposition. It was reported that routine blood laboratory tests for elderly dogs should include serum biochemistry with CBC, blood gases and electrolytes analyzes (Rizzi, 2015). In the clinical examination of elderly dogs, distinguishing aging process from disease-related conditions is important (Bellows et al., 2015). Hematological and serum biochemistry findings of healthy senior and geriatric dogs that determined by the IAMS Company Pet Health and Nutrition Center® database (P&G, 2011) indicate that these findings differ compared to the general dog population (Bellows et al., 2015). For this reason, it is ideal to compare the hematological and biochemical analysis results of elderly dogs with reference ranges specifically determined for senior and geriatric dogs.

The most common disorders that can cause hematological abnormalities in elderly dogs are reported to be kidney and liver diseases, diabetes mellitus, and hyper/hypothyroidism (Stockham and Scott, 2008; Thrall et al., 2012). The ability of the kidneys to remove metabolic waste and reabsorb essential compounds decreases as dogs age, and clinical signs vary with the extent and duration of the renal function impairment. Expected clinical-pathological abnormalities in renal diseases are elevated BUN and creatinine levels along with decreased glomerular filtration rate (GFR) (Rizzi, 2015). It was reported that severe azotemia must be evaluated together with urine specific gravity (Latimer, 2011). Therefore, it was stated that performing routine laboratory analysis on common causes of hematological and/or biochemical abnormalities in elderly dogs is essential for improving the quality of life (Rizzi, 2015)

As in humans, changes associated with aging in dogs may not be considered pathological and generally do not affect negatively overall welfare and/or quality of life (Salvin et al., 2011). Nevertheless, clinical examinations are essential to eliminate other diseases. Mobility, skin and hair health, gastrointestinal, immune, hepatic, respiratory and renal assessment, as

well as behavioral and cognitive status should definitely be considered in the health assessment of elderly dogs (Baldwin et al., 2010; Bellows et al., 2015). It is difficult to distinguish healthy elderly dogs from dogs with cognitive or behavioral disorders due to medical and aging findings that cause behavioral changes (Neilson et al., 2001). For this reason, it was reported that the assessment of the canine cognitive dysfunction rating scale (CCDR) along with routine hematological and biochemical analyzes is important in determining cognitive and behavioral health in healthy elderly dogs (Bellows et al., 2015). Canine cognitive dysfunction (CCD) or canine dementia is a neurobehavioral syndrome characterized by changes in learning, memory, social interaction, and sleep patterns (Landsberg et al., 2003; Salvin et al., 2011). As a result of several studies, it was demonstrated that the syndrome affects 85% of the elderly dog population and often cannot be diagnosed (Neilson et al., 2001; Osella et al., 2007; Salvin et al., 2011). Also, similarities were reported between CCD and Alzheimer's disease in terms of progressive structure, neuropathological abnormality and pharmacological response (Ruehl et al., 1995). For this reason, a CCD scale with a cut-off value of >50 (Salvin et al., 2011) was established to assess the cognitive profile of dogs. The CCD scale, which is used to evaluate the cognitive level of dogs, enables successful and timely intervention of undiagnosed or mismanaged cases (Bellows et al., 2015). Thus, with early and correct diagnosis, the general welfare and quality of life of elderly dogs can be improved. The CCD scale, which is a clinical and ethological screening and evaluation tool, is useful in distinguishing between cognitive aging and healthy aging, and the obtained results can advance the developments in the field of canine and human health (Salvin et al., 2011; Lorenzini, 2014). Therefore, in this study, it was aimed to reveal the parameters that come forth in routine health screenings including clinical and laboratory examinations, as a result of hematochemical and CCD score evaluation in small-medium breed healthy senior and geriatric dogs.

## Material and Methods

### Animal material

The animal material of this study was consisted of 24 elderly dogs in total, 10 healthy senior and 14 healthy geriatric dogs from different sexes and small-medium breeds, which were brought to Selcuk University Animal Hospital of Faculty of Veterinary Medicine for a routine health check. Anamnestic data revealed that the dogs were vaccinated and treated with dewormers routinely, fed with commercial dry dog food and walked twice a day. The dogs included in the study were divided into two groups: Senior (Senior group, SG) and Geriatric (Geriatric group, GG), according to the age criteria that determined previously (Bellows et al., 2015). Dog breeds included in the study were

Terrier (n=12), Spanial Cocker (n=5) and Pointer (n=7). In the study, it was determined that the mean age of the SG was  $7.10 \pm 0.73$  whereas the mean age of GG was  $12.14 \pm 2.76$  years.

The ethical approval (2021/63) was obtained from the Selcuk University Faculty of Veterinary Medicine Ethics Committee (SÜVFKEK).

#### Physical examinations

Physical examinations including respiratory rate, pulse, capillary refill time (CRT) and body temperature measurements, skin and hair structure inspection, evaluation of palpable lymph nodes such as mandibular, prescapular, superficial inguinal and popliteal, heart and lung auscultation, abdominal palpation, hydration status evaluation, as well as microscopic examination of stool specimens and orthopedic examinations were performed.

#### Inclusion and exclusion criterias

Dogs that were learned to have a history of disease or were observed to have any disease-related symptoms during physical examination were not included in the study. Also, dogs that did not meet the breed and age criteria (Bellows et al., 2015) within the scope of senior and geriatric categorization were not included in the study.

#### Canine cognitive dysfunction scale

The CCD scale of all dogs included in the study was obtained as a face-to-face questionnaire with the owners. In line with the answers given by the owners to the questionnaire consisting of 12 questions, the CCD scale for each dog (1=Never, 2=Once a month, 3=Once a week, 4=Once a day, 5=More than once a day) were obtained. The questionnaire and the results are presented in Table 1.

**Table 1.** CCD scale questionnaire results

Questions		Senior Group (SG)		Geriatric Group (GG)
<b>1) How often does your dog speed up and slow down, circle, or walk aimlessly?</b>	<b>1</b>	N:4 (40%)	<b>1</b>	N:1 (7.2%)
	<b>2</b>	N:5 (50%)	<b>2</b>	N:2 (14.3%)
	<b>3</b>	N:1 (10%)	<b>3</b>	N:3 (21.4%)
	<b>4</b>	N:0 (0%)	<b>4</b>	N:6 (42.8%)
	<b>5</b>	N:0 (0%)	<b>5</b>	N:2 (14.3%)
<b>2) How often does your dog stare blankly at the wall or floor?</b>	<b>1</b>	N:4 (40%)	<b>1</b>	N:0 (0%)
	<b>2</b>	N:5 (50%)	<b>2</b>	N:1 (7.2%)
	<b>3</b>	N:1 (10%)	<b>3</b>	N:3 (21.4%)
	<b>4</b>	N:0 (0%)	<b>4</b>	N:4 (28.6%)
	<b>5</b>	N:0 (0%)	<b>5</b>	N:6 (42.8%)
<b>3) How often does your dog get behind objects and can't get around them?</b>	<b>1</b>	N: 9 (90%)	<b>1</b>	N:5 (35.7%)
	<b>2</b>	N: 1 (10%)	<b>2</b>	N:4 (28.6%)
	<b>3</b>	N: 0 (0%)	<b>3</b>	N:2 (14.3%)
	<b>4</b>	N: 0 (0%)	<b>4</b>	N:3 (21.4%)
	<b>5</b>	N: 0 (0%)	<b>5</b>	N:0 (0%)
<b>4) How often does your dog not recognize a family member or animal?</b>	<b>1</b>	N: 10 (100%)	<b>1</b>	N:4 (28.6%)
	<b>2</b>	N: 0 (0%)	<b>2</b>	N:3 (21.4%)
	<b>3</b>	N: 0 (0%)	<b>3</b>	N:4 (28.6%)
	<b>4</b>	N: 0 (0%)	<b>4</b>	N:2 (14.3%)
	<b>5</b>	N: 0 (0%)	<b>5</b>	N:1 (7.1%)

Questions		Senior Group (SG)		Geriatric Group (GG)
<b>5) How often does your dog walk up against walls or doors?</b>	<b>1</b>	N:7 (70%)	<b>1</b>	N:1 (7.1%)
	<b>2</b>	N:3 (30%)	<b>2</b>	N:0 (0%)
	<b>3</b>	N:0 (0%)	<b>3</b>	N:5 (35.7%)
	<b>4</b>	N:0 (0%)	<b>4</b>	N:4 (28.6%)
	<b>5</b>	N:0 (0%)	<b>5</b>	N:4 (28.6%)
<b>6) How often does your dog walk away when you pet?</b>	<b>1</b>	N:8 (80%)	<b>1</b>	N:1 (7.1%)
	<b>2</b>	N:1 (10%)	<b>2</b>	N:0 (0%)
	<b>3</b>	N:1 (10%)	<b>3</b>	N:5 (35.7%)
	<b>4</b>	N:0 (0%)	<b>4</b>	N:4 (28.6%)
	<b>5</b>	N:0 (0%)	<b>5</b>	N:4 (28.6%)
<b>7) Compared to six months ago, is your dog speeding up and slowing down, circling or walking aimlessly nowadays?</b>	<b>1</b>	N:10 (100%)	<b>1</b>	N:3 (21.4%)
	<b>2</b>	N:0 (0%)	<b>2</b>	N:5 (35.8%)
	<b>3</b>	N:0 (0%)	<b>3</b>	N:6 (42.8%)
<b>8) Is your dog often blankly staring at the wall or the floor nowadays compared to six months ago?</b>	<b>1</b>	N: 5 (50%)	<b>1</b>	N:2 (14.4%)
	<b>2</b>	N:4 (40%)	<b>2</b>	N:6 (42.8%)
	<b>3</b>	N:1 (10%)	<b>3</b>	N:6 (42.8%)
<b>9) Compared to six months ago, is your dog nowadays urinating in places where it hasn't?</b>	<b>1</b>	N:7 (70%)	<b>1</b>	N:0 (0%)
	<b>2</b>	N:1 (10%)	<b>2</b>	N:4 (28.6%)
	<b>3</b>	N:2 (20%)	<b>3</b>	N:2 (14.2%)
	<b>4</b>	N:0 (0%)	<b>4</b>	N:6 (42.8%)
	<b>5</b>	N:0 (0%)	<b>5</b>	N:2 (14.2%)
<b>10) Is your dog having trouble finding a dropped food nowadays compared to six months ago?</b>	<b>1</b>	N:9 (90%)	<b>1</b>	N:4 (28.6%)
	<b>2</b>	N:1 (10%)	<b>2</b>	N:0 (0%)
	<b>3</b>	N:0 (0%)	<b>3</b>	N:2 (14.2%)
	<b>4</b>	N:0 (0%)	<b>4</b>	N:5 (35.8%)
	<b>5</b>	N:0 (0%)	<b>5</b>	N:3 (21.4%)



Questions		Senior Group (SG)		Geriatric Group (GG)
<b>11) Is it happening nowadays that your dog is unable to recognize a family member or animal compared to six months ago?</b>	<b>1</b>	N:7 (70%)	<b>1</b>	N:3 (21.4%)
	<b>2</b>	N:2 (20%)	<b>2</b>	N:8 (57.2%)
	<b>3</b>	N:1 (10%)	<b>3</b>	N:3 (21.4%)
<b>12) Is your dog's active time reduced nowadays compared to six months ago?</b>	<b>1</b>	N:7 (70%)	<b>1</b>	N:0 (0%)
	<b>2</b>	N:1 (10%)	<b>2</b>	N:1 (7.2%)
	<b>3</b>	N:2 (20%)	<b>3</b>	N:4 (28.6%)
	<b>4</b>	N:0 (0%)	<b>4</b>	N:6 (42.8%)
	<b>5</b>	N:0 (0%)	<b>5</b>	N:3 (21.4%)

1=Never, 2=Once a month, 3=Once a week, 4=Once a day, 5=More than once a day. Multiplication coefficient to be applied for questions between 7 and 12: x1 = Same, x2 = Much, x3 = Too much

#### Collection and measurements of blood samples

Blood samples (with anticoagulant (K<sub>3</sub>EDTA and heparin) and without anticoagulant) from all dogs included in the study were collected by the same personnel with minimal restraint in order to not cause stress. Venous blood samples (5-10 mL) were taken from the vena cephalica venepuncture. From the blood samples with K<sub>3</sub>EDTA, CBC (WBC, Hb, PCV, RBC, thrombocyte, MCV, MCH, MCHC, Lymphocyte, Monocyte, Granulocyte, MS4 CFE 279®, Haematology Analyzer, France); from heparinized blood samples, blood gases and electrolyte analyzes (pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, sodium, potassium, chlorine, lactate, base excess, and bicarbonate; ABL 90® Flex Blood Gas/Electrolyte Analyzer, Model 5700 Radiometer, USA); from blood serum samples (5000 rpm for 5 minutes centrifugation for serum extraction), serum biochemistry analyzes (BUN, creatinine, glucose, total protein, albumin, ALT, ALP, cholesterol, triglyceride, calcium and phosphorus, Biotecnica BT 3000 Plus®, Italy) were performed. All laboratory analyzes were performed within 30 minutes after blood sampling.

#### Statistical analysis

Kolmogorov-Smirnov test was applied to determine whether all data were parametric or non-parametric. Parametric data were evaluated as mean±SEM with Student's t test (for the assessment for homogeneity of variance, Levene's test was used), and non-parametric data were evaluated Mann Whitney U test and as median (min-max). In addition, ROC analysis was performed to determine the cut-off values for ages and CCD scale for all groups. Statistical significance was accepted as P<0.05 for all data. SPSS 21.0 statistical software (SPSS for Windows®) was used for data analysis.

#### Results

##### Physical examination findings

No abnormal findings were determined in the clinical examination of the dogs included in the study. No parasite eggs were observed in the microscopic examination of the stool specimens and orthopedic examination findings were normal. The clinical examination findings and the mean ages of the groups are presented in Table 2.

**Table 2.** Mean ages and clinical examination findings of the dogs

Parameters	Senior Group (SG) (mean±SEM)	Geriatric Group (GG) (mean±SEM)	P value
Respiratory rate (per minute)	35.90±6.82	30.78±5.93	0.072
Heart rate (per minute)	73.80±7.64	78.92±9.47	0.157
Capillary refill time (sec)	2.30±0.48	2.64±0.49	0.106
Temperature (°C)	38.10±0.30	38.18±0.42	0.572
Age (year old)	<b>7.10±0.73</b>	<b>12.14±2.76</b>	<b>&lt;0.001</b>

**Canine cognitive dysfunction scale evaluation**

The CCD scale scores which were obtained from the questionnaire were statistically different between groups ( $P=0.004$ ). The total CCD scale score was 14.50 (12-23) for the SG and 50.50 (32-68) for the GG ( $P<0.001$ ). The results are presented in Table 3.

**Table 3.** CCD Scale results

Questions	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total score
<b>Senior Group</b> [Median (min-max)]	2 (1-3)	1 (1-2)	1 (1-2)	1 (1-1)	1 (1-2)	1 (1-3)	2 (2-3)	1 (1-4)	1 (1-3)	1 (1-2)	1 (1-3)	1 (1-3)	14.50 (12-23)
<b>Geriatric Group</b> [Median (min-max)]	4 (1-5)	4 (2-5)	2 (1-4)	2.5 (1-5)	4 (1-5)	3 (1-5)	7 (2-12)	5.5 (3-15)	4 (2-8)	4 (1-5)	4 (1-9)	4 (2-12)	50.50 (32-68)
<b>P value</b>	<0.001	<0.001	0.004	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

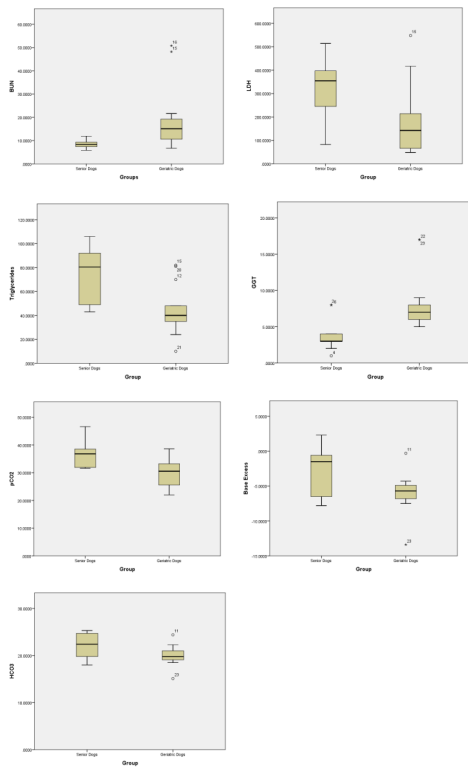
**Hematochemical and blood gases analysis findings**

The hematochemical analyzes results were evaluated considering the reference ranges determined by the IAMS Company Pet Health and Nutrition Center® (P&G, 2011). No statistical difference was determined between the groups as a result of the CBC. The detected values were within the normal reference ranges. CBC parameters are presented in Table 4 and other hematochemical parameters with statistical differences are presented in Figure 1.

**Table 4.** CBC analysis results

Parameters	Senior Group (SG) (mean±SEM)	Geriatric Group (GG) (mean±SEM)	P value
<b>WBC (m/mm<sup>3</sup>)</b>	12.63±3.46	12.04±3.15	0.676
<b>Lymphocyte (%)</b>	3.24±1.27	3.83±1.89	0.374
<b>Monocyte (%)</b>	0.91±0.62	1.33±1.07	0.243
<b>Granulocyte (%)</b>	8.34±3.12	6.65±1.85	0.148
<b>RBC (M/mm<sup>3</sup>)</b>	7.22±1.05	7.59±1.47	0.480
<b>MCV (fl)</b>	74.22±4.88	70.42±8.81	0.192
<b>HCT (%)</b>	54.44±9.31	52.72±9.14	0.660
<b>MCH (pg)</b>	27.33±17.36	20.08±2.40	0.222
<b>MCHC (g/dL)</b>	29.53±3.02	28.65±1.95	0.433
<b>RDW</b>	10.42±1.15	10.35±0.96	0.890
<b>Hb (g/dL)</b>	16.05±2.33	15.22±2.54	0.423

WBC: White blood cells, RBC: Red blood cells, MCV: Mean corpuscular volume, HCT: Hematocrit, MCH: Mean corpuscular hemoglobin, MCHC: Mean corpuscular hemoglobin concentration, RDW: Reticulocytes distribution width, Hb: Hemoglobin



**Figure 1.** Boxplot graphics of BUN, LDH, Triglyceride, GGT, pCO<sub>2</sub>, BE and HCO<sub>3</sub> levels.

In blood gases and electrolyte analysis, pCO<sub>2</sub> (P=0.006), BE (P=0.020) and HCO<sub>3</sub> (P=0.041) levels were found to be lower in the GG compared to SG. Other parameters were within reference ranges. The results are presented in Table 5.

**Table 5.** Blood gases and electrolyte analysis results

Parameters	Senior Group (SG) (mean±SEM)	Geriatric Group (GG) (mean±SEM)	P value
pH	7.38±0.04	7.38±0.04	0.809
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	<b>37.23±5.27</b>	<b>30.45±5.26</b>	<b>0.006</b>
pO <sub>2</sub> (mmHg)	40.74±9.49	35.65±5.94	0.157
Potassium (mmol/L)	3.91±0.37	3.95±0.47	0.820
Sodium (mmol/L)	155.10±4.99	152.28±6.97	0.262
Chlorine (mmol/L)	116.10±4.40	116.78±4.29	0.708
Lactate (mmol/L)	3.10±1.50	2.75±1.50	0.580
Base excess (mmol/L)	<b>-2.72±3.40</b>	<b>-5.88±2.75</b>	<b>0.020</b>
HCO <sub>3</sub> (mmol/L)	<b>22.05±2.50</b>	<b>19.90±2.11</b>	<b>0.041</b>

pH: Power of hydrogen, pCO<sub>2</sub>: Partial pressure or carbondioxide, pO<sub>2</sub>: Partial pressure of oxygen, HCO<sub>3</sub>: Bicarbonate

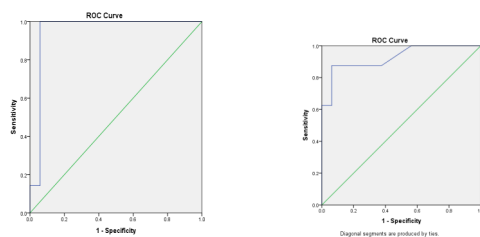
In serum biochemistry analysis, BUN (P=0.016) and GGT (P=0.003) levels were found to be higher whereas LDH (P=0.008) and triglyceride (P=0.003) levels were found to be lower in the GG compared to SG. Serum biochemistry analysis results are presented in Table 6.

Also, ROC analysis of age comparison and CCD score of dogs in both groups was performed. As a result, high AUC (0.950), sensitivity (%100), specificity (%94) and cut-off value of 46.50 for CCD score, and high AUC (0.926), sensitivity (%87), specificity (%87) and cut-off value of 10.50 for CCD age were determined. ROC plots and analysis results were presented in Figure 2 and Table 7, respectively.

**Table 6.** Serum biochemistry analysis results

Parameters	Senior Group (SG) (mean±SEM)	Geriatric Group (GG) (mean±SEM)	P value
<b>BUN (mg/dL)</b>	<b>8.52±1.94</b>	<b>18.80±13.76</b>	<b>0.016</b>
Creatinine (mg/dL)	0.93±0.27	1.14±0.41	0.146
ALT (U/L)	63.10±23.20	77.42±66.23	0.465
AST (U/L)	25.70±4.83	33.85±29.70	0.330
ALP (U/L)	84.40±35.25	106.64±112.49	0.498
Amylase (U/L)	448±123.22	634.50±327.61	0.068
Glucose (mg/dL)	116.50±11.27	104.21±19.48	0.065
LDH (U/L)	<b>333.80±122.62</b>	<b>173.07±147.21</b>	<b>0.008</b>
T. bilirubin (mg/dL)	0.48±0.19	0.42±0.24	0.529
D. bilirubin (mg/dL)	0.27±0.14	0.23±0.18	0.619
Phosphorous (mg/dL)	3.74±0.81	3.72±1.35	0.967
Albumin (g/dL)	2.94±0.40	3.07±0.49	0.462
Cholesterol (mg/dL)	209±79.44	246.85±143.56	0.418
Calcium (mg/dL)	11.05±1.67	11.29±2.10	0.757
Triglyceride (mg/dL)	<b>75.70±22.53</b>	<b>44.28±20.73</b>	<b>0.003</b>
Magnesium (mg/dL)	1.95±1.05	1.51±0.51	0.248
GGT (U/L)	<b>3.90±2.33</b>	<b>8.24±3.89</b>	<b>0.003</b>
Total protein (g/dL)	6.26±0.94	7.10±1.15	0.061
CPK (U/L)	115.70±67.43	111.14±95.13	0.892

BUN: Blood urea nitrogen, ALT: Alanine aminotransferase, AST: Aspartate transaminase, ALP: Alkaline phosphatase, LDH: Lactate dehydrogenase, GGT: Gamma-glutamyl transferase, CPK: Creatine phosphokinase



**Figure 2.** CCD score ROC plot (left) and CCD age ROC plot (right).

## Discussion and Conclusion

Aging triggers cellular and molecular changes in mammals that increase the risk of disease development such as genomic instability and organ dysfunction. Recently, the increase in the number of elderly dogs, which constitutes 49% of almost all domestic animals worldwide, has increased the need for studies investigating the effects of biological effects of aging on the quality of life (Ülgen et al., 2015; Lee et al., 2020). Dogs are the most human-like creatures compared to other laboratory animals in terms of lifestyle, exposure to environmental pathogens, medical care, and physical activity (Lorenzini, 2014). The

**Table 7.** CCD Score ROC analysis results

Parameters	AUC	Std. Error	P value	Asymp. %95 CI		Cut-off	Sensitivity (%)	Specificity (%)
				Lower Bound	Upper Bound			
<b>CCD Score</b>	0.950	0.050	0.001	0.851	1.000	46.50	100	94
<b>CCD Age</b>	0.926	0.061	0.001	0.805	1.000	10.50	87	87

AUC: Area under curve, Std error: standart error CI: confidence interval

need to improve the welfare of domestic dogs is also beneficial for the development of geriatric research in humans (Lee et al., 2020). Aging is an ontogenetic process that begins with birth and ends with death (Maggio et al., 2006). Recent studies have identified cellular and molecular parameters associated with aging, such as altered intercellular communication, genomic instability, mitochondrial dysfunction, and epigenetic changes in mammals (Lopez-Otin et al., 2013; Lee et al., 2020).

Aging in animals as in humans occurs by development of predisposition to diseases as a result of a breakdown of the relationship between body systems due to acquired diseases and environmental conditions (Ülgen et al., 2015). In previous studies, it has been reported that CBC and biochemical profile analyzes are objective and more specific compared to routine physical examination in dogs, and are important in the follow-up and analysis of changing physiological characteristics (Maggio et al., 2006). In addition, it was reported in hematological phenotype studies in dogs of various breeds that dogs are the ideal model for hematological characterization of mammals (Lawrance et al., 2013). Therefore, hematological and biochemical profile analyzes are essential for the diagnosis and screening of diseases in veterinary medicine (Lee et al., 2020; Miglio et al., 2020). Low MCV and MPV levels were reported in CBC findings of senior and geriatric dogs (Lee et al., 2020). However, in some previous studies, no significant age-related hematological differences were reported (Strasser et al., 1993). In this study, no statistical differences were observed neither in the physical examination nor in the CBC findings between senior and geriatric dogs. These findings might be related to the hydration status (Lowseth et al., 1990) of the dogs of the present study. Also, low number of healthy elderly dogs in the present study should be kept in mind. Many diseases cause abnormal acid-base balance through changes in ventilation or metabolic disorders (Bellows et al., 2015; Lee et al., 2020). Both conditions stimulate compensation mechanisms that provide acid-base balance. Base excess is controversial as it is affected by respiratory changes in vivo. This situation is due to free ion exchange between blood and interstitial fluid. Therefore, as pCO<sub>2</sub> changes in vivo, HCO<sub>3</sub> also changes

along with base excess and other ions provide ion balance between the blood and interstitial space (Schlichtig et al., 1998). Elevations in BUN are an infrequent observation in the geriatric dog despite the morphological and functional changes that occur in the aging kidney (Lowseth et al., 1990). The elevated BUN level in GG of the current study (P=0.016) was consistent with the previously reported findings due to decreased GFR as a result of up to 75% loss of functional renal mass in geriatric dogs (Rizzi, 2015). Thus, the numerically higher BUN levels of geriatric dogs compared to senior dogs of the present study may indicate greater renal mass loss (Lowseth et al., 1990; Strasser et al., 1993). Also, when compared to SG, low pCO<sub>2</sub> (P=0.006), base excess (P=0.020) and HCO<sub>3</sub> (P=0.041) levels of GG in blood gases were interpreted depending on the renal compensation mechanism. These findings were consistent with previous reports (Lowseth et al., 1990; Strasser et al., 1993; Willems et al., 2017). However, assessment of renal clearance is required to detect abnormal renal function changes (Strasser et al., 1993).

In previous reports, due to the high reserve capacity of the liver AST, ALT and GLDH showed no age-related changes, whereas GGT increased (Strasser et al., 1993). Gamma glutamyl transferase (GGT) is an enzyme found in blood serum and on the surface of different organ cells such as liver, pancreas, intestine, lung and kidney (Bulusu and Sharma, 2016). Except that serum GGT is a traditional biomarker of hepatobiliary diseases, its high level is associated with cardiovascular diseases, diabetes mellitus, hypertension and metabolic syndrome (Targher, 2010; Caravaca-Fontan et al., 2017). It has also been reported that high GGT levels are associated with endothelial dysfunction (Yılmaz et al., 2013). The high GGT level (P=0.003) determined in GG of the study may be associated with subclinical organ dysfunction including intestines, kidney and liver (Stockham and Scott, 2008; Thrall et al., 2012), which may cause hematological abnormalities in geriatric dogs. Also, it was reported that the membrane located GGT increases with age, possibly indicating changes in the parenchyma of the ageing liver (Strasser et al., 1993). Although there was no statistical difference, numerical values of some parameters (BUN: 18.80±13.76, ALT: 77.42±66.23 AST: 33.85±29.70,

ALP:  $106.64 \pm 112.49$ ) of GG compared to SG may support the fact that the liver parenchyma has had undergone further changes in geriatric dogs.

Triglycerides are synthesized in intestinal and liver cells and used as an energy source (Hegele 2009). Similarly, the blood concentration of lactate dehydrogenase (LDH), a glycolytic enzyme that used as an energy source, decreases in cases where cellular energy metabolism is disrupted (Marconato et al., 2009). Low LDH ( $P=0.008$ ) and triglyceride ( $P=0.003$ ) levels of GG compared to SG, were interpreted as a result of mitochondrial dysfunction (Catic, 2018), which plays an important role in the aging process. In addition, the low triglyceride level may be associated with long life span (Liu et al., 2017). Also, in a previous study, it was reported that triglyceride levels were lower in 14-year-old dogs compared with the 12-year-old dogs (Lowseth et al., 1990). Furthermore, significantly higher triglyceride levels without any consequences for the blood vessels, the heart and the circulation in rats were reported. The findings of the present study were consistent with the previous reports and the fact that animals' life expectancy is short in terms of development of signs of arteriosclerosis in senior dogs compared to geriatric ones (Strasser et al., 1993; Willems et al., 2017).

Canine cognitive dysfunction is a common problem in geriatric dogs (Neilson et al., 2001, Osella et al., 2007). It has been reported that routine hematochemical analyzes and CCD evaluation are important in determining cognitive and behavioral health in healthy elderly dogs (Bellows et al., 2015), with a cut-off value of  $>50$  (Salvin et al., 2011). The highest CCD scores in GG of the study were 59, 68, 57, 58 and 64 in the 5<sup>th</sup>, 7<sup>th</sup>, 10<sup>th</sup>, 13<sup>th</sup>, and 14<sup>th</sup> dogs, respectively. The breed of all dogs with the highest CCD scores was *Terrier* and the average age was determined to be 14.4 years. Although the CCD score of Terrier dogs ( $n=7$  in the GG, 12 in total) was found to be higher than other breeds in this study, in order to make inferences about predisposition of cognitive disorders studies with a larger number of animals are required, considering the number of animals included in the present study. In addition, it was determined that the cut-off value for the CCD score was 46.50, and the age cut-off value for cognitive disorders was 10.5 in the ROC analyses of the current study. These findings were similar to previously reported threshold values and methods of evaluation of cognitive decline (Salvin et al., 2011; Ülgen et al., 2015).

The limitations of this study are the low number of animal material, undetermined glomerular filtration rate, and the lack of evaluation of specific biomarkers (such as cardiac troponins, coagulation parameters and symmetric dimethylarginine) for the diagnosis of undetermined comorbid diseases.

In this study, significant differences were determined in BUN, LDH, GGT and triglyceride levels between healthy senior and geriatric dogs. As a result of hem-

atochemical analyzes, it was observed that differences in blood gases and electrolyte analysis such as lower BE and  $\text{HCO}_3$  levels between the senior and geriatric dogs might be due to altered renal compensation mechanisms and serum biochemistry differences such as elevated BUN, decreased LDH and GGT levels might be resulting from decreased glomerular filtration rate and disruption of cellular energy metabolism or mitochondrial dysfunction. Beside hematochemical differences between the groups, *Terriers* had higher CCD scores. It was concluded that as many organ functions decline with age, regular health screening by blood tests and canine cognitive dysfunction rating scale may raise owner awareness for potentially important clinical signs in aging dogs.

## References

- Baldwin K, Bartges J, Buffington T, Freeman LM, Grabow M, Legred J, Ostwald D Jr. AAHA nutritional assessment guidelines for dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 2010; 46(4): 285-96.
- Bellows J, Colitz CM, Daristotle L, Ingram DK, Lepine A, Marks SL, Sanderson SL, Tomlinson J, Zhang J. Defining healthy aging in older dogs and differentiating healthy aging from disease. *J Am Vet Med Assoc* 2015; 246(1): 77-89.
- Bulusu S, Sharma M. What does serum  $\gamma$ -glutamyltransferase tell us as a cardiometabolic risk marker? *Ann Clin Biochem* 2016; 53(3): 312-32.
- Caravaca-Fontán F, Azevedo L, Bayo MÁ, Gonzales-Candia B, Luna E, Caravaca F. High levels of both serum gamma-glutamyl transferase and alkaline phosphatase are independent predictors of mortality in patients with stage 4-5 chronic kidney disease. *Nefrologia* 2017; 37(3): 267-75.
- Catic A. Cellular metabolism and aging. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2018; 155: 85-107.
- Gilmer DF, Aldwin CM. Health, illness, and optimal ageing: Biological and psychosocial perspectives. Thousand Oaks, California, Sage Publications 2003.
- Hegele RA. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nat Rev Genet* 2009; 10(2): 109-21.
- Landsberg G, Hunthausen W, Ackerman L. The effects of aging on the behaviour of senior pets. Landsberg G, Hunthausen W, Ackerman L. eds. In: *Handbook of Behaviour Problems of the Dog and Cat, Second Edition*. Edinburgh, UK, Saunders 2003; pp. 269-304.
- Latimer KS. Duncan & Prasse's Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology. Fifth Edition. Ames, IA: Wiley-Blackwell 2011, pp. 3-82, 11-30, 53-82, 295-330.
- Lawrence J, Chang YM, Szladovits B, Davison LJ, Garden OA. Breed-specific hematological phenotypes in the dog: A natural resource for the genet-

- ic dissection of hematological parameters in a mammalian species. *PLoS One* 2013; 8(11): e81288.
- Lee SH, Kim JW, Lee BC, Oh HJ. Age-specific variations in hematological and biochemical parameters in middle- and large-sized of dogs. *J Vet Sci* 2020; 21(1): e7.
- Liu N, Yang G, Hu M, Han J, Cai Y, Hu Z, Jia C, Zhang M. Adipose triglyceride lipase gene polymorphisms is not associated with free fatty acid levels in Chinese han population. *Metab Syndr Relat Disord* 2017; 15(9): 474-9.
- López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell* 2013; 153(6): 1194-217.
- Lorenzini A. How much should we weigh for a long and healthy life span? The need to reconcile caloric restriction versus longevity with body mass index versus mortality data. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2014; 30(5): 121.
- Lowseth LA, Gillett NA, Gerlach RF, Muggenburg BA. The effects of aging on hematology and serum chemistry values in the beagle dog. *Vet Clin Pathol* 1990; 19(1): 13-9.
- Maggio M, Ble A, Ceda GP, Metter EJ. Decline in insulin-like growth factor-I levels across adult life span in two large population studies. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006; 61(2):182-3.
- Marconato L, Crispino G, Finotello R, Mazzotti S, Salerno F, Zini E. Serum lactate dehydrogenase activity in canine malignancies. *Vet Comp Oncol* 2009; 7(4): 236-43.
- Miglio A, Gavazza A, Siepi D, Bagaglia F, Misia A, Antognoni MT. Hematological and biochemical reference intervals for 5 adult hunting dog breeds using a blood donor database. *Animals (Basel)* 2020; 10(7): 1-19.
- Neilson JC, Hart BL, Cliff KD, Ruehl WW. Prevalence of behavioral changes associated with age-related cognitive impairment in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218(11): 1787-91.
- Osella MC, Re G, Odore R, Girardi C, Badino P, Barbero R, Bergamasco L. Canine cognitive dysfunction syndrome: prevalence, clinical signs and treatment with a neuroprotective nutraceutical. *Appl Anim Behav Sci* 2007; 105(4): 297-310.
- P&G Pet care consumer survey. Mason, Ohio: The IAMS Company, P&G 2011.
- Rizzi T. Blood testing in the geriatric dog. *Vet Focus* 2015; 25(1): 31-7.
- Rowe JW, Kahn RL. Successful aging. *Gerontologist* 1997; 37(4): 433-40.
- Ruehl W, Bruyette DS, DePaoli A, Cotman CW, Head E, Milgram NW, Cummings BJ. Canine cognitive dysfunction as a model for human aged-related cognitive decline, dementia and Alzheimer's disease: Clinical presentation, cognitive testing, pathology and response to 1-deprenyl therapy. Yu PM, Tipton KF, Boulton AA. eds. In: *Progress in Brain Research*. Elsevier Science BV 1995; pp. 217-25.
- Salvin HE, McGreevy PD, Sachdev PS, Valenzuela MJ. The canine cognitive dysfunction rating scale (CCDR): A data-driven and ecologically relevant assessment tool. *Vet J* 2011; 188(3): 331-6.
- Schlichtig R, Grogono AW, Severinghaus JW. Current status of acid-base quantitation in physiology and medicine. *Anesthesiol Clin North Am* 1998; 16(1): 211-33.
- Stockham SL, Scott MA. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. Second Edition. Ames, IA: Blackwell 2008; pp. 53-222, 675-706, 783-830.
- Strasser A, Niedermüller H, Hofecker G, Laber G. The effect of aging on laboratory values in dogs. *J Vet Med* 1993; 40(9-10): 720-30.
- Targher G. Elevated serum gamma-glutamyltransferase activity is associated with increased risk of mortality, incident type 2 diabetes, cardiovascular events, chronic kidney disease and cancer - a narrative review. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48(2): 147-57.
- Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW. *Veterinary hematology and clinical chemistry*. Second Edition. Ames, IA: Wiley-Blackwell 2012; pp. 61-140, 401-440, 497-544.
- Ülgen S, Bayrakal A, Sargin E, Kaymaz AA. The changing patterns in referral rates of geriatric cats and dogs to an university clinic. *J Fac Vet Med Istanbul Univ* 2015; 41(2): 232-7.
- Willems A, Paepe D, Marynissen S, Smets P, Van de Maele I, Picavet P, Duchateau L, Daminet S. Results of screening of apparently healthy senior and geriatric dogs. *J Vet Intern Med* 2017; 31(1): 81-92.
- Yılmaz MI, Turgut F, Kanbay M, Sağlam M, Sonmez A, Yaman H, Demirbas S, Unal HU, Gok M, Karaman M, Ay SA, Demirkaya E, Covic A, Carrero JJ. Serum gamma-glutamyltransferase levels are inversely related to endothelial function in chronic kidney disease. *Int Urol Nephrol* 2013; 45(4): 1071-8.







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

Araştırma Makalesi / Research Article  
19(2), 94-100, 2022  
DOI: 10.32707/ercivet.1142552

### Buzağı Hastalıkları Üzerine Etkili Faktörlerin Sınıflandırılmasında Yapay Sinir Ağları, Rassal Orman Algoritması ve Lojistik Regresyon Analizi Performanslarının Karşılaştırılması

Güven GÜNGÖR<sup>1,a</sup>, Aytaç AKÇAY<sup>2,b</sup>, Savaş SARIÖZKAN<sup>3,c</sup>, Elif ÇELİK<sup>1,d</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyometri Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID: <sup>a</sup>0000-0003-3695-9443; <sup>b</sup>0000-0001-6263-5181; <sup>c</sup>0000-0003-2491-5152; <sup>d</sup>0000-0002-5073-1907

**Corresponding author:** Güven GÜNGÖR; E-posta: guvengungor@erciyes.edu.tr

**How to cite:** Güngör G, Akçay A, Sariözkan S, Çelik E. Buzağı hastalıkları üzerine etkili faktörlerin sınıflandırılmasında yapay sinir ağları, rassal orman algoritması ve lojistik regresyon analizi performanslarının karşılaştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 94-100

**Öz:** Bu çalışmada buzağı hastalıklarına etkili faktörlerin Yapay Sinir Ağları (YSA), Rassal Orman Algoritması (RO) ve Lojistik Regresyon Analizi (LR) ile sınıflandırılması, bu yöntemlerin kullanılabilirliğinin ortaya konulması ve performanslarının karşılaştırılması amaçlanmıştır. Araştırma materyalini 2018-2021 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde tutulan 54 baş buzağıya ait işletme kayıtları oluşturmuştur. İstatistik analizlerde buzağılara ait hastalık geçmişi bağımlı değişken; buzağının cinsiyeti, ırkı, doğum mevsimi, anne ırkı, anne laktasyon sayısı ise bağımsız değişken olarak belirlenmiştir. Sınıflandırma performansları; duyarlılık, seçicilik, kesinlik, doğruluk, f-ölçümü, Youden indeksi, ROC eğrisi altında kalan alan (AUC) ve Cohen's kappa katsayısı ile karşılaştırılmıştır. Araştırma bulgularına göre, duyarlılık, seçicilik, kesinlik, doğruluk, F-ölçümü, Youden indeksi ve Cohen's kappa açısından en başarılı sınıflandırıcılar sırasıyla; LR (0.828), YSA (0.947), YSA (0.964), YSA (0.833), YSA (0.857), YSA (0.719), YSA (0.663) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, mevcut sınıflandırma yöntemlerinin buzağı hastalıklarına etkili faktörleri belirli bir yanılma payıyla doğru sınıflandırdığı ve duyarlılık dışındaki bütün performans değerleri için YSA'nın daha başarılı olduğu görülmüştür. Bu yöntemlerin, hayvancılık işletmelerinde buzağı hastalıklarının proaktif yaklaşımla belirlenmesine ve ekonomik kayıpların önlenmesine imkan sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Buzağı, hastalık, makine öğrenmesi, sınıflandırma

#### Comparison of Artificial Neural Networks, Random Forest Algorithm and Logistic Regression Analysis Performances in Classification of Effective Factors on Calf Diseases

**Abstract:** In this study, it is aimed to classify the factors affecting calf diseases with Artificial Neural Networks (YSA), Random Forest Algorithm (RO) and Logistic Regression Analysis (LR), to reveal the usability of these methods and to compare their performances. The research material consisted of the farm records of 54 calves kept in Erciyes University, Agricultural Research and Application Center between 2018-2021. In the statistical analysis, the disease history of the calves was the dependent variable; calves gender, breed, birth season, maternal breed, and maternal lactation number were determined as independent variables. Classification performances were compared with sensitivity, specificity, precision, accuracy, f-measure, Youden index, area under the ROC curve (AUC) and Cohen's kappa coefficient. According to the research results, the most successful classifiers in terms of sensitivity, selectivity, precision, accuracy, F-measure, Youden's index and Cohen's kappa; LR (0.828), ANN (0.947), ANN (0.964), ANN (0.833), ANN (0.857), ANN (0.719), ANN (0.663), respectively. In conclusion, it has been reached that be used classification methods correctly classify the factors affecting calf diseases with a somewhat margin of error and YSA is more successful for all performance values except sensitivity. It is thought that these methods will help determine calf diseases with proactive approaches and prevent economic losses in livestock enterprises.

**Keywords:** Calf, classification, disease, machine learning

#### Giriş

Süt sığırı yetiştiriciliğinde karlılık ve başarı, üretilen süt miktarı (ana gelir) ve elde edilen buzağı (tali gelir) ile yakından ilişkilidir. O nedenle, yüksek karlılık hedefleyen yetiştiricinin temel amacı kaliteli sütü düşük maliyetle üretmek ve yılda bir buzağı elde etmektir. Süt sığırcılığında normal şartlarda yılda bir buzağı

alınmakta ve buzağılamanın ardından da annenin süt verim (laktasyon) dönemi başlamaktadır. Bu durum göz önüne alındığında damızlık dişilerin buzağılama öncesinde bir maliyet unsuru olduğu ve işletmenin devamlılığı açısından buzağılamanın kritik bir öneme sahip olduğu ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, uzun vadede damızlık kaynağı olma potansiyeli taşıyan buzağuların elde edilmesi ve sağlıklı bir şekilde yetiştirilmesi işletmenin geleceğini de şekillendirmektedir (Alpan, 1994).

Geliş Tarihi/Submission Date : 26.11.2021

Kabul Tarihi/Accepted Date : 08.02.2022

Diğer taraftan, buzağının sağlıklı doğmasının yanında yaşamının sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi de ayrı bir önem taşımaktadır. Bu doğrultuda, yetiştirme süreci içerisinde buzağuların fizyolojik gelişimi ve sağlık durumu ile ilgili problem yaşanmaması istenmektedir. Bu süreçte meydana gelen buzağı hastalıkları ve ölümleri hem yetiştirici için hem de ülke hayvancılığı için önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Singh ve ark., 2009; Piccione ve ark., 2010; Gohars-hahi ve ark., 2021). Türkiye’de yer alan süt sığırcılığı işletmelerinde genellikle buzağı hastalıkları görülmekle birlikte yaklaşık %5-20 oranında ölüm ile sonuçlanmaktadır (Yıldız, 2008; Ayvazoğlu ve ark., 2019). Buzağı ölümlerinin başlıca nedenleri arasında diyare, pnemoni ve sepsis gibi enfeksiyöz unsurlar yer almaktadır (Klein ve ark., 2009; Akyüz ve ark., 2017). Buna ek olarak anne doğum sayısı (laktasyon sayısı), buzağının cinsiyeti, buzağının doğum mevsimi, gebelik süresi ve güç doğum gibi faktörler de buzağı hastalıkları ve ölümleri ile ilişkilendirilmektedir (Meijering, 1984; Berglund ve ark., 2003; Mee, 2004; Lombard ve ark., 2007; Gundelach ve ark., 2009).

Hayvan sağlığını ve işletme ekonomisini tehdit eden buzağı hastalıkları enfeksiyöz (etken) ve enfeksiyöz olmayan (mevsim, barınak koşulları, stres vb.) birçok faktöre bağlı olarak gelişmektedir. İncelenen hastalık üzerinde etkisi olan faktörlerin tek başına etkisinin yanında çoklu etkilerinin de öğrenilmesi teşhis ve tedavinin başarısını etkilemektedir. Bu amaçla, çok değişkenli istatistiksel yöntemlerin (lojistik regresyon, çoklu doğrusal regresyon, faktör analizi vb.) kullanımını son yıllarda gelişen yazılımlarla giderek artmıştır. Diğer taraftan, güncel bir kavram olan Endüstri/ Sanayi 5.0 kavramının (toplum odaklı insansız teknoloji) hayvancılık üzerine yansımalarını değerlendirecek olursak, sektörün i) ilkel, ii) ekstansif/göçer, iii) entansif/yoğun ve iv) modern hayvancılık olarak özetleyebileceğimiz gelişim evreleri, Hayvancılık 4.0 olarak yorumlanabilirken, son gelişmelerle birlikte yapay zeka ve dijital teknolojilerin hayvancılıkta uygulanmasıyla/kullanılmasıyla birlikte Hayvancılık 5.0 kavramından söz edilebilir. Bu durum teknolojinin hayvansal üretime sağladığı katkı olarak değerlendirilebilir ve gelişime açık bir alandır (Yaman ve ark., 2021). Buna ek olarak, özellikle beşeri hekimlik başta olmak üzere sağlık alanında yaygın olarak kullanılan makine öğrenmesi yöntemleri (Yapay sinir ağları, Rassal orman algoritması, Naif Bayes, K ortalamalar, Destek vektör makinesi vb.) ile yapılan modellemeler ve sınıflandırmalar da bütüncül bir bakış açısı sunarak araştırmacının kararlarını destekleyici bir rol oynamaktadır (Haupt ve Haupt, 2004; Gülten ve Doğan, 2009). Hayvansal üretimde ve veteriner hekimlik alanında makine öğrenmesi yöntemlerinin kullanıldığı kısıtlı sayıda çalışma bulunmakla (Ergülen ve Topuz, 2008; Görgülü, 2012; Takma ve ark., 2012; Cihan ve ark., 2020) birlikte, bu çalışmaların da sahada karar destekleme aracı olarak kullanılması faydalı olacaktır.

Yapay Sinir Ağları (YSA), insan beyninin bir bilgiyi öğrenme, ilişkilendirme, karar verme, genelleme vb. özelliklerinden ilham alarak bu özellikleri veri setleri üzerinde kısa sürede ve adaptif bir şekilde uygulayabilme mantığına dayanan bir yöntemdir (Pirim, 2006). Temel fonksiyonu verilen bir girdiye karşılık belirli bir hata payı ile çıktı oluşturmaktır. İlgili olaya ait örnekler yardımıyla ağın eğitime (öğrenme) düzeyi bu hata payını etkileyen unsurlardan biridir (Öztemel, 2003).

Rassal Orman Algoritması (RO), topluluk öğrenme yöntemlerinden biridir. Elde edilen fazla sayıda karar ağacının sonuçları birleştirilerek topluluk adına ortak bir karara varılması mantığına dayanmaktadır. Ormanda yer alan karar ağaçları, veri setinden rastgele örneklemeler seçilerek oluşturulur. Bunu takiben yine rastgele seçilen bir özellik ile makine öğrenimi sağlanır. Son olarak farklı karar ağaçlarından elde edilen sonuçlar seçime tabi tutularak topluluğu en iyi temsil eden sınıf tahmini sunulur (Liaw ve Wiener, 2002).

Lojistik Regresyon Analizi (LR), iki kategorili veya sıralı özelliğe sahip bağımlı değişken üzerinde bir veya birden çok bağımsız değişkenin etkisinin incelenmesinde kullanılmaktadır. Değişken veya dağılım hakkında fazla varsayımının olmaması ve sonuçların açık ve kolay yorumlanabilir nitelikte olmasından dolayı sıklıkla tercih edilmektedir (Budak ve Erpolat, 2012).

Bu çalışmada buzağı hastalıkları üzerine etkili faktörlerin YSA, RO ve LR ile sınıflandırılması, kullanılabilirliğinin ortaya konulması ve bu yöntemlerin performanslarının karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışmanın materyalini 2018-2021 yılları arasında Erciyes Üniversitesi, Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi’nde tutulan 54 baş buzağıya ait işletme kayıtları oluşturmuştur. Çalışma kapsamında yapılacak istatistik analizlerde kullanılmak üzere buzağılara ait hastalık geçmişi bağımlı değişken; buzağuların cinsiyeti, ırkı, doğum mevsimi, anne ırkı, anne laktasyon sayısı ise bağımsız değişken olarak kaydedilmiştir. Değişkenlerden hastalık geçmişi (var, yok), cinsiyet (dişi, erkek), ırk (Holstein, Simmental, Montofon, diğer), doğum mevsimi (ilkbahar, yaz, sonbahar, kış) ve anne ırkı (Holstein, Simmental, Montofon, diğer) kategorik olarak; anne laktasyon sayısı ise kesikli sayısal veri olarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Analizlerde, makine öğrenmesi yöntemleri için model başarıları da göz önünde tutularak veri seti, YSA için %70 eğitim ve %30 test kümesi, RO için %80 eğitim, %20 test+validasyon kümesi olarak ayrılmıştır. YSA’da gizli katman sayısı 2 (iki) olarak belirlenerek Çok Katmanlı Algılayıcılar Modeli ve Geriye Doğru Öğrenme Kuralı kullanılmıştır. LR’de değişkenler öncelikle tek değişkenli lojistik regresyon analizi ile test edilerek buzağı hastalıkları üzerindeki etkileri

incelenmiş,  $P < 0.25$  olan bağımsız değişkenler aday değişkenler olarak belirlenmiş ve çok değişkenli regresyon modeline dahil edilmiştir. Daha sonra Geriye Doğru Çıkarma Yöntemi uygulanmıştır. Değişkenlerin LR modelindeki önemliliği Wald testi ile değerlendirilmiştir. Analizler JASP 0.14.1 paket programı (<https://jasp-stats.org/>) kullanılarak yapılmıştır.

YSA, RO ve LR yöntemlerinin sınıflandırma başarılarının değerlendirilmesi amacıyla, buzağuların geçmişe yönelik kayıtları altın standart kabul edilerek karışıklık matrisleri (confusion matrix) oluşturulmuştur. Elde edilen karışıklık matrisleri aracılığıyla duyarlılık (sensitivity), seçicilik (specifity), kesinlik (precision), doğruluk (accuracy), f-ölçümü (f-measure), Youden indeksi, ROC eğrisi altında kalan alan (AUC) ve Cohen's kappa katsayısı hesaplanmıştır. Duyarlılık, sınıflandırma yönteminin gerçekten hasta olanları ayırma düzeyidir. Seçicilik, sınıflandırma yönteminin gerçekten sağlıklı olanları ayırma düzeyidir. Kesinlik, hasta olarak tahmin edilenlerin gerçekte kaç tanesinin hasta olduğunu göstermektedir. F-Ölçümü, kesinlik ve duyarlılığın harmonik ortalaması olup, sınıflandırma yönteminin başarısının değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Doğruluk, sınıflandırma yönteminin hasta ve sağlıklılar için toplam doğru tanı düzeyini göstermektedir. Youden indeksi, ROC eğrisi aracılığıyla duyarlılık ve seçicilik kriterlerini aynı anda değerlendirerek doğru pozitiflik ile yanlış pozitiflik arasındaki farkı maksimum yapma esasına dayanmaktadır. Cohen's kappa katsayısı, iki ayrı gözlem sonucunun uyumluluğunu değerlendiren nonparametrik bir istatistiktir (Cohen, 1960). ROC eğrisi altında kalan alan (AUC), sınıflandırma yönteminin hasta ve sağlıklıları ayırma işlemindeki başarı düzeyini göstermektedir. Elde edilen değer 1'e yaklaştıkça testin ayırt etme yeteneği artmaktadır. Bu durum grafik üzerinde çizilen eğrinin sol üst köşeye yaklaşması anlamına gelmektedir (DeLong ve ark., 1988).

Gözlem değerleri ve sınıflandırma sonuçları arasındaki farklılık Pearson Ki kare istatistiği ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $P < 0.05$  olarak belirlenmiştir.

Karışıklık matrisi örneği Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** İki sınıf için oluşturulmuş karışıklık matrisi örneği

		Sınıflandırma Sonucu		
		Pozitif (Hasta)	Negatif (Sağlıklı)	Toplam
Gerçek Durum	Pozitif (Hasta)	Doğru Pozitif (DP)	Yanlış Negatif (YN)	DP + YN
	Negatif (Sağlıklı)	Yanlış Pozitif (YP)	Doğru Negatif (DN)	YP + DN
	Toplam	DP + YP	YN + DN	A + B + C + D

*DP (Doğru Pozitif): Sınıflandırma sonucunda doğru tahmin edilen hasta sayısı; YN (Yanlış Negatif): Sınıflandırma sonucunda yanlış tahmin edilen hasta sayısını; DN (Doğru Negatif): Sınıflandırma sonucunda doğru tahmin edilen sağlıklı sayısını; YP (Yanlış Pozitif): Sınıflandırma sonucunda yanlış tahmin edilen sağlıklı göstermektedir.*

Yöntemlerin başarılarının değerlendirilmesinde kullanılan kriterler, Tablo 1'de yer alan bilgilere göre aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

$$\text{Duyarlılık} = \text{DP} / (\text{DP} + \text{YN}) \text{ (Kraemer, 1992)}$$

$$\text{Seçicilik} = \text{DN} / (\text{DN} + \text{YP}) \text{ (Kraemer, 1992)}$$

$$\text{Kesinlik} = \text{DP} / (\text{DP} + \text{YP}) \text{ (Shafi ve Rather, 2005)}$$

$$\text{F-Ölçümü} = 2 \times (\text{Duyarlılık} \times \text{Kesinlik}) / (\text{Duyarlılık} + \text{Kesinlik}) \text{ (Miller ve Brown, 2018)}$$

$$\text{Doğruluk} = (\text{DP} + \text{DN}) / (\text{DP} + \text{YP} + \text{DN} + \text{YN}) \text{ (Kraemer, 1992)}$$

$$\text{Youden indeksi (J(c))} = [\text{duyarlılık(c)} + \text{Seçicilik(c)} - 1] \text{ (Armitage ve ark., 2008)}. \text{ c ifadesi, seçilen kesim noktasını göstermektedir.}$$

Cohen's kappa katsayısı ( $\kappa$ ) =  $(\text{Pr}(a) - \text{Pr}(e)) / (1 - \text{Pr}(e))$  formülü ile hesaplanmaktadır. Formülde yer alan  $\text{Pr}(a)$ , iki gözlem sonucunun uyumlarının toplam orantısını;  $\text{Pr}(e)$ , elde edilen uyumun şansa bağlı gerçekleşme olasılığını göstermektedir (Cohen, 1960). Bulunan  $\kappa$  değeri; 0'dan küçük ise kötü, 0.01 ile 0.20 arasında ise önemsiz, 0.21 ile 0.40 arasında ise zayıf, 0.41 ile 0.60 arasında ise orta, 0.61 ile 0.80 arasında ise iyi, 0.81 ile 1.00 arasında ise çok iyi düzeyde uyum olduğu yorumu yapılmaktadır (Landis ve Koch, 1977).

Çalışma kapsamında kullanılan 54 baş buzağıya ilişkin karakteristikler Tablo 2' de sunulmuştur.

**Tablo 2.** Buzağılara ilişkin karakteristikler

Değişkenler		Hastalık Geçmişi		Toplam (n=54)
		Yok (n=19)	Var (n=35)	
<b>Kategorik Değişkenler</b>				
Cinsiyet	Dişi	13	25	38
	Erkek	6	10	16
İrk	Holstein	16	27	43
	Simmenthal	0	4	4
	Montofon	1	2	3
	Diğer	2	2	4
Anne İrki	Holstein	17	30	47
	Simmenthal	0	1	1
	Montofon	1	2	3
	Diğer	1	2	3
Mevsim	İlkbahar	5	4	9
	Yaz	7	3	10
	Sonbahar	3	16	19
	Kış	4	12	16
<b>Sayısal Değişkenler</b>				
Anne Laktasyon Sayısı	Ortanca	3.00	2.00	2.00
	1. ve 3. Çeyreklik	1.00 - 4.00	1.00 - 3.00	1.00 - 3.00
	Minimum	1.00	1.00	1.00
	Maksimum	6.00	5.00	6.00

**Bulgular**

Analiz sonucunda sınıflandırma yöntemlerine (YSA, RO, LR) göre oluşturulan karışıklık matrisleri Tablo 3'te verilmiştir.

**Tablo 3.** Sınıflandırma yöntemlerine göre oluşturulan karışıklık matrisi

		YSA	Sınıflandırma Sonucu	Toplam
Gerçek Durum	Hasta	27 (%50.0)	8 (%14.8)	35 (%64.8)
	Sağlıklı	1 (%1.9)	18 (%33.3)	19 (%35.2)
	Toplam	28 (%51.9)	26 (%48.1)	54 (%100)
<b>RO</b>		<b>Sınıflandırma Sonucu</b>		
Gerçek Durum	Hasta	24 (%44.4)	11 (%20.4)	35 (64.8)
	Sağlıklı	6 (%11.1)	13 (%24.1)	19(35.2)
	Toplam	30 (%55.5)	24 (%44.5)	54 (%100)
<b>LR</b>		<b>Sınıflandırma Sonucu</b>		
Gerçek Durum	Hasta	29 (%53.7)	6 (%11.1)	35 (%64.8)
	Sağlıklı	9 (%16.7)	10 (%18.5)	19 (%35.2)
	Toplam	42 (%70.4)	12 (%29.6)	54 (%100)

Buna göre YSA, RO ve LR'nin buzağı hastalıklarını sırasıyla, %83.3 (%50+%33.3), %68.5 (%44.4+%24.1) ve %72.2 (%53.7+%18.5) düzeyinde doğru sınıflandırdığı; buna karşılık %16.7 (%1.9+%14.8), %31.5 (%11.1+%20.4) ve %27.8 (%16.7+%11.1) düzeyinde yanlış sınıflandırdığı tespit edilmiştir (Tablo 3).

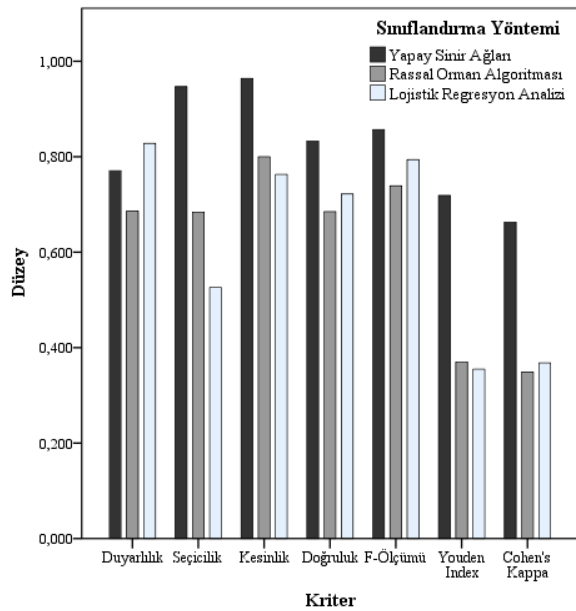
lanılan duyarlılık, seçicilik, kesinlik, doğruluk, F-ölçümü, Youden index ve Cohen's kappa kriterleri için elde edilen sonuçlar Tablo 4'te ve Şekil 1'de verilmiştir.

Sınıflandırma yöntemlerinin karşılaştırılmasında kul

**Tablo 4.** Sınıflandırma yöntemlerinin performans tablosu

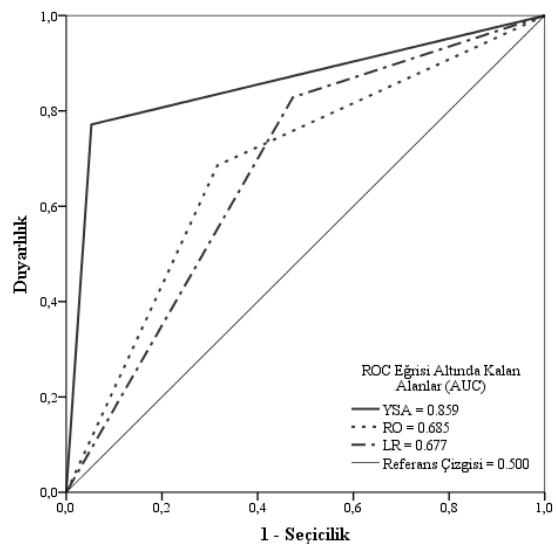
Kriter/Yöntem	YSA (95% GA)	RO (95% GA)	LR (95% GA)
Duyarlılık	0.771 (0.599-0.896)	0.686 (0.507-0.832)	0.828 (0.664-0.934)
Seçicilik	0.947 (0.740-0.999)	0.684 (0.435-0.874)	0.526 (0.289-0.756)
Kesinlik	0.964 (0.817-0.999)	0.800 (0.614-0.923)	0.763 (0.598-0.886)
Doğruluk	0.833 (0.707-0.921)	0.685 (0.545-0.805)	0.722 (0.584-0.835)
F-Ölçümü	0.857 (0.765-0.950)	0.739 (0.619-0.859)	0.794 (0.693-0.896)
Youden Index	0.719 (0.547-0.980)	0.370 (0.110-0.629)	0.355 (0.098-0.612)
Cohen's Kappa	0.663 (0.469-0.857)	0.349 (0.100-0.598)	0.368 (0.108-0.629)
Pearson Ki-Kare	$\chi^2 = 25.49$ , $P < 0.05$	$\chi^2 = 6.83$ , $P < 0.05$	$\chi^2 = 7.44$ , $P < 0.05$

YSA: Yapay Sinir Ağları; RO: Rastal Orman Algoritması; LR: Lojistik Regresyon Analizi; GA: Güven Aralığı;  $\chi^2$ : Ki kare değeri; P: P değeri

**Şekil 1.** Sınıflandırma yöntemlerinin performanslarını gösteren çubuk grafiği.

Sonuçlara göre en yüksek ve en düşük performans değerleri sırasıyla, duyarlılık için LR (0.828) ve RO (0.686); seçicilik için YSA (0.947) ve LR (0.526); kesinlik için YSA (0.964) ve LR (0.763); doğruluk için YSA (0.833) ve RO (0.685); F-ölçümü için YSA (0.857) ve RO (0.739); Youden index için YSA (0.719) ve LR (0.355); Cohen's kappa katsayısı için YSA (0.663) ve RO (0.349) olarak belirlenmiştir. Elde edilen Cohen's kappa katsayısına göre, sınıflandırma sonuçları ile gerçek durum arasındaki uyumun YSA için iyi düzeyde, RO ve LR için zayıf düzeyde olduğu görülmüştür. Bunlara ek olarak sınıflandırma sonuçları ve gerçek durum arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P < 0.05$ ) (Tablo 4; Şekil 1).

Sınıflandırma yöntemlerine göre çizilen ROC eğrileri ve hesaplanan AUC değerleri Şekil 2'de sunulmuştur.

**Şekil 2.** Sınıflandırma yöntemlerine göre çizilen ROC eğrileri ve hesaplanan AUC değerleri.

Eğri altında kalan alanlara göre sınıflandırma yöntemlerinin hasta ve sağlıklı buzağları ayırt etme gücü sırasıyla, YSA için 0.859, RO için 0.684 ve LR için 0.677 bulunmuştur (Şekil 2).

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, YSA için %70'i eğitim kümesi ve %30'u test kümesi olmak üzere 54 buzağı verisi kullanılmıştır. Analizler sonucunda hastalıklı ve sağlıklı buzağları en yüksek doğru sınıflandırma oranı YSA yöntemi ile hesaplanmıştır [Doğruluk=0.833 (0.707-0.921)]. Hastalıklı buzağları en iyi sınıflandıran yöntemin LR olduğu görülmüştür [Duyarlılık=0.828 (0.664-0.934)]. Sağlıklı buzağları en iyi tahmin eden yöntemin ise yine YSA olduğu görülmektedir [Seçicilik=0.947 (0.740-0.999)]. Zaborski ve ark. (2018) tarafından %67'si eğitim kümesi ve %33'ü test kümesi kullanılarak yapılan çalışmada, güç doğum tespitinde YSA ve LR sınıflandırması yapılmıştır. Analiz sonucunda YSA ve LR için sırasıyla doğruluk

düzeyi 0.81, 0.82; duyarlılık düzeyi 0.79, 0.63; seçicilik düzeyi ise 0.82, 0.90 olarak belirtilmiştir (Zaborski ve ark., 2018). Grzesiak ve ark. (2010) tarafından % 84 eğitim ve %16 test kümesi kullanılarak yapılan çalışmada, suni tohumlama zorlukları olan ineklerin tespitinde YSA'nın LR'ye göre hem duyarlılık hem de seçicilik bakımından daha yüksek bir değere sahip olduğu belirtilmiştir (Grzesiak ve ark., 2010). Cihan ve ark. (2020)'nin yenidoğan kuzular üzerinde yaptığı çalışmada elde ettikleri sonuçlara göre, YSA ve RO'nun da olduğu makine öğrenmesi yöntemlerinin hayvan hastalıklarının erken teşhis ve tedavisinde kullanılarak ekonomik anlamda katkı sağlayabileceğini bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada duyarlılık kriteri hariç, incelenen diğer tüm kriterler (doğruluk, seçicilik, kesinlik, F-ölçümü, Youden indeksi, ROC eğrisi altında kalan alan ve Cohen's kappa katsayısı) yönünden YSA'nın RO ve LR'ye üstünlük sağladığı ve buzağı hastalıklarının sınıflandırılmasında öncelikli olarak tercih edilebileceği ortaya çıkmıştır. Ayrıca bu konuda gelecekte yapılması planlanan çalışmalarda daha geniş örneklem ve daha kapsamlı kayıtlar kullanılmasının başarı oranını arttıracığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada, YSA, RO ve LR sınıflandırma yöntemlerinin buzağı hastalıklarında kullanılabilirliği ortaya konularak, hastalıklar üzerinde etkisi olan bazı faktörlerin belirli bir yanılma payıyla doğru sınıflandırıldığı görülmüştür. Bu yöntemlerin hayvancılık işletmelerinde buzağı hastalıklarının proaktif yaklaşımla belirlenmesine ve ekonomik kayıpların önlenmesine imkan sağlayacağı düşünülmektedir.

#### Kaynaklar

- Akyüz E, Naseri A, Erkilic EE, Makav M, Uzlu E, Kırmızıgül AH, Gökçe G. Neonatal buzağı ishalleri ve sepsis. *Kafkas Univ Inst Nat Appl Sci J* 2017; 10(2): 181-91.
- Alpan O. Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği. Üçüncü Baskı. Ankara: Şahin Matbaası 1994; ss. 219-20.
- Armitage P, Berry G, Matthews JNS. *Statistical Methods in Medical Research*. Fourth Edition. New York: John Wiley & Sons 2008; pp. 692-711.
- Ayvazoğlu Demir P, Aydın E, Ayvazoğlu C. Estimation of the economic losses related to calf mortalities kars province, in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2019; 25(3): 283-9.
- Berglund B, Steinbock L, Elvander M. Causes of stillbirth and time of death in Swedish Holstein calves examined post mortem. *Acta Vet Scand* 2003; 44(3): 1-10.
- Budak H, Erpolat S. Kredi riski tahmininde yapay sinir ağları ve lojistik regresyon analizi karşılaştırılması. *AJIT-e* 2012; 3(9): 23-30.
- Cihan P, Kalıpsız O, Gökçe E. Yenidoğan kuzularda bilgisayar destekli tanı. *Pamukkale Univ Muh Bilim Derg* 2020; 26(2): 385-91.
- Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas* 1960; 20(1): 37-46.
- DeLong ER, DeLong DM, Clarke-Pearson DL. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: A nonparametric approach. *Biometrics* 1988; 44(3): 837-45.
- Ergülen A, Topuz D. İşletmelerdeki verimliliğin tahmin edilebilmesi ve bu verimliliği etkileyen faktörlerin MLP tipi Yapay Sinir Ağları tekniği ile belirlenmesi. *Hatay Mustafa Kemal Univ Sosyal Bilimler Enstitüsü Derg* 2008; 5(10): 219-31.
- Goharshahi M, Azizzadeh M, Lidauer L, Steininger A, Kicking F, Öhlschuster M, Auer W, Klein-Jöbstl D, Drillich M, Iwersen M. Monitoring selected behaviors of calves by use of an ear-attached accelerometer for detecting early indicators of diarrhea. *J Dairy Sci* 2021; 104(5): 6013-9.
- Gorgulu O. Prediction of 305-day milk yield in Brown Swiss cattle using artificial neural networks. *S Afr J Anim Sci* 2012; 42(3): 280-7.
- Grzesiak W, Zaborski D, Sablik P, Żukiewicz A, Dybus A, Szatkowska I. Detection of cows with insemination problems using selected classification models. *Comput Electron Agric* 2010; 74(2): 265-73.
- Gundelach Y, Essmeyer K, Teltscher MK, Hoedemaker M. Risk factors for perinatal mortality in dairy cattle: cow and foetal factors, calving process. *Theriogenology* 2009; 71(6): 901-9.
- Gülten A, Doğan Ş. Genetik algoritmalar yönteminin biyomedikal verileri üzerindeki uygulamaları. *Fırat Üniv Doğu Araştırmaları Derg* 2009; 7(1): 12-6.
- Haupt RL, Haupt SE. *Practical Genetic Algorithms*. Second Edition. New York: John Wiley & Sons 2004; pp. 1-3.
- Klein D, Kern A, Lapan G, Benetka V, Möstl K, Baumgartner W. Evaluation of rapid assays for the detection of bovine coronavirus, rotavirus A and *Cryptosporidium parvum* in faecal samples of calves. *Vet J* 2009; 182(3): 484-6.
- Kraemer HC. *Evaluating medical tests: Objective and quantitative guidelines*. Newbury Park, California: Sage publications Inc; 1992.
- Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33(1): 159-74.

- Liaw A, Wiener M. Classification and regression by randomForest. R News 2002; 2(3): 18-22.
- Lombard JE, Garry FB, Tomlinson SM, Garber LP. Impacts of dystocia on health and survival of dairy calves. J Dairy Sci 2007; 90(4): 1751-60.
- Mee JF. Managing the dairy cow at calving time. Vet Clin North Am Food Anim 2004; 20(3): 521-46.
- Meijering A. Dystocia and stillbirth in cattle-A review of causes, relations and implications. Livest Prod Sci 1984; 11(2): 143-77.
- Miller DD, Brown EW. Artificial intelligence in medical practice: The question to the answer? Am J Med 2018; 131(2): 129-33.
- Öztemel E. Yapay Sinir Ağları. Beşinci Baskı. İstanbul: Papatya Yayıncılık 2003; ss. 29-31.
- Piccione G, Casella S, Pennisi P, Giannetto C, Costa A, Caola G. Monitoring of physiological and blood parameters during perinatal and neonatal period in calves. Arq Bras Med Vet Zootec 2010; 62(1): 1-12.
- Pirim H. Yapay zeka. J Yaşar Univ 2006; 1(1): 81-93.
- Shafi SM, Rather RA. Precision and recall of five search engines for retrieval of scholarly information in the field of biotechnology. Webology 2005; 2(2): 42-7.
- Singh DD, Kumar M, Choudhary PK, Singh HN. Neonatal calf mortality-An overview. Intas Polivet 2009; 10(2): 165-9.
- Takma Ç, Atıl H, Aksakal V. Çoklu Doğrusal Regresyon ve Yapay Sinir Ağı modellerinin laktasyon süt verimlerine uyum yeteneklerinin karşılaştırılması. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2012; 18(6): 941-4.
- Yaman H, Sungur O, Dulupçu MA. Dünyada tarım ve hayvancılığın dönüşümü: Teknolojiye dayalı uygulamalar ve devrimler. Tarım Ekonomisi Dergisi 2021; 27(1): 128-30.
- Yıldız AŞ. Ankara İli Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği'ne bağlı süt sığırcılığı işletmelerinde bazı endemik hastalıkların işletme düzeyinde meydana getirdiği ekonomik kayıplar, Doktora Tezi, Ankara Üniv Sağ Bil Enst, Ankara 2008.
- Zaborski D, Proskura WS, Grzesiak W. The use of data mining methods for dystocia detection in Polish Holstein-Friesian Black-and-White cattle. Asian-Australasian J Anim Sci 2018; 31(11): 1700-13.







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

Araştırma Makalesi / Research Article  
19(1), 101-106, 2022  
DOI: 10.32707/ercivet.1142559

### Farklı Dönemlerde Biçilen Korunga Kuru Otunun Kuzularda Besi Performansı Üzerine Etkileri

Abdullah ÖZBİLGİN<sup>1,a</sup>, Recep GÜMÜŞ<sup>1,b</sup>, Behiç COŞKUN<sup>2,c</sup>

<sup>1</sup>Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Konya Gıda ve Tarım Üniversitesi, Tarım ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Konya-TÜRKİYE

ORDIC: <sup>a</sup>0000-0002-1675-3176; <sup>b</sup>0000-0002-8812-191X; <sup>c</sup>0000-0002-4701-7673

**Corresponding author:** Abdullah ÖZBİLGİN; abduallahozbilgin@gmail.com

**How to cite:** Özbilgin A, Gümüş R, Coşkun B. Farklı dönemlerde biçilen korunga kuru otunun kuzularda besi performansı üzerine etkileri. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 101-106

**Öz:** Bu araştırmada konsantre yem ağırlıklı klasik besi ile korunga kuru otu ağırlıklı besi karşılaştırılması amacıyla Kangal Akkaraman ırkı erkek kuzu besi performansları, yem tüketim ve yemden yararlanma özellikleri incelendi. Araştırmada toplam 48 baş Akkaraman erkek kuzu kullanılmış ve besi 56 gün sürdürüldü. Deneme grupları Kontrol, % 10 çiçeklenme (10Ç), %50 çiçeklenme (50Ç) ve tohum bağlama (MB) döneminde biçilen korunga ile yapılmış olup; besi başı ve besi sonu canlı ağırlıkları belirlendi. Besi sonu ve başı canlı ağırlıkları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşmadı (P>0.05). Günlük canlı ağırlık artışları gruplar (Kontrol, 10Ç, 50Ç ve MB) en yüksek grup 10Ç bulundu. Ancak, günlük canlı ağırlık artışı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluştu (P<0.05). Kontrol grubunda konsantre: kaba yem oranı 80:20 olduğunda canlı ağırlık artışı 10Ç grubunda konsantre: kaba yem oranı 30/70 olduğundan daha azdı. Sonuç olarak; kaba yem ağırlıklı besleme yapılarak klasik besi ile sağlanan canlı ağırlık artışından daha yüksek ve doğal besleme yapılabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Besi, canlı ağırlık, kaba yem, konsantre yem

#### Effects of Sainfoin Hay Harvested in Different Periods on Fattening Performance in Lambs

**Abstract:** In this study, fattening performances, feed consumption and feed efficiency characteristics of Kangal Akkaraman male lambs were investigated in order to compare the classical fattening with concentrated feed and the fattening with sainfoin roughage. In the study, a total of 48 Akkaraman male lambs were used and the fattening lasted 56 days. Experimental groups were made with sainfoin harvested at the control, 10% flowering (10Ç), 50% flowering (50Ç) and seedpod (MB) periods; Live weights at the beginning and end of fattening were determined. There was no statistically significant difference between the groups in terms of body weights at the end and the beginning of fattening (P>0.05). The highest daily body weight gains in groups (Control, 10Ç, 50Ç and MB) were found in group 10Ç. However, there was a statistically significant difference between the groups in terms of daily live weight gain (P<0.05). When the concentrate: roughage ratio is 80:20 in the control group, the body weight gain is less than that of the concentrate: roughage ratio of 30/70 in the 10Ç group. As a result; It is thought that higher and more natural feeding can be made than the live weight gain provided by conventional fattening by feeding with roughage weight.

**Keywords:** Concentrate feed, fattening, live weight, roughage

#### Giriş

Ülkemizde son yıllarda hayvan sayısındaki artışa rağmen hayvansal üretimde sıkıntılar yaşanmaktadır. Hayvansal üretim için önemli bir gereksinim olan kaba yem ihtiyacının bir kısmı çayır-mera alanları ile karşılanmaktadır. Ülkemizde 2018 yılı itibarıyla 14,6 milyon hektar çayır ve mera alanları bulunmaktadır (TÜİK, 2018). Kaba yem ihtiyacının iç dinamiklerle karşılanamaması hayvansal üretimde yem ithalatı talebini doğurmaktadır. Konsantre yem yapımında kullanılan ham maddelerinin çoğunluğunun ithal olması ve yabancı para birimlerinin Türk lirası karşısında aşırı değer kazanması sonucunda yem fiyatları artmaktadır. Yem fiyatlarındaki artıştan etkilenmemek

ve konsantre yem ithalatı yerine tarım alanlarından sulak yerlerde yonca, silajlık mısır gibi yem bitkileri; kıraç alanlarda ise korunga vb. bitkiler ekilmesi ile hayvansal üretim sorunlarına çözüm üretilebilir. Besi ve süt sığırcılığında kaba yem ağırlıklı rasyonlarla ruminantların doğasına uygun, sağlıklı ve daha ekonomik bir besleme yapılabilir.

Korunga çok yıllık bir baklagil kaba yem bitkisidir. Kaba yemler içerisinde yonca (*Medicago sativa*) besin değerleri açısından nitelikli bir yem bitkisi olmasına karşın, sulu tarıma daha uygun yapıdadır. Korunga (*Onobrychis sativa Scop.*) ise yoncaya nazaran soğuğa daha dayanıklı ve kıraç alanlarda yetiştirilmeye daha uygundur. Korunga, besin madde içeriği bakımından yoncaya eşdeğer yapıdadır (Temel 2010). Diğer baklagillerde olduğu gibi, korungada da gelişme devreleri boyunca kuru madde oranı ve veri-

Geliş Tarihi/Submission Date : 21.10.2021

Kabul Tarihi/Accepted Date : 08.02.2022

mi artarken protein oranı ve sindirilme derecesi giderek azalmaktadır (Açıkgöz, 2001). Açıkgöz (2001), biçim dönemine göre korunganın besin madde içeriğine bakıldığında; çiçeklenme öncesinde %21.20 ham protein (HP), %2.10 ham yağ (HY), %22.30 ham selüloz (HS), %44.70 azotsuz öz madde (AÖM); çiçeklenme başlangıcında %18.90 HP, %3.20 HY, %29.80 HS, %42.60 AÖM; tam çiçeklenme döneminde ise %17.30 HP, %3.0 HY, %33.70 HS, %41.00 AÖM içerdiği bildirilmiştir. Korunga bitkisi, yapısında antinutrisyonel maddeler içerir ve bu maddeler: tanenler ve diğer fenolik bileşiklerdir. Korunganın yapısında bulunan tanenler, proteinlerle kondanse olarak protein yıkımlanmasını engellemektedir. By pass protein düzeyi açısından yoncaya göre alternatif bir yem bitkisi olarak kullanılabilir (Borreani ve ark., 2003). Korunga bitkisinde bulunan kondanse tanen konsantrasyonunun çoğu yapraklardadır. Genel olarak korungada kondanse tanen miktarı bitki olgunlaştıkça düşmektedir. Bu düşüş yapraklardaki tanen içeriğinin azalmasıyla ilgilidir (Li ve ark., 2014). Korunga kondanse tanen içeriğinin en yüksek olduğu erken olgunlaşma döneminde azot atılımını, proteinin ruminal yıkımlanabilirliğini ve sindirilebilirliğini azaltmaktadır (Chung ve ark., 2013).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)'e göre 2018 yılında yaklaşık 1.8 milyon dekar alana korunga ekimi yapılmıştır ve yonca, silajlık mısır, fiğ ve yulaftan sonra en çok ekilen yem bitkisidir. Bu kadar yaygın olarak ekilmesine karşılık, korunganın hayvan denemesinde ana değişken olarak kullanılmasıyla ilgili çalışmalar oldukça yetersizdir. Özbilgin (2019)'da yaptığı çalışmada süt sığırlarında yonca yerine korunganın rasyona %33, %66, %100 oranlarında temel değişken olarak kullanmış ve süt verimi parametresi açısından yonca ile benzer sonuçlar elde edildiğini bildirmiştir. Ayrıca süt proteini ve süt yağında da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark elde edilmediği ve korunganın yonca yerine rasyona kaba yem kaynağı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir. Bir başka çalışmada kaba yem kaynağı olarak korunga tüketen düvelerin 800 gr; yonca tüketenlerin ise 670 gr günlük canlı ağırlık artışı sağladıkları bildirilmiştir (Marten ve Ristau, 1987).

Ülkemizde kuzu ya da toklu besisi çoğunlukla yüksek düzeyde konsantre yem ve az miktarda saman kullanılarak yapılmaktadır. Bu çalışma, Kangal Akkaraman erkek kuzu kullanılarak, geleneksele uygun şekilde saman ve kuzu büyütme yeminin ad libitum olarak verildiği kontrol grubu ile, sınırlı miktarda konsantre yem ve üç farklı dönemde biçilen korunga kuru otunun ad libitum olarak verildiği grupların besi performanslarını karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Mevcut araştırma, Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2021/477 no'lu karar yazısına göre başlatıldı. Araştırmanın hayvan materyalini Sivas Damızlık Koyun Keçi Birliği (SDKKB)'ne ait yaklaşık 5 aylık yaşta 48 baş Kangal Akkaraman erkek kuzu oluşturdu. Araştırma, Sivas ili Ulaş ilçesinde (39°22'37.1"N-36°55'14.8"E) Sivas Damızlık Koyun Keçi Birliği'nin açılında yapıldı. Araştırmada kullanılan hayvanlar her biri 12 adet olacak şekilde bir kontrol ve üç deneme grubuna ayrıldı. Araştırmada kullanılan kuzular kapalı barınak şartlarında her bölmede (3m x 2 m) 12 kuzu olacak şekilde barındırıldı.

Araştırma kapsamında kullanılacak korunga kuru otu ise Ulaş ilçesi Boğazdere köyünde %10 çiçeklenme, %50 çiçeklenme ve tohum bağlama dönemlerinde biçilerek kurutulup, balyalandı. Araştırmada kullanılan kuzu büyütme yemi ise piyasadan temin edildi.

Araştırma'nın başlangıcında hayvanlar iki gün üst üste sabah aç karnına tartıldı. Alıştırma periyodu başlangıcında yapılan tartıma göre canlı ağırlık ortalamaları birbirine yakın olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Araştırma, 12 gün alıştırma ve 56 gün deneme olarak uygulandı. Yem tüketimi her gün artan yemler tartıldı ve her 14 günün sonunda toplam verilen yemden artan yem çıkartılarak belirlendi. Yemden yararlanma oranı ise deneme sonunda her kg canlı ağırlık artışı için tüketilen yem miktarı hesaplanarak belirlendi.

Günlük rasyon olarak kontrol grubuna ad libitum saman ve ad libitum kuzu büyütme yemi verildi. Diğer gruplara ise %10 çiçeklenme (10Ç), %50 çiçeklenme (50Ç) ve tohum bağlama (MB) döneminde biçilen korunga (ad libitum) ve canlı ağırlık ortalamalarının %1.5'u kuzu büyütme yemi verildi. Araştırma süresine hayvanların önünde taze ve temiz su bulunduruldu. Her 14 günün sonunda hayvanların canlı ağırlıkları belirlendi. Tartım sonrası deneme gruplarının tüketeceği kuzu büyütme yemi canlı ağırlık ortalamasının %1.5'u olarak yeniden hesaplandı. Denemede kullanılan yem ham madde analizleri Tablo 1'de verildi. Deneme sonunda da yine 2 gün art arda önlerindeki yem alınarak yem verilmeden sabah tartım yapıldı. Araştırma süresince kullanılan kaba ve konsantre yemlerin analizleri yapıldı. AOAC (1997) bildirilen metodlara uygun olarak kuru madde (KM), HY, ham kül (HK), HP; Van Soest (1991) tarafından bildirilen metoda uygun olarak nötral deterjan fiber (NDF) ve asit deterjan fiber (ADF); NRC (2001)'e göre metabolik enerji (ME) değerleri de hesaplama yoluyla belirlendi.

**Tablo 1.** Denemede kullanılan korunga kuru otları ve kuzu büyütme yeminin besin madde analizleri

Analiz	10Ç*	50Ç*	TB*	BS*	KBY*
Ham protein, %	15.89	15.44	13.14	7.61	14.59
Ham yağ, %	1.96	1.99	1.31	1.12	4.71
Ham Kül,%	6.26	6.51	6.48	8.64	5.92
NDF,%	38.74	43.07	43.82	62.04	28.25
ADF,%	34.99	38.11	39.88	41.85	13.31
NFC*,%	37.14	32.99	35.24	20.59	46.53
Lignin,%	10.31	9.59	11.05	11.13	4.76
ME, Mcal/kg	2.05	1.97	1.86	1.47	2.60

\* 10Ç: %10 çiçeklenme dönemi korunga kuru otu; 50Ç: %50 çiçeklenme dönemi korunga kuru otu; TB: Tohum bağlama döneminde korunga kuru otu; BS: Buğday samanı; KBY: Kuzu büyütme yemi.

NDF: Nötral deterjan fiber, ADF: Asit deterjan fiber, NFC: Nonfiber karbonhidrat.

ME: Metabolik enerji (Kaba yem için) (15.20 Sindirilebilir HP + 34.20 SHY + 12.8 Sindirilebilir HS + 15.95 Sindirilebilir AÖM) / 4.184).

ME: Metabolik enerji (Konsantre yem için) (28,71\*HP+(74,16\*HY)+(11,96\*HS)+(33,49\*AÖM).

Araştırmada gruplar arasında çeşitli özellikler bakımından gözlenen farklılıkların önemliliğinin saptanmasında tek yönlü varyans analizi, gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde ise Duncan testi kullanıldı. Veriler SPSS 21 paket programı kullanılarak analiz edildi.

### Bulgular

Besi performansı açısından erkek kuzularda besi başı ile sonundaki canlı ağırlığa ve günlük canlı ağırlık artışına ait veriler Tablo 2'de verildi. Denemede besi başı ve sonu ortalama canlı ağırlıklar gruplara göre sırasıyla 43.09, 45.25, 45.8, 45.08; 53.36, 57.38, 55.56, 53.97 kg'dı. Deneme başlangıcı ve sonunda ortalama ağırlık bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşmadı ( $P>0.05$ ). Deneme sonunda günlük canlı ağırlık artışı açısından en yüksek değer kontrol grubunda sağlanamadı. Besi sonundaki en yüksek günlük canlı ağırlık artışı 288.90 g ile 10Ç grubunda sağlandı. En düşük günlük canlı ağırlık artışı 211.60 g ile TB'de sağlandı. Günlük canlı ağırlık artışı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ( $P<0.05$ ).

Deneme boyunca kaba-konsantre yem olarak kuru madde tüketimleri Tablo 3'de sunuldu. Deneme sonunda kuru madde tüketimlerine bakıldığında en yüksek konsantre yem tüketimi ortalama 1596 g/gün ile kontrol grubunda sağlandı. En düşük konsantre yem tüketimi ise 637 g/gün ile günlük canlı ağırlık artışının en yüksek olduğu TB grubunda sağlandı. En düşük yem tüketimi ad-libitum saman ve konsantre yem tüketildiği kontrol grubunda sağlandı.

Araştırmada 1 kg canlı ağırlık artışı sağlanması için sırasıyla Kontrol (6.53 kg konsantre yem ve 1.31 kg buğday samanı), 10Ç (2.24 kg konsantre yem ve 5.05 kg %10 çiçeklenme korunga kuru otu), 50Ç (2.83 kg konsantre yem ve 6.41 kg %50 çiçeklenme korunga kuru otu) ve TB (3.01 kg konsantre yem ve 6.55 kg tohum bağlama dönemi korunga kuru otu) gruplarında kuru madde tüketimi sağlandı. Yemden yararlanma oranı açısından 10Ç en az konsantre yem tüketildiği bunun mukabilinde toplam yem tüketiminin en düşük ve yemden yararlanmanın en yüksek olduğu gruptu (Tablo 4). Kontrol grubunda diğer gruplardan neredeyse iki katı kadar ekstra konsantre yem tüketimi olduğu görüldü (Tablo 5).

**Tablo 2.** Deneme süresince hayvanların canlı ağırlık (kg) ve canlı ağırlık artışları (g/gün)

Canlı Ağırlık Artışı	Kontrol	10Ç	50Ç	TB	P değeri
Deneme Başlangıcı	43.09±1.26	45.25±1.28	45.8±1.21	45.08±1.06	0.10
Canlı Ağırlık, kg					
Deneme Sonu Canlı Ağırlık, kg	53.36±1.73	57.38±1.30	55.56±1.16	53.97±1.12	0.18
Günlük Canlı Ağırlık Artışı, g	244.50 <sup>ab</sup> ±24.40	288.90 <sup>a</sup> ±11.70	232.40 <sup>b</sup> ±14.80	211.60 <sup>b</sup> ±10.80	0.01*

Kontrol: Ad libitum kuzu büyütme yemi+ Ad libitum buğday samanı

10Ç: %10 çiçeklenme döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)

50Ç: %50 çiçeklenme döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)

TB: Tohum bağlama döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)

**Tablo 3.** Deneme boyunca KM tüketim miktarları (g/gün)

	Kontrol	10Ç	50Ç	TB
<b>Korunga kuru otu. g</b>	-	1444	1520	1521
<b>Buğday samanı. g</b>	321	-	-	-
<b>Kuzu büyütme yemi. g</b>	1596	649	659	637

*Kontrol: Ad libitum kuzu büyütme yemi + Ad libitum buğday samanı*

*10Ç: %10 çiçeklenme döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)*

*50Ç: %50 çiçeklenme döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)*

*TB: Tohum bağlama döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)*

Korunga tüketiminin en düşük olduğu 10Ç grubu en yüksek yemden yararlanma oranına sahipti. Toplam yem tüketimin en yüksek olduğu 50Ç ve TB gruplarıydı.

**Tablo 4.** Deneme gruplarında yemden yararlanma oranları (yem/kg canlı ağırlık artışı)

	Kontrol	10Ç	50Ç	TB
<b>Korunga kuru otu</b>	-	5.05	6.41	6.55
<b>Buğday samanı</b>	1.31	-	-	-
<b>Kuzu büyütme yemi</b>	6.53	2.24	2.83	3.01

*Kontrol: Ad libitum kuzu büyütme yemi + Ad libitum buğday samanı*

*10Ç : %10 çiçeklenme döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)*

*50Ç : %50 çiçeklenme döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)*

*TB : Tohum bağlama döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)*

**Tablo 5.** Araştırma gruplarında kaba konsantre yem oranları (%)

	Kontrol	10Ç	50Ç	TB
<b>Buğday samanı</b>	16.72	69.24	69.36	68.52
<b>Kuzu büyütme yemi</b>	83.28	30.76	30.64	31.48

*Kontrol: Ad libitum kuzu büyütme yemi + Ad libitum buğday samanı*

*10Ç : %10 çiçeklenme döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)*

*50Ç : %50 çiçeklenme döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)*

*TB : Tohum bağlama döneminde biçilen korunga+ kuzu büyütme yemi (canlı ağırlığın %1.5'i)*

## Tartışma ve Sonuç

Mevcut çalışmada (Kontrol, 10Ç, 50Ç ve MB) 56 günde kontrol grubunda yoğun kaba yem tüketimi deneme gruplarında ise yoğun kaba yem tüketimi gözlenmiştir. Deneme sonunda günlük canlı ağırlık artışı kontrol grubunda 10Ç grubundan düşük belirlenmiştir. Tufan ve Akmaz (2001) Kangal Akkaraman kuzularında yaptıkları çalışmada, 10:90 kaba/konsantre yem oranı ile daha düşük kuru madde tüketimi ile kontrol grubundan daha yüksek günlük canlı ağırlık artışı sağlanmıştır. Farklı ırklarda yapılan çalışmada ise Akçapınar ve ark. (2002) Bafra kuzularında yaptıkları çalışmada, 1kg canlı ağırlık için kuru madde tüketimi 1.66 kg kuru yonca otu ve 3.90 kg konsantre yem tüketimi sağlanmıştır. Yani 30:70 kaba/konsantre yem ile deneme gruplarıyla benzer kaba yem tüketimiyle benzer günlük canlı ağırlık artışı sağlanmıştır. Besi performansı ile ilgili mevcut çalışma ve diğer çalışmalar değerlendirildiğinde besi performansının yüksek olması için ırk faktörü ve kaba yem ora-

nının da önemli olduğu düşünülmektedir. Mevcut çalışmada korunga kuru otu ağırlıklı besinin klasik besiye göre günlük ortalama canlı ağırlık artışını olumlu olarak etkilediği söylenebilir.

Kaba yem kaynağı olarak korunga ağırlıklı rasyonlarla beslenen kuzular tarafından elde edilen daha yüksek günlük canlı ağırlık artışı, korunganın erken dönem biçilmesi ve baklagil kaba yemlerinden olması sebebiyle kolay sindirilebilir ve yüksek protein oranına sahip olmasının bir sonucudur. Mevcut çalışmada gruplar arasında 10Ç'de 288g ile en yüksek günlük canlı ağırlık artışı sağlanması için 2.24 kg korunga kuru otu ve 5.05 kg konsantre yem yani %69.24 kaba %30.76 konsantre kuru madde tüketmesi gerekmektedir. Kontrol grubunda ise 6.53 kg konsantre yem ve 1.31 kg buğday samanı yani %83.28 konsantre yem ve %16.72 kaba yem olarak kuru madde tüketmesi gerekmektedir. Rasyonda konsantre yem miktarının artırılması ile kuru madde tüketimi ve sindirim sistemindeki yemin hızlı şekilde geçmesini dolayısıyla

daha yüksek enerji alımını sağladığı bildirilmektedir (Nascimento ve ark., 2019). Bueno ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada rasyonda konsantre yem tüketiminin (600 g/kg) günlük ağırlık artışı sağladığını bildirmişlerdir. Ayrıca Moreno ve ark. (2010), kuzu rasyonlarında iki kaba yem kaynağı (mısır silajı ve şeker kamışı) ve kaba/konsantre yem oranı 600:400 g/kg olan kuzuların kesim ağırlığına ulaşmak için daha fazla zamana ihtiyaç duyduklarını bildirmişlerdir. Nascimento ve ark. (2020), yaptıkları çalışmada, konsantre yem ile transvala samanı ve sorgum silajı kaba yemlerini kullandıkları çalışmada en iyi yemden yararlanmayı kaba/ konsantre yem oranı 40/60 olduğunda 210 g 60/40 olduğunda ise 170 g günlük canlı ağırlık artışı elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmalar, mevcut çalışmayla çelişmektedir. Çünkü mevcut çalışmada daha yüksek enerji içeren yem tüketen kontrol grubu (244.50 g) aynı sürede 10Ç grubuna (288.90 g) göre daha düşük; 50Ç grubu (232.40 g) ve MB grubundan (211.60) daha yüksek canlı ağırlık artışı sağlamıştır. Burada dikkati çeken unsur kontrol grubunda %83.28 konsantre yem tüketilirken daha az canlı ağırlık kazanılan gruplarda bile %30'dan fazla konsantre yem tüketilmemesidir.

Bu çalışmada konsantre yem ağırlıklı klasik besi ile kaba yem ağırlıklı besi karşılaştırılmıştır. Ayrıca korunga kuru otu açısından bir değerlendirme yapılacak olursa daha iyi besi performansı sağlanması için korunganın da erken dönem biçilmesi tavsiye edilebilir. Hayvancılık açısından klasik besiye göre kaliteli kaba yem ile besi yapılarak aynı sürede daha fazla canlı ağırlık artışının sağlanması besicilik açısından önemli bir dönüm noktasıdır. Ayrıca yem maliyetleri de göz önünde bulundurulursa 1 kg canlı ağırlık için daha fazla kaba yem tüketilmesi konsantre yeme göre daha kârlı olacaktır. Hayvan sağlığı açısından da değerlendirme yapılacak olursa daha fazla konsantre yem daha fazla metabolik problem demek daha fazla kaba yem ise ruminantların doğasına daha uygun ve çevreci bir besleme olacağı kanısına varılmıştır.

### Kaynaklar

- Açıkgoz E. Yem Bitkileri. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fak. Yay, Bursa. 2001; s. 584.
- Akçapınar H, Ünal N, Atasoy F, Özbeyaz C, Aytaç M. Karayaka ve Bafra (Sakız x Karayaka G1) koyunlarının Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü şartlarına uyum kabiliyeti. Lalahan Hay Araşt Enst Derg 2002; 42(1): 11-24.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists International Official Methods of Analysis. Sixteenth Edition, AOAC, Arlington, 1997.
- Borreani G, Peiretti PG, Tabacco E. Evolution of yield and quality of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) in the spring growth cycle. Agronomie 2003; 23: 193-201.
- Bueno MS, Ferrari Junior E, Possenti RA, Bianchini D, Leinz FF, Rodrigues CFdeC. Performance of sheep fed sunflower silage or corn silage with increasing proportion of commercial concentrate. Rev Bras de Zootec 2004; 33: 1942-8.
- Chung YH, Mc Geough EJ, Acharya S, McAllister TA, McGinn S, Harstad OM, Beauchemin KA. Enteric methane emission, diet digestibility, and nitrogen excretion from beef heifers fed sainfoin or alfalfa. Anim Sci J 2013; 91: 4861-74.
- Li Y, Iwaasa AD, Wang Y, Jin L, Han G, Zhao M. Condensed tannins concentration of selected prairie legume forages as affected by phenological stages during two consecutive growth seasons in western Canada. Can J Plant Sci 2014; 94: 817-26.
- Marten GC, Ehle FR, Ristau EA. Performance and photosensitization of cattle related to forage quality of four legumes. Crop Sci 1987; 27: 138-45.
- Moreno GMB, Silva Sobrinho AG, Leão AG, Loureiro CMB, Perez HL, Rossi RC. Performance, digestibility and nitrogen balance of lambs fed corn silage or sugar cane based diets with two levels of concentrate. Rev Bras de Zootec 2010; 39: 853-60.
- Nascimento CDO, Santos S, Pina DDS, Tosto M, Pinto L, Eiras D, De Assis D, Perazzo A, De Araújo M, Azevêdo J, Mourão GB, De Carvalho GGP. Effect of roughage-to-concentrate ratios combined with different preserved tropical forages on the productive performance of feedlot lambs. Small Rumin Res 2019; 182: 15-21.
- NRC. National Research Council. Nutrients Requirements of Dairy Cattle. The National Academic Press. Washington DC. USA, 2001.
- Özbiğın A. Farklı gelişme dönemlerinde biçilen korunganın tanen içeriği, verim özellikleri ve süt ineklerinde yonca ile karşılaştırmalı olarak kullanılması. Doktora tezi, Selçuk Üniv Sağ Bil Ens, Konya, 2019; s: 92-93.
- Temel O. Artvin şavşat yöresinde korunga (*Onobrychis sativa* Scop.) yem verimi ve kalitesinin yükseltiye göre değişimi. Yüksek lisans tezi, Artvin Çoruh Üniv Fen Bil Ens, Artvin, 2010; s:27.
- Tufan M ve Akmaz A. Güney Karaman (Karakoyun), Kangal-Akkaraman ve Akkaraman kuzularının farklı kesim aralıklarında kesim ve karkas özellikleri. Turkish J Vet Anim Sci. 2001; 25: 495-504.
- TUIK. Bitkisel ve Hayvansal Üretim İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr>; Erişim Tarihi: 27.08.2021.
- Van Soest PV, Robertson J, Lewis B. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J

Kuzu besisinde korunganın kullanımı...

*Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2022; 19(1): 101-106*

Dairy Sci 1991; 74: 3583-97.



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

Araştırma Makalesi / Research Article  
19(2), 107-112, 2022  
DOI: 10.32707/ercivet.1142567

### Denizli ve Gerze Yerli Tavuk Irklarında TVB Lokusundaki Polimorfizmlerin Araştırılması\*\*\*

Dilan Deniz İLHAN<sup>1a</sup>, Muhammet KAYA<sup>\*1b</sup>

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Eskişehir-TÜRKİYE  
ORCID: <sup>a</sup>0000-0002-3428-1854; <sup>b</sup>0000-0001-6474-121X

**Corresponding author:** Muhammet KAYA; E-posta: muhammetkaya@ogu.edu.tr

**How to cite:** İlhan DD, Kaya M. Denizli ve Gerze yerli tavuk ırkları TVB lokusundaki polimorfizmlerin araştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 107-112

**Öz:** Avian leukosis virusleri (ALV), tavuklarda tümör oluşturan retrovirüslerdir ve bu virüslere karşı henüz bir aşı geliştirilememiştir. Tümör viral B (TVB) lokusu ALV üç alt grubunun viral girişine ortam sağlayan, engelleyen veya aracı olan gruplara özgü yüzey reseptörlerini kodlar. Bu lokusun 172. ve 184. bazlarında iki adet tek nükleotid polimorfizmleri TVB\*S1, TVB\*S3 ve TVB\*R allellerinin ayırt edilmesine imkân sağlar. TVB\*S1; ALVB, ALVD ve ALVE üç alt viral girişini destekleyen reseptörleri kodlar. TVB\*S3; ALVB ve ALVD alt gruplarının hücreye viral girişini sağlayan reseptörleri kodlar. TVB\*R'nin kodladığı reseptör ise ALVB, ALVD ve ALVE alt gruplarının hücreye viral girişini engeller. Yapılan bu çalışmanın amacı, Türkiye yerli tavuk ırkları olan Denizli ve Gerze tavuklarında bazı ALV alttıplerine karşı dirençlilik gösteren TVB\*R' allelinin varlığı ve TVB\*S' alleli ile olası mutasyonlar DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak araştırmaktır. Tarım ve Orman Bakanlığı, Denizli İli, Denizli Horozu Üretim İstasyonu'nda yetiştirilen, Denizli ırkına ait dört varyeteden 148 ve Gerze İlçe Müdürlüğü'ne ait kümeste yetiştirilen, Gerze tavuklarından 27 olmak üzere toplam 175 tavuğa ait kan örnekleri materyal olarak kullanılmıştır. Tavuk kan örneklerinden gDNA izole edilmiştir. 175 örnek içinden iki örneğin TVB\*S1/R, üç örneğin TVB\*S1/S3, dört örneğin ise TVB\*S1/S' genotipte olduğu, diğerlerinin TVB\*S1/S1 genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Denizli ve Gerze popülasyonlarında tespit edilen TVB allellerinin frekansları sırasıyla TVB\*S1 için 0.9730, 0.9815 ve TVB\*R için 0.0034, 0.0185 olarak hesaplanmıştır. Gerze popülasyonunda TVB\*S3 ve TVB\*S' allellerinin bulunmadığı, Denizli popülasyonunda bulunan TVB\*S3 ve TVB\*S' allellerinin frekansları ise sırasıyla 0.0101 ve 0.0135 olarak hesaplanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Denizli horozu, DNA dizi analizi, Gerze tavuğu, TVB lokusu

#### Investigation of the TVB Locus Polymorphisms at Denizli and Gerze Native Chicken Breeds

**Abstract:** Avian leukosis viruses (ALV) are tumor-forming retroviruses in chickens and no vaccine has yet been developed against these viruses. The tumor viral B (TVB) locus encodes the surface receptors specific to groups that inhibit or mediate the viral input of the three subgroups of ALV. Two single nucleotide polymorphisms on bases 172 and 184 of this locus allow the differentiation of TVB\*S1, TVB\*S3, and TVB\*R alleles. TVB\*S1 encodes the ALVB, ALVD, and ALVE receptors that support three sub-viral inputs. TVB\*S3 encodes receptors that provide the viral input of the ALVB and ALVD subgroups into the cell. The receptor encoded by TVB\*R inhibits the viral introduction of ALVB, ALVD, and, ALVE subgroup into the cell. The aim of this study is to investigate the presence of the TVB\*R' allele showing resistance to some ALV subtypes, TVB\*S' allele and, possible mutations using DNA sequence analysis method in native Turkish chicken breeds, Denizli and Gerze. A total of 175 chicken samples, from four varieties of Denizli (n=148), reared in Denizli Rooster Production Station of Denizli Provincial Directorate and Gerze (n=27) reared in Gerze District Agriculture Directorate of Agriculture and Forest Ministry were used. Genomic DNA was isolated from blood samples taken from chickens. Among the 175 chickens, only two hens were typed as TVB\*S1/R genotype, three chickens were typed as TVB\*S1/S3, four chickens were typed as TVB\*S1/S' and others were homozygous for TVB\*S1/S1. The frequencies of TVB alleles detected in Denizli and Gerze populations were calculated as 0.9730, 0.9815 for TVB\*S1, and 0.0034 and 0.0185 for TVB\*R, respectively. TVB\*S3 and TVB\*S' alleles were not found in the Gerze population, and the frequencies of TVB\*S3 and TVB\*S' alleles in the Denizli population were calculated as 0.0101 and 0.0135, respectively.

**Keywords:** Denizli cocks, DNA sequencing, Gerze fowls, TVB locus

#### Giriş

Türkiye'de artan nüfus ve gelirle birlikte kırmızı et üretiminde yaşanan istikrarsızlık ve kırmızı et fiyatla-

rında süregelen artışlardan dolayı tavuk eti tercih edilmektedir. Bununla birlikte tavuk ürünlerinin ucuz olması, insanların sağlıklı beslenmeye olan ilgisinin artması, beyaz et üretiminin iş gücü gereksiniminin az olması, yılın her döneminde üretimin sürdürülebilir olması son yıllarda beyaz et üretiminde büyük bir artışa sebep olmuştur (Türkoğlu ve ark., 2018). Türkiye'de 1990 yılında 217 milyon ton olan beyaz et üretiminin 2020 yılında 2 milyar 136 milyon tona, 1990 yılında 7

*Geliş Tarihi/Submission Date* : 16.11.2021

*Kabul Tarihi/Accepted Date* : 26.02.2022

\*5. International Agriculture Congress'te (21-24 Ağustos 2019- İstanbul) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

\*\*Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi BAP tarafından 201823A118 (Proje Koordinatörü: M. Kaya) numaralı araştırma projesi olarak desteklenmiştir. Bu çalışma Dilan Deniz İlhan'ın yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

milyar 668 milyon adet olan yumurta üretiminin 2020 yılında 19 milyar 788 milyon adete yükseldiği görülmektedir (TÜİK, 2021). Tavukçulukta özellikle son 50-60 yıldır sürdürülen genetik ve çevresel ıslah çalışmalarının sonucunda, kanatlı sektöründe çok önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Genetik, ıslah, biyoteknoloji, yem ve yem katkı maddelerinin üretimi, kesimhane ve ileri işletme endüstrisi, ekipman sanayi, yumurta ve yumurta ürünleri endüstrisi, kuluçkacılık, sağlık koruma, ilaç ve aşı endüstrisi, pazarlama, muhafaza ile yetiştirme sistemlerindeki hızlı gelişmeler sayesinde tavukçuluk sektörü üretimden tüketime kadar ilgili alanların da etkisiyle bir endüstri kolu durumundadır (Türkoğlu ve ark., 2018). Türkiye’de yerli gen kaynağı olarak koruma altına alınan Denizli ve Gerze ırkları olmak üzere iki yerli tavuk ırkı vardır. Türkiye’nin yerli ırklarından biri olan Gerze ırkı Karadeniz Bölgesinde Sinop ili çevresinde, Gerze ilçesinde yetiştirilen yerli bir yumurta-et ırkıdır. Yetiştirilen diğer yerli ırk ise Denizli ırkı olup Denizli ve Muğla illeri çevresinde yetiştirilen yerli bir yumurtacı-et ırkıdır (Kaya ve Yıldız, 2014).

Kanatlı lökozu/sarkom grubunun virüsleri, Retroviridae familyasının Alpharetrovirus cinsi içinde yer alır. Bu virüs ailesinin üyeleri, virüs replikasyonu sırasında konakçı genomuna entegre edilmiş bir DNA provirus oluşumu için gerekli olan ters transkriptaz enzimine sahip olma özelliği ile karakterize edilen RNA virüsleridir. Taksonomide, kanatlı lökozu virüsü (Avian Leucosis Virus-ALV), Alpharetrovirus cinsinin türüdür. ALV kaynaklı hastalıklar önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. ALV tümör mortalitesi ve azalan verim nedeniyle ekonomik kayıpların her yıl milyonlarca ABD doları olduğu tahmin edilmektedir (Morgan ve ark., 2001; Garcia-Camacho ve ark., 2003). 2008 yılında Çin’de milyarlarca dolarlık bir maliyetle (Zhang ve ark., 2020), ALV için Ulusal Eradikasyon Programının başlatılması sayesinde, ticari beyaz tüylü piliçlerde ve yumurtacı tavuklarda ALV salgını azaltılmış olmakla beraber, yerel ticari tavuklarda ALV-J’nin enfeksiyonu ve ilişkili klinik sorunları hala devam etmektedir (Wang ve ark., 2021). 2018 yılında Çin’in altı eyaletinde başlayan ALV-J salgınında tavuk sürülerinde ölüm oranı %15’lere ulaşmıştır (Zhou ve ark., 2018). ALV’ler verim kaybına neden olmakla kalmayıp, bulaşıcı olma özelliğiyle de nesilden nesile aktarılıp yayılım göstermektedir. Tavuklarda ALV kaynaklı hastalıkların ölüm oranı %5-40 arasındadır. Ölüm oranlarındaki artışlar, yalnızca yeterli olmayan ortam koşullarına bağlı olmayıp, aynı zamanda hayvanların genetik yapısından da kaynaklanabilmektedir. Buna karşılık bazı yumurtacı soy veya hatların ALV hastalığına karşı dayanıklı olduğu belirlenmiştir. ALV enfeksiyonlarından kaynaklı tavuklarda yaşama oranı, canlı ağırlık, yumurta sayısı ve ağırlığı, kuluçka verimi, döllülük ve cinsi olgunluk yaşını etkilediğinden önemli ölçüde ekonomik kayıplara ve bulaşmayı engellemek için sürülerde ALV’ye dirençli genotiplerin belirlenme-

si önemlidir (Yu ve ark., 2012).

Avian Leukosis Virus reseptör kullanımına, konakçı durumuna ve enfeksiyon ile etkileşim durumuna göre tanımlanmış altı ana gruba ayrılmıştır (Zhang ve ark., 2005). Bu alt gruplardan beşi eksojen (ALVA’dan ALVD’ ya kadar ve ALVJ), diğer alt grup olan ALVE ise endojen kanatlı virüsüdür. Enfeksiyöz virüs partikülleri olarak bulaşma gösteren ALV’lere eksojen virüsler adı verilir. Endojen virüsler ise genetik materyal olarak tavuğun kendi genomunda bulunarak bulaşma gösterir. Eksojen virüsler sadece somatik hücrelerde yayılırken, endojen retrovirüsler ise konağın germ hattı hücrelerini enfekte ederek konakçı genomuna stabil bir şekilde entegre olduktan sonra genomun geri kalanıyla birlikte Mendel tarzında kalıtım gösterdiği belirlenmiştir (Nair ve Fadly, 2013).

ALV alt gruplarının konakçı hücrelere viral girişini engelleyen veya aracı olan ve gruplara özgü yüzey reseptörlerini kodlayan sorumlu dört tane otozomal tümör viral (TV) lokusu belirlenmiştir. TVA, TVC ve TVJ sırasıyla ALV-A, ALV-C ve ALV-J virüsleri için hücresel reseptörleri kodlar (Mason, 2017). Farklı ALV alt tiplerinin konakçı hücrelerine gireceği reseptörleri kodlayan TVA, TVB ve TVC lokuslarındaki bazı alleller kodladığı reseptörler ile virüslerin hücreye girişine izin vermediğinden bu allellere genetik direnç allelleri denir ve “R” ile gösterilirler. Farklı alt grupların viral girişini sağlayan çeşitli reseptörlerin kodlandığı allellerin bulunduğu lokus olmasından dolayı TVB kompleks bir lokustur (Klucking ve ark., 2002; Zhang ve ark., 2005) ve tavuğun 22. kromozomu üzerinde bulunur (Smith ve Cheng, 1998). TVB lokusu üç farklı alleli (TVB\*S1, TVB\*S3 ve TVB\*R) transkribe eder. TVB\*S1 ALVB, ALVD ve ALVE’nin viral girişini destekleyen reseptörleri kodlar. TVB\*S3, ALVB ve ALVD alt gruplarının hücreye viral girişini sağlayan reseptörleri kodlar. TVB\*R alleli ise DNA dizilimi içindeki erken bir stop kodonu nedeniyle eksik bir reseptörü kodlar. Bununla birlikte TVB\*R’nin kodladığı reseptör ALVB, ALVD ve ALVE alt gruplarının hücreye viral girişini engellemektedir (Barnard ve Young, 2003). Literatürde TVB geninin cDNA 184. bazında tespit edilen (T→A) mutasyonu TVB\*R’ (Yang ve ark., 2011) olarak adlandırılmıştır. Çin yerli tavuk ırkları TVB lokuslarının belirlenmesi için yapılan çalışmada TVB geninin cDNA 184. bazında yeni bir mutasyon tespit edilmiştir (G→T) ve TVB\*S’ olarak adlandırılmıştır (Yu ve ark., 2012).

Farklı reseptörleri kodlayan TVB allellerin cDNA dizileri klonlanarak dizi analizleri yapılmıştır. Genbank’ın AF161713, AF161712 ve AF507016.1 katılım numaralarına dayanarak 172. (C/T) ve 184. (T/A) bazlarında iki adet SNP (tek nükleotid polimorfizmi) tespit edilmiş ve buna göre TVB\*S1, TVB\*S3 ve TVB\*R allellerini moleküler olarak ayırt etmek mümkün olmuştur. (Brojatsch ve ark., 1996; Adkins ve ark., 2001; Klucking ve ark., 2002). Bu dizilim verilerine



dayanarak (Zhang ve ark., 2005) yaptıkları çalışma ile tavuklardaki bütün TVB genotiplerini ayırt edebilmek için her iki SNP'i kullanarak bir polimeraz zincir reaksiyonu-kesilmiş parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi geliştirerek valide etmişlerdir. Daha sonra TVB genotiplerini ayırt etmek için DNA sekanslama ve pyrosekanslama analizlerini geliştirmişlerdir (Zhang ve ark., 2007). Türkiye yerli tavuk ırkları olan Denizli ve Gerze tavuklarındaki TVB genotiplerini belirlemek için PCR-RFLP yöntemi kullanılarak yapılan çalışmada hem Gerze hem de Denizli ırkında, TVB\*S1 alleli yaygın ve TVB\*S3 alleli nadir olarak görülmüştür. TVB\*S1, TVB\*S3 ve TVB\*R'nin allel frekansları sırasıyla Gerze popülasyonlarında 0.96, 0.02 ve 0.02, Denizli popülasyonlarında sırasıyla 0.98, 0.02 ve 0.00 olarak hesaplanmıştır (Kaya, 2018).

Yapılan bu çalışmanın amacı, Tarım ve Orman Bakanlığı (TOB) tarafından uzun zamandır koruma altında yetiştirilen Denizli ve Gerze popülasyonlarında bazı ALV alttıplerine karşı dirençlilik gösteren TVB\*R' allelinin varlığı ve TVB\*S' alleli ile TVB lokusu 3. eksonundaki olası mutasyonlar DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak araştırmaktır. Elde edilen sonuçların Türkiye yerli tavuk ırklarının moleküler karakterizasyonuna katkı sağlaması ve korunması çalışmalarına yol göstermesi hedeflenmiştir.

## Gereç ve Yöntem

### Hayvan materyali

Hayvanlar üzerinde yapılan tüm işlemler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27.11.2014 tarih ve 419-1 sayılı kararı doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. TOB Denizli İl Müdürlüğü Denizli Horozu Üretim İstasyonu (Denizli) Denizli ırkının mevcut dört farklı tipinin horoz ve tavuklarından 148, Gerze İlçe Müdürlüğü Gerze Tavuğu Üretim İstasyonu'nda (Sinop) Gerze ırkına ait 27 horoz ve tavuklarından (popülasyonun tüm mevcudundan) olmak üzere toplam 175 tavuktan alınan kan örnekleri materyal olarak kullanılmıştır.

### Yöntem

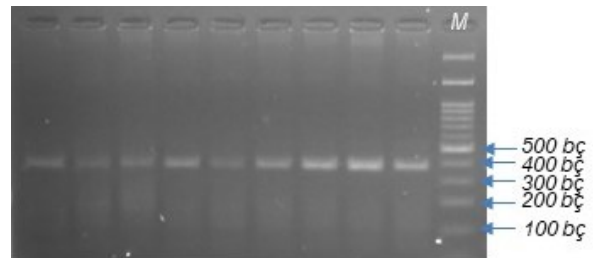
Laboratuvara soğuk zincir altında ulaştırılan kan örneklerinden salting out yöntemi (Meydan, 2007) ile saflaştırılan gDNA'lar ddH<sub>2</sub>O ile çözdürülerek PCR çalışmaları yapılana kadar -20°C de saklanmıştır. Araştırmada, literatürde TVB geni 3. eksonunda mutasyonlarının belirlendiği 385 bç'lik bölgesinin çoğaltılması amacıyla hazırlanan (Laboratuvarımızda M. Kaya tarafından Amplify 4 programı kullanılarak dizayn edilmiştir) primerler (F: 5' ATG AAC TCA TAC TTC TTT CCA TTC C 3'; R: 5' ATG CAC CCA AAC CCT CCC AGT CC 3') kullanılarak DNA örnekleri PCR ile amplifiye edilmiştir. PCR karışımı, 50 µl toplam hacim içerisinde 1 U Taq DNA Polimeraz (Fermentas), 10X PCR tamponu (500 mM Tris-HCl,

500 Mm KCl, pH. 8,8), 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM dNTP (Fermentas), ileri ve geri primerlerinin her birinden 5 pmol ve 3 µl DNA (50-100 ng) içerecek şekilde hazırlanmıştır. PCR şartları; 94°C'de 5 dakika ön denatürasyon ve 35 döngü olacak şekilde 94°C'de 1 dk denatürasyon, 60°C'de 1 dk primerlerin eşleşmesi, 72°C'de 1 dk uzama (extension) aşaması ve son olarak, 72°C'de 10 dakikalık son uzama olacak şekilde uygulanmıştır. PCR ürünleri görüntülenmesinde %2'lik agaroz jel kullanılmıştır. Agaroz jel, Safeview (ABM, Kanada) ile boyandıktan sonra UV ışık altında görüntülenerek PCR ürünlerinin büyüklükleri belirlenmiştir.

PCR ürünlerinin temizliği ve DNA dizileme uygulamaları hizmet alımı şeklinde yapılmıştır. 385 bç büyüklüğündeki PCR ürünlerinin DNA sekans analizi yapılması için öncelikle PCR karışımında bulunan dNTP ve primer artıkları ile istenmeyen moleküller PCR clean-up kiti (Macherey-Nagel, 740609.50, Almanya,) kullanılarak temizlenmiştir. Örneklerin çift yönlü DNA dizi analizleri BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, 4337455, Foster City, CA, ABD) adlı ticari kit prosedürüne uygun olarak ABI 3500 cihazında yapılmıştır. DNA sekansları MEGA-X programı (Kumar ve ark., 2018) ile analiz edilmiştir. Dizi analizi sonuçlarına göre çalışmadaki örneklerin sahip olduğu TVB lokusu 172. ve 184. nükleotitlerine göre tüm materyalin genotipleri Zhang ve ark. (2007) ile Yu ve ark. (2012)'e göre tespit edilmiştir. Gen frekansları hesaplanırken PopGene (Yeh ve ark., 1997) programından faydalanılmıştır.

### Bulgular

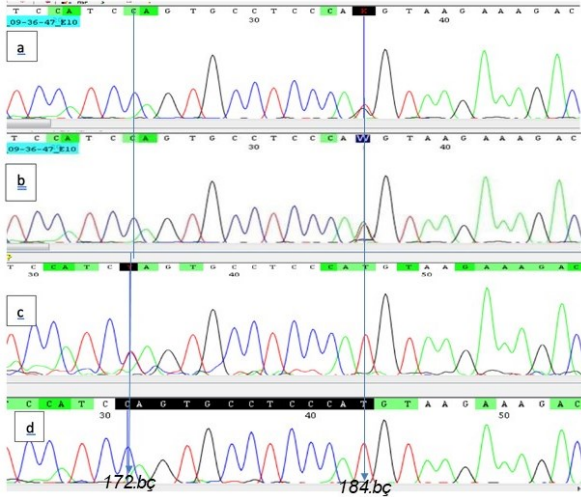
Denizli ve Gerze ırkının horoz ve tavuklarından alınan kan numunelerinden salting out yöntemi ile elde edilen genomik DNA örnekleri agaroz jelde kontrol edilmiştir. Örnek DNA'ları ile yapılan PCR uygulama sonrası 385 bç uzunluğunda PCR ürünleri agaroz jelde kontrol edildikten (Şekil 1) sonra DNA dizi analizi yapılmıştır.



**Şekil 1.** PCR uygulamasında elde edilen 385 bç'lik PCR ürünlerinin görünümü (M: DNA ladder, 100 bç; bç: baz çifti).

Yürütülen çalışma sonucunda farklı TVB genotiplerine sahip örneklerin TVB lokusunda 172. ve 184. nükleotitlerini gösteren örnek DNA dizileri Şekil 2'de gösterilmiştir. Türkiye yerli tavuk ırkları olan Denizli ve Gerze popülasyonlarını temsilen 175 tavuk üzerinde yürütülen araştırma sonucunda dört örnekte TVB

lokusu 172. SNP noktasında C/C, 184. SNP noktasında G/T nükleotitleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, Türkiye yerli tavuk ırklarında TVB lokusu bakımından TVB\*S1/S' (Şekil 2a), TVB\*S1/S3 (Şekil 2b) ve TVB\*S1/R (Şekil 2c) genotipleri nadir olarak bulunurken popülasyonda yaygın genotipin TVB\*S1/S1 (Şekil 2d) olduğu görülmüştür.



**Şekil 2.** DNA sekanslama sonucunda örneklerin sahip olduğu TVB DNA dizileri (bç: baz çifti).  
a) TVB\*S1/S' genotipli örneklerin 172. (C/C) ve 184. (G/T)  
b) TVB\*S1/S3 genotipli örneklerin sahip olduğu 172. (C/C) ve 184. (A/T)  
c) TVB\*S1/R genotipli örneklerin sahip olduğu 172. (T/C) ve 184. (T/T)  
d) TVB\*S1/S1 genotipli örneklerin sahip olduğu 172. (C/C) ve 184. (T/T)

Çalışma materyali olan 175 tavuk ile yürütülen araştırma sonucunda 27 Gerze örneği arasında bir tavuk TVB\*S1/R genotipinde bulunurken, 148 Denizli örneğinde dört horoz TVB\*S1/S', bir horoz ve iki tavuk TVB\*S1/S3, bir tavuk TVB\*S1/R genotipine sahip olurken diğer 166 örneğin ise TVB\*S1/S1 genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Denizli ve Gerze popülasyonlarında TVB\*S1, TVB\*S3, TVB\*S' ve TVB\*R allel frekansları hesaplanarak Tablo 1.'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Türkiye yerli tavuk ırklarının TVB lokusundaki allel frekansları

Popülasyon	Örnek sayısı	Allel Frekansı			
		S1	S3	S'	R
Denizli	148	0.9730	0.0101	0.0135	0.0034
Gerze	27	0.9815	-	-	0.0185
<b>Toplam</b>	<b>175</b>	<b>0.9743</b>	<b>0.0086</b>	<b>0.0114</b>	<b>0.0057</b>

### Tartışma ve Sonuç

Türkiye yerli tavuk ırkları olan Denizli ve Gerze tavuklarının TOB farklı işletmelerinde korunan popülasyonlarından 175 örnek kullanılarak TVB lokusundaki genetik polimorfizmler DNA dizi analizi yöntemi kullanılarak araştırılmış ve iki örneğin TVB lokusunda 172.

SNP noktasında T/C, üç örnekte de 184. bazında A nükleotiti ve dört örnekte de 184. SNP noktasında G nükleotiti heterozigot olarak tespit edilmiştir. Geri kalan 166 örneğin 172. nükleotidi C/C ve 184. nükleotidi T/T olarak belirlenmiştir. Çalışmada hedeflenen ve PCR-RFLP yöntemi ile belirlenemeyen TVB lokusu 172. ve 184. SNP noktasında mutasyonlar araştırılmış ve Denizli popülasyonunda bazı örneklerin TVB lokusu 184. SNP dizisindeki G genotipine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çeşitli tavuk popülasyonlarındaki TVB genotiplerini araştırmak için PCR-RFLP (Zhang ve ark., 2005; Project Directorate on Poultry in India, 2013; Kaya, 2018), pyrosekans (Zhang ve ark., 2007; Yang ve ark., 2011; Liao ve ark., 2014) ve dizi analizi (Yu ve ark., 2012) yöntemlerinden yararlanılmıştır. Pyrosekans ve dizi analizi yöntemleri çalışmalarında muhtemel mutasyonlar ortaya çıkarılabilmektedir (Yu ve ark., 2012; Chen ve ark., 2017; Li ve ark., 2018)

TVB lokusunda bulunan iki SNP'i belirleme çalışmalarında kullanılan PCR-RFLP yönteminde (Zhang ve ark., 2005; Project Directorate on Poultry in India, 2013; Kaya, 2018) 303 ve 202 bç büyüklüğünde PCR ürünü veren iki primer çifti kullanılırken, pyrosekans çalışmalarında (Zhang ve ark., 2007; Liao ve ark., 2014) 303 bç primer çiftinin yanında pyrosekans probu kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada ise 385 bç büyüklüğünde PCR ürünü veren primer çifti kullanılmıştır.

Literatürde TVB lokusu 184. bazında tespit edilen (T→A) mutasyonuna TVB\*R' (Yang ve ark. 2011), (T→G) mutasyonuna TVB\*S' (Yu ve ark., 2012) olarak adlandırılmış ve TVB\*S'nin ALVE alt grubuna karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. TVB lokusu 172. ve 184. dizilerinde olan SNP'ler ile farklı TVB allelleri oluşmaktadır. TVB\*S1 alleli ALVB, ALVD ve ALVE, TVB\*S3 alleli ise ALVB ve ALVD alt tiplerine karşı hassastır. TVB\*R alleli ALVB, ALVD ve ALVE tipi virüslerin hücreye girişini engelleyerek genetik dirençlilik gösterirler (Zhang ve ark., 2007). Çin yerli tavuk ırklarında dizi analizi yöntemi kullanarak yapılan ça-

alışmada Yu ve ark., (2012) 184. bazın G nükleotidi yerine T olduğunu ve 62. kodonun GGT (Gly)'den TGT (Cys) değişerek yeni allelin TVB\*S3 gibi ALVE'ye karşı dirençli olduğu bildirilmiştir.

TVB lokusu genetik polimorfizm çalışmalarında TVB\*R allelinin genellikle White Leghorn popülasyon-

larında görüldüğü, lokal tavuk ırklarında yaygın allelin TVB\*S1 alleli olduğu ve yerli ırklarda TVB\*R allelinin nadir olarak görüldüğü bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2007; Yang ve ark., 2011; Yu ve ark., 2012; Project Directorate on Poultry in India, 2013; Liao ve ark., 2014). Elde edilen sonuçlar ile, Kaya (2018) tarafından PCR-RFLP kullanılarak yapılan çalışma sonuçlarına benzer sonuçlar bulunmuştur. Kaya (2018) yaptığı çalışmada, Gerze tavukları arasında bir tavuğun TVB\*S1R genotipinde; Denizli horoz ve tavukları içinde yedi tavuğun TVB\*S1S3 genotipinde diğerlerinin ise TVB\*S1S1 genotipinde olduğu tespit edilmiştir. Aynı popülasyonlar kullanılarak yapılan bu çalışmada ise Denizli ve Gerze tavuklarında birer TVB\*S1/R genotipi tespit edilirken Denizli popülasyonunda üç örnekte TVB\*S3 ve dört örnekte ise TVB\*S' alleline rastlanılmıştır. Yapılan çalışmada Kaya (2018)'nin çalıştığı popülasyona ek olarak Denizli popülasyonuna yedi tavuk daha eklenmiş ve bu eklenen tavukların birinde TVB\*S1/R genotipine sahip olduğu görülmüştür. Direnç alleli olan TVB\*R alleli, Gerze tavuklarında olduğu gibi Denizli popülasyonunda da nadir olarak görülmüş, popülasyon mevcudu artırıldığında TVB\*R genotipli örnek sayısı artabilir. PCR-RFLP kullanılarak Kaya (2018) tarafından yapılan çalışmada yedi örnekte TVB\*S3 alleli tespit edilirken, bu çalışmada üç örnekte TVB\*S3 alleli, diğer dört örneğin TVB\*S' allelinin belirlenmesi PCR-RFLP analizinde kullanılan *NlaIII* kesim enziminin özelliğine atfedilmektedir. *NlaIII* kesim enzimi 'CATG' dizisini keserken 'CAAG' veya 'CAGG' dizilerini kesememekte (Zhang ve ark., 2005), bu durum örneklerde tespit edilen TVB lokusu 184. SNP noktasındaki nükleotitlerle uyumaktadır. DNA dizi analizi yönteminin lokuslardaki genetik polimorfizmi PCR-RFLP yöntemine göre daha doğru şekilde belirlediği görülmüştür.

Lokal ırkların buldukları çevreye adaptasyonu ve hastalıklara karşı gösterdikleri direnç bakımından eşsiz niteliklere sahip oldukları bilinmektedir. ALV'nin 5 alt grubundan üçünün konakçı hücresele reseptörlerini kodlayan TVB lokuslarının belirlenmesi ALV'ye karşı genetik direnç için önemlidir. Yürütülen çalışmada TVB\*R alleleline sahip tavukların bulunması ALV'ye karşı geliştirilecek genetik direnç çalışmalarına yardımcı olacaktır. Ayrıca korunan Gerze tavuğu popülasyonunun az olması nedeniyle örnek sayısı az olmuş, daha geniş imkanlar ile örnek sayısının artırılmasıyla genetik direnç alleli olan TVB\*R allelinin frekansı daha da artırılabilir. Ayrıca yapılan başka çalışmalarda TVB lokusunun 4. eksonu üzerinde dirençliliğe yol açan farklı 3 mutasyon [TVBR3 (c.298C>T) (Chen ve ark., 2017); TVBR4 (c.291\_292insAG) (Li ve ark., 2018) ve TVBR5 (c.359\_360insA) (Li ve ark., 2018) daha belirlenmiştir. Kanatlılarda ALV enfeksiyonlarının kontrolü tamamen virüs eradikasyon önlemlerine ve konakçı genetik direncine dayandığından yerli ırkların koruma çalışmalarında genetik dirence

neden olan bu yeni mutasyonlarında araştırılması önemli olacaktır.

Yürütülen çalışma ile moleküler genetik yöntemler ile yerli ırkların DNA seviyesinde tanımlanmasına katkı sağlanmış ve yerli tavuk ırklarının korunmasına yardımcı olacak veriler elde edilmiştir.

## Kaynaklar

- Adkins HB, Blacklow SC, Young JA. Two functionally distinct forms of a retroviral receptor explain the nonreciprocal receptor interference among subgroups B, D, and E avian leukosis viruses. *J Virol* 2001; 75(8): 3520-6.
- Barnard RJO, Young JAT. Alpharetrovirus envelope-receptor interactions. In *Cellular Factors Involved in Early Steps of Retroviral Replication* Berlin, Heidelberg: Springer 2003; ss 107-36.
- Brojatsch J, Naughton J, Rolls MM, Zingler K, Young JA. CAR1, a TNFR-related Protein, is a cellular receptor for cytopathic Avian Leukosis-Sarcoma viruses and mediates apoptosis. *Cell* 1996; 87(5): 845-55.
- Chen W, Liu Y, Li A, Li X, Li H, Dai Z, Yan Y, Zhang X, Shu D, Zhang H, Lin W, Ma J, Xie Q. A premature stop codon within the tvb receptor gene results in decreased susceptibility to infection by avian leukosis virus subgroups B, D, and E. *Oncotarget* 2017; 8(62): 105942-56.
- Garcia-Camacho L, Schat KA, Brooks R, Bounous DI. Early cell-mediated immune responses to Marek's disease virus in two chicken lines with defined major histocompatibility complex antigens. *Vet Immunol Immunop* 2003; 95(3-4): 145-53.
- Kaya M. Determination of the tumor virus B locus in Turkish native chicken breeds. *Kafkas Univ Vet Fak* 2018; 24(2):239-42.
- Kaya M, Yıldız MA. Tavuğun evcilleştirilmesi ve Türkiye yerli tavuk ırkları. *Tavukçuluk Araş Der* 2014; 11(2): 21-8
- Klucking S, Adkins HB, Young JA. Resistance to infection by subgroups B, D, and E avian sarcoma and leukosis viruses is explained by a premature stop codon within a resistance allele of the tvb receptor gene. *J Virol* 2002; 76(15): 7918-21.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 2018; 35: 1547-9.
- Li X, Chen W, Zhang H, Li A, Shu D, Li H, Dai Z, Yan Y, Zhang X, Lin W, MaJ, Xie Q. Naturally occurring frameshift mutations in the TVB receptor gene are

- responsible for decreased susceptibility of chicken to infection with Avian Leukosis Virus subgroups B, D, and E. *J Virol* 2018; 92(8): e01770-17.
- Liao CT, Chen SY, Chen WG, Liu Y, Sun BL, Li HX, Xie QM. Single nucleotide polymorphism variants within tva and tvb receptor genes in Chinese chickens. *Poultry Sci* 2014; 93(10): 2482-9.
- Mason AS. The abundance and diversity of endogenous retroviruses in the chicken genome. PhD Thesis of Philosophy, University of Edinburgh, United Kingdom 2017.
- Meydan H. Türkiye'de yetiştirilen siyah alaca sığır ırkında lökosit adhezyon yetersizliği (BLAD; Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency)'nin PCR-RFLP yöntemi kullanılarak belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bil Ens, Ankara 2007; s. 18-20.
- Morgan RW, Xie Q, Cantello JL, Miles AM, Bernberg EL, Kent J, Anderson A. Marek's disease virus latency. *Curr Top Microbiol Immunol* 2001; 255: 223-43.
- Nair V, Fadly A. Leukosis/Sarcoma Group. David ES. eds In: *Diseases of Poultry*. Thirteenth Edition. Pondicherry: Wiley-Blackwell, 2013; pp 553-594.
- Project Directorate on Poultry in India. 2012-2013 Annual reports of Project Directorate on Poultry in India. [http://agritech.tnau.ac.in/animal\\_husbandry/pdf/AnnReport\\_poultry\\_12\\_13.pdf](http://agritech.tnau.ac.in/animal_husbandry/pdf/AnnReport_poultry_12_13.pdf); Accessed Date: 15.02.2016.
- Smith EJ, Cheng HH. Mapping chicken genes using preferential amplification of specific alleles. *Micro Comp Genom* 1998; 3(1): 13-20.
- TÜİK. Hayvancılık İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Kumes-Hayvanciligi-Uretim-Ekim-2021-37225>; Erişim Tarihi: 09.12.2021.
- Sarıca M, Türkoğlu M, Yamak, US. Tavukçuluktaki gelişmeler ve Türkiye tavukçuluğu. Türkoğlu M, Sarıca M. eds. In: *Tavukçuluk Bilimi (Yetiştirme, Besleme, Hastalıklar)*. Beşinci Basım. Ankara: Bey Ofset Matbaacılık, 2018; p. 63-5.
- Wang P, Li M, Li H, Bi Y, Lin L, Shi M, Huang T, Mo M, Wei T, Wei P. ALV-J-contaminated commercial live vaccines induced pathogenicity in Three-Yellow chickens: one of the transmission routes of ALV-J to commercial chickens. *Poultry Sci* 2021; 100(4):101027.
- Yang J, Yu Y, Yao J, Chen Y, Xu G, Yang N, Sun D, Zhang Y. Molecular identification of avian leukosis virus subgroup E loci and tumor virus B locus in Chinese indigenous chickens. *Poultry Sci* 2011; 90: 759-65.
- Yeh FC, Yang, TRC, Boyle BJ, Ye ZH, Mao JX. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada 1997.
- Yu JC, Ning ZH, Bao M. Genetic variation at the TVB locus in Chinese native chicken breeds. *J Anim Vet Adv* 2012; 11(22): 4226-9.
- Zhang HM, Bacon LD, Cheng HH, Hunt HD. Development and validation of a PCR-RFLP assay to evaluate TVB haplotypes coding receptors for subgroup B and subgroup E avian leukosis viruses in White Leghorns. *Avian Pathol* 2005; 34(4): 324-31.
- Zhang HM, Bacon LD, Heidari M, Muir WM, Groenen MA, Zhang Y, Wong GK, Fulton JE, O'Sullivan NP, Albers GA, Vereijken AL, Rattink AP, Okimoto R, Mckay JC, Mcleod S, Cheng HH. Genetic variation at the tumor virus B locus in commercial and laboratory chicken populations assessed by a medium-throughput or a high-throughput assay. *Avian Pathol* 2007; 36: 283-91.
- Zhang Y, Su Q, Zhang Z, Cui Z, Chang S, Zhao P. Molecular characteristics of the re-emerged avian leukosis virus in China, 2018-2019. *Transbound Emerg Dis* 2020; 67: 1141-51.
- Zhou D, Xue J, Zhang Y, Wang G, Feng Y, Hu L, Shang Y, Cheng Z. Outbreak of myelocytomatosis caused by mutational avian leukosis virus subgroup J in China. *Transbound Emerg Dis* 2018; 66(2): 622-6.



**Erciyes Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne 2019-2021 Yılları Arasında Getirilen Neonatal İshalli Buzağılarda Majör Enteropatojenlerin Yaygınlığının Araştırılması**

Gencay EKİNCİ<sup>1,a</sup>, Emre TÜFEKÇİ<sup>1,b</sup>, Ali Cesur ONMAZ<sup>1,c</sup>, Mehmet ÇİTİL<sup>1,d</sup>, İhsan KELEŞ<sup>1,e</sup>, Vehbi GÜNEŞ<sup>1,f</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE  
ORCID: <sup>a</sup>0000-0002-4551-8749, <sup>b</sup>0000-0002-9611-586x, <sup>c</sup>0000-0002-9942-5134, <sup>d</sup>0000-0001-9839-7533, <sup>e</sup>0000-0001-5751-9450, <sup>f</sup>0000-0002-4047-4409

**Corresponding author:** Gencay EKİNCİ; E-posta: gencayekinci@gmail.com

**How to cite:** Ekinci G, Tüfekçi E, Onmaz AC, Çitil M, Keleş İ, Güneş V. Erciyes Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne 2019-2021 yılları arasında getirilen neonatal ishallerde majör enteropatojenlerin yaygınlığının araştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 113-122

**Öz:** Bu çalışma, Kayseri ve civar illerindeki çiftliklerden 01 Ağustos 2019 ve 31 Ağustos 2021 tarihleri arasında, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne getirilen neonatal ishallerde majör enteropatojenlerin yaygınlığının araştırılması. Belirtilen periyotlar arasında, hastaneye toplamda 1839 buzağı getirildiği tespit edildi. Bu buzağılardan 863'ünün İç Hastalıkları Anabilim Dalı Ruminant Kliniğine getirildiği ve bunlardan 560'ünün (%65) klinik ishal belirtisine sahip olduğu belirlendi. İshallerde buzağılardan alınan dışkı örneklerinden, tek bir enteropatojen olarak en çok, BCoV (%21.7), sonra sırasıyla; *Cryptosporidium* spp. (%18.3), ETEC K99<sup>+</sup> (F5) (%14.3), BRV (%11.4), *Giardia* spp. (%0.6) tespit edildiği belirlendi. Birden fazla enteropatojen olarak ise en çok, *Cryptosporidium* spp. + BRV (8.0%), sonra sırasıyla; BRV + BCoV (%7.4), *Cryptosporidium* spp. + BCoV (%6.3), BRV + ETEC K99<sup>+</sup> (%1.1), BRV + BCoV + *Cryptosporidium* spp. (%2.3) teşhisi konulduğu gözlemlendi. 1-7 günlük neonatal ishallerde en çok ETEC K99<sup>+</sup> (%34.7), 8-14 günlük neonatal ishallerde ise en çok *Cryptosporidium* spp. (%23.9) kaynaklı ishal vakalarının görüldüğü belirlendi. İlkbahar ve kış mevsiminde, en çok BCoV (sırasıyla, %22.5, %25.5), yaz ve sonbahar mevsiminde ise en çok *Cryptosporidium* spp. (sırasıyla, %26.9, %31.8) kaynaklı ishal teşhisi konulduğu görüldü. Sonuç olarak, 2019-2021 yılları arasında, Kayseri ve civar illerinden Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne getirilen neonatal ishallerde, en çok BCoV kaynaklı buzağı ishallerinin görüldüğü ortaya konuldu. Enteropatojenlerin prevalansının örnekleme yeri, zamanı, mevsim gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebileceği ve bu çalışmadan elde edilen bulguların buzağı ishallerinin önlenmesi için gerekli profilaktik ve yönetimsel önlemlerin alınmasında faydalı olabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Buzağı, BCoV, BRV, *Cryptosporidium* spp., ETEC K99<sup>+</sup>, ishal

**Investigation of the Prevalence of Major Enteropathogens in Neonatal Diarrheic Calves Brought to Erciyes University Animal Hospital between 2019-2021 years**

**Abstract:** This retrospective study aimed to determine the incidence rates of BRV, BCoV, *E. coli* K99<sup>+</sup>, *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in calves with neonatal diarrhea brought to the Erciyes University, Animal Hospital from farms in Kayseri and its surrounding provinces between 01 August 2019 and 31 August 2021. It was determined that a total of 1839 calves were brought to hospital between the periods above. Of the 1839 calves, 863 were brought to the Ruminant Clinic of Internal Medicine, and 560 of 863 calves (65%) had clinical signs of diarrhea. From the stool samples, BCoV (21.7%) were the most diagnosed single enteropathogen followed by; *Cryptosporidium* spp. (18.3%), ETEC K99<sup>+</sup> (F5) (14.3%), BRV (11.4%) and *Giardia* spp. (0.6%). As for more than one enteropathogen, *Cryptosporidium* spp. +BRV (8.0%) were the mostly diagnosed and followed by; BRV+BCoV (7.4%), *Cryptosporidium* spp. +BCoV (6.3%), BRV+ETEC K99<sup>+</sup> (1.1%), BRV+BCoV+*Cryptosporidium* spp.. Diarrhea caused by ETEC K99<sup>+</sup> (34.7%) was the most common at 1-7 day-old calves and *Cryptosporidium* spp. (23.9%) was the most common at 8-14 days calves. In spring and winter seasons, BCoV (22.5%, 25.5%, respectively) was diagnosed mostly and in summer and autumn seasons mostly *Cryptosporidium* spp. (26.9%, 31.8%, respectively) was diagnosed. As a result, it was revealed that calf diarrhea caused by BCoV was the most common in calves with neonatal diarrhea brought to Erciyes University Animal Hospital from Kayseri and its surrounding provinces between 2019-2021 years. It was concluded that the prevalence of enteropathogens may vary depending on various factors such as sampling place, time, season and the findings obtained from this study may be useful in taking necessary prophylactic and managerial measures for the prevention of calf diarrhea.

**Keywords:** BCoV, BRV, Calf, *Cryptosporidium* spp., diarrhea, ETEC K99<sup>+</sup>

Geliş Tarihi/Submission Date : 11.01.2022  
Kabul Tarihi/Accepted Date : 28.02.2022

**Giriş**

Neonatal buzağı ishalleri, buzağı yetiştiriciliğinin en

önemli sorunlarından biridir (Foster ve Smith, 2009; Bartels ve ark., 2010). İshale bağlı ekonomik kayıplar; ölümlerin yanında, tedavi ve profilaksi için yapılan masraflar, buzağılarda daha sonra ortaya çıkan gelişme geriliği ve hayvanların değerinin altında satılmasından kaynaklanmaktadır (Hur ve ark., 2013; Ok, 2020).

Neonatal buzağı ishallerinin etiolojisinde; *Cryptosporidium* spp., bovine rotavirus (BRV), bovine coronavirus (BCoV), enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) K99<sup>+</sup>, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Enterococcus* spp. ve *Giardia* spp. yaygın olarak bildirilen mikroorganizmalardır (Güneş ve ark., 2004; Izzo ve ark., 2011; Blanchard, 2012; Altuğ ve ark., 2013). Bununla birlikte neonatal dönemde sıklıkla BRV, BCoV, ETEC K99<sup>+</sup>, *Cryptosporidium* spp. kaynaklı ishaller tespit edilmektedir (İçen ve ark., 2013; Altuğ ve ark., 2013; Caner Küliğ ve Çoşkun, 2019). Bu enfeksiyöz ajanlar tek başlarına veya mikس enfeksiyonlar şeklinde neonatal buzağılarda ishale neden olurlar (Bartels ve ark., 2010; Altuğ ve ark., 2013). Her bir enteropatojenin prevalansı ve hastalık insidansı çiftliklerin coğrafi konumuna, çiftlik yönetim uygulamalarına ve sürü büyüklüğüne göre değişkenlik gösterebilir (Cho ve Yoon, 2014).

İshalin başlangıç yaşı, teşhis açısından bazı enfeksiyöz ajanların dahil edilmesinde veya çıkarılmasında önemli bir faktördür. ETEC 99<sup>+</sup> tipik olarak 7 günlükten küçük buzağılarda ishale neden olurken, *Cryptosporidium* spp. ise, çoğunlukla 7-14 günlük buzağılarda rapor edilmiştir (Trotz-Williams ve ark., 2007; Blanchard, 2012). BRV ve BCoV sırasıyla, 4-14 ve 4-30 günlük buzağılarda görülmektedir (Foster ve Smith, 2009; Blanchard, 2012).

Düşük sıcaklıklar, yağmur, yoğun kar, rüzgâr ve yüksek nem gibi olumsuz hava koşulları neonatal buzağılar için çevresel birer risk faktörüdür (Larson ve Tyler, 2005; Gulliksen ve ark., 2009). Neonatal buzağı ishali için, kalabalık ve yüksek nem seviyeleri gibi olumsuz barınak koşulları da önemli birer risk faktörüdür (Hamnes ve ark., 2006). Benzer şekilde, buzağılama sezonunun belirli mevsimlere yığılması da neonatal buzağılar için bir risk teşkil etmektedir (Mohammed ve ark., 1999; Sturdee ve ark., 2003; Berber ve ark., 2021). Kalabalık, optimum temizlik rutinleri azaltılabilir ve bu da ortamda daha ağır bir patojen yükü ile sonuçlanır (Hamnes ve ark., 2006). Kötü hijyen, genellikle genç hayvanların barındırıldığı ortamdaki patojenik bakteri yükünün artmasına neden olabilir (Gebregiorgis ve Tessema, 2016). Bu gibi kötü yönetim uygulamaları buzağılarda ishale yakalanma riskini artırır ve ölümlere neden olabilir (Mohammed ve ark., 1999; Bendali ve ark., 1999; Delafosse ve ark., 2015; Berber ve ark., 2021).

Buzağılarda ishale sebep olan enteropatojenlerin görülme oranları, çiftliklerden toplanan veya

laboratuvara getirilen dışkı örneklerinde büyük ölçüde araştırılmıştır (Gulliksen ve ark., 2009; Izzo ve ark., 2011; Al Mawly ve ark., 2015a). Geleneksel tipte küçük ölçekli çiftliklerin (hayvan sayısı<50) çoğunlukta olduğu yerlerde, hasta buzağuların teşhisi, tedavisi ve genel durumlarının düzeltilmesi amacıyla götürüldükleri yer olan hayvan hastanelerinde, enteropatojenlerin görülme oranları ile ilgili hala epidemiyolojik veri eksikliği vardır. Hayvan hastanelerine, çoğunlukla tedaviye yanıt vermeyen ve/veya şiddetli seyreden ishal vakaları getirilmektedir. Buzağılarda ishale sebep olan enteropatojenlerin belirlenmesi sayesinde hastalıktan korunmada gerekli profilaktik ve yönetimsel önlemler hızlıca alınabilmektedir. Ayrıca, etkenin zoonotik yayılma riskini ölçmeye ve enfeksiyonun diğer hayvanlara bulaşmasının önlenmesine de yardımcı olabilmektedir. Aynı zamanda, veteriner hekimlerin belirli terapötik ve önleyici stratejileri seçmelerine de yardımcı olmaktadır (Altuğ ve ark., 2013; Choe ve ark., 2017).

Bu çalışmada, Kayseri ve civar illerindeki çiftliklerden 2019-2021 yılları arasında, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne getirilen neonatal ishali buzağılarda ishale sebep olan enteropatojenlerin (BRV, BCoV, *E. coli* K99<sup>+</sup>, *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp.) görülme oranlarının araştırılması amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne 01 Ağustos 2019 ve 31 Ağustos 2021 tarihleri arasında, Kayseri ve komşu illerinden (Sivas, Nevşehir, Yozgat, Niğde, Kırşehir) getirilen neonatal ishali buzağılarda, ishale sebep olan BRV, BCoV, *E. coli* K99<sup>+</sup>, *Cryptosporidium* spp. ve *Giardia* spp. görülme oranlarını belirlemek için retrospektif bir çalışma yapıldı.

## Bölge açıklaması

Kayseri, İç Anadolu Bölgesinin Orta Kızılırmak bölümünde yer alan ve meraya dayalı geleneksel tipte hayvancılık işletmelerin çoğunlukta olduğu bir ildir. Bu bölgelerdeki çiftliklerin çoğunluğu (~%85) küçük ölçekli işletme (hayvan sayısı<50) tarzındadır. Mevcut çalışmadaki çiftliklerdeki hayvan sayılarına bakıldığında 1-10 hayvan (n=30 çiftlik), 11-25 hayvan (n=69 çiftlik), 26-50 hayvan (n=42 çiftlik), 51-100 hayvan (n=24 çiftlik), 101-250 (n=8 çiftlik), 251-500 (n=2 çiftlik) şeklinde olduğu belirlendi. Kayserinin civar illerine bakıldığında; kuzey ve kuzeybatısında Yozgat, kuzey ve kuzeydoğuda Sivas, güneybatısında Niğde, batısında ise Nevşehir, kuzeybatısında Kırşehir illeri yer almaktadır. Çalışmaya dâhil edilen buzağuların getirildiği illerdeki hayvan sayısı 95000-260000 arasında değişmektedir (TÜİK verileri: 2019-2021 Hayvan Sayıları). Bu bölgelerdeki çiftliklerde buzağılama sezonu ilkbahar ve kış mevsiminde pik yapmaktadır. Özellikle

le, şubat, mart ve nisan ayları doğumların en yoğun olduğu aylardır. Kayseri ilinde kışları soğuk ve kar yağışlı, yazları ise sıcak ve kurak karasal nitelikli Orta Anadolu iklimi egemendir. Yağışlar kış, ilkbahar ve sonbahar aylarına rastlamaktadır (<https://mgm.gov.tr/>).

### Klimatik değerler

2019-2021 yıllarına ait aylık ortalama sıcaklık (°C) verileri, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nün (MGM) internet sitesinden (<https://mgm.gov.tr/>) elde edildi.

### Hayvanlar

Hayvan materyalini 1-34 günlük (ortanca 8 günlük) yaşlarda, farklı ırklardan [Simental (n=136), Holstein (n=16), Montofon (n=15), Melez (n=6), Belçika Mavis (n=1), Angus (n=1)] ve her iki cinsiyetten toplamda 175 adet (103 erkek, 72 dişi) ishalleri buzağı oluşturdu.

### Veri yönetimi ve analizi

Mevcut çalışmada, son iki yılda hastaneye getirilen neonatal ishalleri buzağılara ait veriler, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, hayvan hastanesi otomasyon sisteminden (ERUVetO; V.15042019/ 2015, Kayseri, Türkiye) geriye dönük olarak elde edildi. Hastane otomasyon sisteminin "analiz" sekmesinden "başlangıç tarihi (01 Ağustos 2019)", "bitiş tarihi (01 Ağustos 2021)", "tür (buzağı)", "yaş (1-35 günlük)" seçilerek son iki yılda getirilen toplam buzağı sayısı analiz edildi. Bu buzağılardan İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ruminant Kliniği'ne getirilen toplam buzağı sayısını analiz edebilmek için muayene edildiği klinik sekmesinden "İç Hastalıkları Anabilim Dalı" seçildi. Sonra "teşhis" sekmesinden; *Cryptosporidium* spp, ETEC K99<sup>+</sup>, BCoV, BRV ve *Giardia* spp. pozitif teşhis edilen buzağı sayıları belirlendi. Bu beş enteropatojen açısından negatif olarak belirlenen örnekler ise negatif olarak kategorize edildi. Benzer şekilde hastaneye getirilen buzağıların hastane otomasyon sistemine kayıt tarihlerine bakılarak, buzağıların getirildiği mevsimler belirlendi. Kış mevsimi; aralık, ocak ve şubat ayları, ilkbahar mevsimi; mart, nisan ve mayıs ayları, yaz mevsimi; haziran, temmuz ve ağustos ayları, sonbahar mevsimi; eylül, ekim ve kasım ayları olarak tanımlandı. Enteropatojenlerin yaş aralığına göre dağılımının belirlenmesi amacıyla, neonatal ishalleri buzağılar; 1-7 günlük, 8-14 günlük, 15-21 günlük, 22-28 günlük ve 29-35 günlük olmak üzere beş farklı yaş grubuna ayrıldı.

### İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SPSS 25.0 (Chicago, IL, USA) programı ile yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler frekans ve yüzde ile ifade edildi. Kategorik değişkenler arasındaki ilişki Ki-Kare ( $\chi^2$ ) testi (alternatif; Fisher's exact test) ile analiz edildi. Enteropatojenlerin dağılımlarını gösteren grafikler GraphPad Prism 9.0

(GraphPad Software, Inc.San Diego, CA, USA) programı ile çizildi. Anlamlılık seviyesi  $P < 0.05$  olarak kabul edildi.

### Bulgular

01 Ağustos 2019 ve 31 Ağustos 2021 tarihleri arasında, Kayseri ve civar illerinden (Sivas, Nevşehir, Yozgat, Niğde, Kırşehir) Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Hastanesi'ne toplamda 1839 buzağı getirildiği analiz edildi. Bu buzağılardan 863'ünün İç Hastalıkları Anabilim Dalı Ruminant Kliniği'ne getirildiği ve bunlardan 560'ünün (%65) klinik ishal belirtisi (anormal sıklıkta, yumuşak ve/veya sulu kıvamda, kötü kokulu dışkı) sahip olduğu belirlendi. Bu buzağılardan da 175'ine majör enteropatojen kaynaklı neonatal buzağı ishallerinin teşhis edilmesi amacıyla lateral flow immunokromatografik (LFI) ishal test kiti (BovID-5 Ag, Bionote, Güney Kore) uygulandığı belirlendi (Hastane Otomasyon Sistemi, ERUVetO; V.15042019/ 2015, Kayseri, Türkiye).

Çalışmada yer alan neonatal ishalleri buzağıların % 58.9'unun (103/175) erkek, %41.1'inin (72/175) ise dişi olduğu görüldü. Yaş gruplarına bakıldığında; % 41.1'inin (72/175) 1-7 günlük, %38.3'ünün (67/175) 8-14 günlük, %12.0'ünün (21/175) 15-21 günlük, % 4.0'ünün (7/175) 22-28 günlük, %4.6'sının (8/175) 29-35 günlük yaş aralığında olduğu görüldü. Neonatal ishalleri buzağılarda cinsiyet ve enteropatojen değişkenlerinin kategorileri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir bağlantı görülmedi ( $\chi^2 = 18.308$ ,  $P = 0.05$ ). Erkek ishalleri buzağılarda (%57.9) BCoV görülme oranının dişi buzağılardan (%42.1) yüksek olduğu belirlendi.

Neonatal ishalleri buzağılardan %77.7'sinin (136/175) Simental, %9.1'sinin (16/175) Holstein, %8.6'sının (15/175) Montofon, %3.4'ünün (6/175) melez, % 0.6'sının (1/175) Belçika Mavis, %0.6'sının (1/175) Angus ırkından oluştuğu görüldü. Neonatal ishalleri buzağılarda ırk ve enteropatojen değişkenlerinin kategorileri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir bağlantı görülmedi ( $\chi^2 = 40.960$ ,  $P = 0.815$ ).

Neonatal ishalleri buzağılardan %78.9'unun (138/175) Kayseri, %16.6'sının (138/175) Nevşehir, %1.7'sinin (3/175) Yozgat, %1.7'sinin (3/175) Kırşehir, % 0.6'sının (1/175) Niğde, %0.6'sının (1/175) Sivas illerinden getirildiği saptandı. Neonatal ishalleri buzağıların getirildiği il ve enteropatojen değişkenlerinin kategorileri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir bağlantı görülmedi ( $\chi^2 = 54.326$ ,  $P = 0.313$ ).

İshal testi yapılan 175 neonatal ishalleri buzağının 160'unda (%91.4) *Cryptosporidium* spp., ETEC K99<sup>+</sup>, BCoV, BRV, *Giardia* spp. antijenlerinden en az bir tanesi pozitif olmak üzere, bir veya birkaç adet enteropatojenin pozitif olarak tespit edildiği belirlendi. Bu 175 neonatal ishalleri buzağının 116'sında (%66.3) bir enteropatojen, 40'ünde (%22.9) iki enteropatojen,

4'ünde (%2.3) üç enteropatojen görüldüğü belirlendi. Bu 175 ishallerinin 15'inde (%8.6) ise *Cryptosporidium* spp., ETEC K99<sup>+</sup>, BCoV, BRV, *Giardia* spp. antijenleri açısından negatif olarak sınıflandırıldığı belirlendi.

İshalleri buzağılardan alınan dışkı örneklerinden, tek bir enteropatojen olarak; en çok BCoV (21.7%), sonra sırasıyla; *Cryptosporidium* spp. (%18.3), ETEC K99<sup>+</sup> (%14.3), BRV (%11.4), *Giardia* spp. (%0.6) tespit edildiği belirlendi (Tablo 1). Birden fazla enteropatojen olarak ise; en çok, *Cryptosporidium* spp. + BRV (8.0%), sonra sırasıyla; BRV + BCoV (%7.4), *Cryptosporidium* spp. + BCoV (%6.3), BRV + *E. coli* K99<sup>+</sup> (%1.1), BRV + BCoV + *Cryptosporidium* spp. (%2.3) tespit edildiği belirlendi (Tablo 1).

ishal vakalarının tespit edildiği belirlendi. 8-14 günlük neonatal ishalleri buzağılarda; en çok *Cryptosporidium* spp. (%23.9, 16/67) kaynaklı ishal vakaları görüldü. 15-21 günlük neonatal ishalleri buzağılarda; en çok BCoV (%28.6, 6/21), 22-28 günlük neonatal ishalleri buzağılarda; en çok BCoV (%28.6, 2/7) ve BRV + BCoV (%28.6, 2/7) eşit oranda, 29-35 günlük neonatal ishalleri buzağılarda; en çok *Cryptosporidium* spp. (%75.0, 6/8) kaynaklı ishal vakalarının tespit edildiği belirlendi (Tablo 1).

Neonatal ishalleri buzağılardan %45.7'sinin (80/175) ilkbahar, %26.9'unun (47/175) kış, %14.9'unun (26/175) yaz, %12.6'sinin (22/175) sonbahar mevsiminde ve özellikle şubat, mart ve nisan aylarında hastaneye getirildiği belirlendi (Şekil 1, Şekil 2).

**Tablo 1.** Neonatal ishalleri buzağılarda majör enteropatojenlerin görülme oranları ve yaş gruplarına göre dağılımı

Enteropatojenler ve Ko-infeksiyonlar	Enteropatojenlerin yaş gruplarına göre dağılımı						P Değeri
	Poz. Buzağı Sayıları % (n)	1-7 gün % (n/t)	8-14 gün % (n/t)	15-21 gün % (n/t)	22-28 gün % (n/t)	29-35 gün % (n/t)	
<b>Toplam % (n)</b>	100 (175)	41.1 (72/175)	38.3 (67/175)	12.0 (21/175)	4.0 (7/175)	4.6 (8/175)	
<b>Toplam enfeksiyon</b>							
BCoV	37.7 (66)	37.9 (25/66)	43.9 (29/66)	10.6 (7/66)	7.6 (5/66)	0 (0/66)	<0.001
<i>Cryptosporidium</i> spp.	34.9 (61)	14.8 (9/61)	55.7 (34/61)	14.8 (9/61)	3.3 (2/61)	11.5 (7/61)	<0.001
BRV	30.3 (53)	28.3 (15/53)	52.8 (28/53)	13.2 (7/53)	3.8 (2/53)	1.9 (1/53)	<0.001
ETEC K99 <sup>+</sup>	15.4 (27)	100 (27/27)	0 (0/27)	0 (0/27)	0 (0/27)	0 (0/27)	<0.001
<i>Giardia</i> spp.	0.6 (1)	100 (1/1)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/1)	0 (0/1)	1.000
<b>Tekli enfeksiyon</b>							
BCoV	21.7 (38)	25.0 (18/72)	17.9 (12/67)	28.6 (6/21)	28.6 (2/7)	0 (0/8)	0.392
<i>Cryptosporidium</i> spp.	18.3 (32)	6.9 (5/72)	23.9 (16/67)	19.0 (4/21)	14.3 (1/7)	75.0 (6/8)	<0.001
ETEC K99 <sup>+</sup>	14.3 (25)	34.7 (25/72)	0 (0/67)	0 (0/21)	0 (0/7)	0 (0/8)	<0.001
BRV	11.4 (20)	12.5 (9/72)	13.4 (9/67)	9.5 (2/21)	0 (0/7)	0 (0/8)	0.922
<i>Giardia</i> spp.	0.6 (1)	1.4 (1/72)	0 (0/67)	0 (0/21)	0 (0/7)	0 (0/8)	1.000
<b>İkili enfeksiyon</b>							
<i>Cryptosporidium</i> spp. + BRV	8.0 (14)	0 (0/72)	13.4 (9/67)	19.0 (4/21)	0 (0/7)	12.5 (1/8)	0.002
BRV + BCoV	7.4 (13)	4.2 (3/72)	11.9 (8/67)	0 (0/21)	28.6 (2/7)	0 (0/8)	0.061
<i>Cryptosporidium</i> spp. + BCoV	6.3 (11)	4.2 (3/72)	10.4 (7/67)	0 (0/21)	14.3 (1/7)	0 (0/8)	0.254
BRV + ETEC K99 <sup>+</sup>	1.1 (2)	2.8 (2/72)	0 (0/67)	0 (0/21)	0 (0/7)	0 (0/8)	0.683
<b>Çoklu enfeksiyon</b>							
<i>Cryptosporidium</i> spp. + BRV + BCoV	2.3 (4)	1.4 (1/72)	3.0 (2/67)	4.8 (1/21)	0 (0/7)	0 (0/8)	0.558
<b>Negatif #</b>	8.6 (15)	6.9 (5/72)	6.0 (4/67)	19.0 (4/21)	14.3 (1/7)	12.5 (1/8)	

Veriler, % (pozitif vaka sayısı/ toplam vaka sayısı) olarak ifade edildi; t, toplam buzağı sayısı, #, enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) K99<sup>+</sup>, bovine rotavirus (BRV), bovine coronavirus (BCoV), *Cryptosporidium* spp. ve *Giardia* spp. negatif teşhis edilen ishalleri buzağı sayılarını ifade etmektedir.

Neonatal ishalleri buzağıların yaş grupları ile enteropatojen değişkenlerinin kategorileri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir bağlantı görüldü ( $\chi^2=97.126$ ,  $P<0.001$ ). Enteropatojenler, yaş aralığına göre incelendiğinde, 1-7 günlük neonatal ishalleri buzağılarda; en çok ETEC K99<sup>+</sup> (%34.7, 25/72) kaynaklı

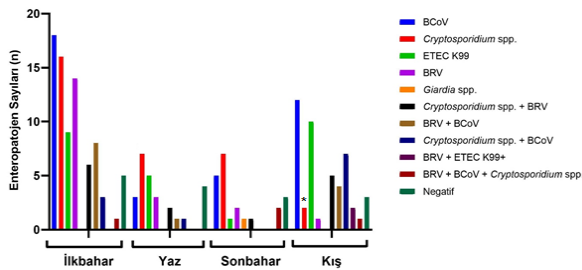
ilkbahar ve kış mevsiminde, en çok BCoV [sırasıyla, %22.5(18/80), %25.5 (12/47)], yaz ve sonbahar mevsiminde ise en çok *Cryptosporidium* spp. [sırasıyla, %26.9 (7/26), %31.8 (7/22)] kaynaklı ishal vakalarının getirildiği belirlendi (Tablo 2).



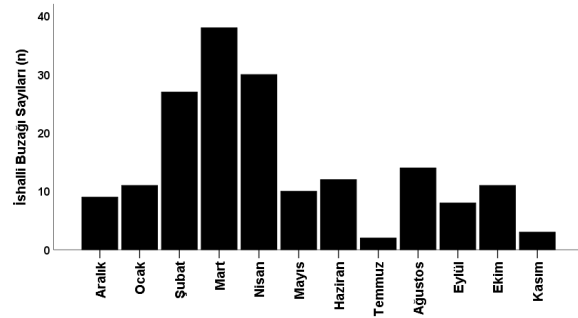
**Tablo 2.** Çalışmaya dahil edilen neonatal ishalleri buzağılarda majör enteropatojenlerin mevsimlere göre dağılımı

Enteropatojenler ve Ko-enfeksiyonlar	Enteropatojenlerin mevsimlere göre dağılımı					P Değeri
	% (n)	İlkbahar % (n/t)	Yaz % (n/t)	Sonbahar % (n/t)	Kış % (n/t)	
		45.7 (80/175)	14.9 (26/175)	12.6 (22/175)	26.9 (47/175)	
<b>Tekli enfeksiyon</b>						
BCoV	21.7 (38/175)	22.5 (18/80)	11.5 (3/26)	22.7 (5/22)	25.5 (12/47)	0.581
<i>Cryptosporidium</i> spp.	18.3 (32/175)	20.0 (16/80)	26.9 (7/26)	31.8 (7/22)	4.3 (2/47)	0.007
ETEC K99 <sup>+</sup>	14.3 (25/175)	11.3 (9/80)	19.2 (5/26)	4.5 (1/22)	21.3 (10/47)	0.199
BRV	11.4 (20/175)	17.5 (14/80)	11.5 (3/26)	9.1 (2/22)	2.1 (1/47)	0.046
<i>Giardia</i> spp.	0.6 (1/175)	0.0 (0/80)	0.0 (0/26)	4.5 (1/22)	0.0 (0/47)	0.126
<b>İkili enfeksiyon</b>						
<i>Cryptosporidium</i> spp. + BRV	8.0 (14/175)	7.5 (6/80)	7.7 (2/26)	4.5 (1/22)	10.6 (5/47)	0.890
BRV + BCoV	7.4 (13/175)	10.0 (8/80)	3.8 (1/26)	0.0 (0/22)	8.5 (4/47)	0.479
<i>Cryptosporidium</i> spp. + BCoV	6.3 (11/175)	3.8 (3/80)	3.8 (1/26)	0.0 (0/22)	14.9 (7/47)	0.040
BRV + ETEC K99 <sup>+</sup>	1.1 (2/175)	0.0 (0/80)	0.0 (0/26)	0.0 (0/22)	4.3 (2/47)	0.217
<b>Çoklu enfeksiyon</b>						
<i>Cryptosporidium</i> spp. + BRV + BCoV	2.3 (4/175)	1.3 (1/80)	0.0 (0/26)	9.1 (2/22)	2.1 (1/47)	0.163
<b>Negatif<sup>#</sup></b>	8.6 (15/175)	6.3 (5/80)	15.4 (4/26)	13.6 (3/22)	6.4 (3/47)	

Veriler, % (pozitif vaka sayısı/ toplam vaka sayısı) olarak ifade edildi; t, toplam buzağı sayısı, #: enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) K99<sup>+</sup>, *bovine rotavirus* (BRV), *bovine coronavirus* (BCoV), *Cryptosporidium* spp. ve *Giardia* spp. negatif teşhis edilen ishalleri buzağı sayılarını ifade etmektedir.



**Şekil 1.** Neonatal ishalleri buzağılarda teşhis edilen majör enteropatojenlerin mevsimlere göre dağılımı (01 Ağustos 2019-31 Ağustos 2021), ETEC K99<sup>+</sup>; enterotoksijenik *E. coli* K99<sup>+</sup>, BRV; *bovine rotavirus*, BCoV; *bovine coronavirus*, \*; P<0.05 (Yaz-Sonbahar).



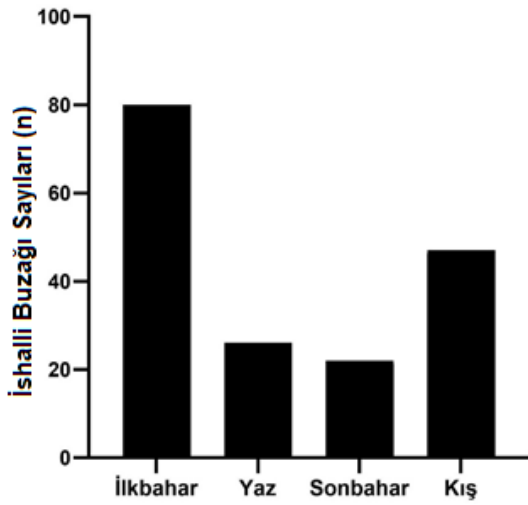
**Şekil 2.** Çalışmaya dâhil edilen neonatal ishalleri buzağılarının aylara göre dağılımı (Ağustos 2019- Ağustos 2021), Kış (aralık, ocak, şubat), İlkbahar (mart, nisan, mayıs), Yaz (haziran, temmuz, ağustos), Sonbahar (eylül, ekim, kasım).

Buzağılarının hastaneye getirildiği mevsim ve enteropatojen değişkenlerinin kategorileri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir bağlantı görüldü ( $\chi^2=52.603$ ,  $P=0.007$ ). *Cryptosporidium* spp. görülme oranları açısından mevsimler arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılık görüldü ( $P<0.05$ ) (Şekil 3). Mevcut çalışmada, kış mevsiminde hastaneye getirilen neonatal ishalleri buzağılarda tek bir enteropatojen olarak, *Cryptosporidium* spp. (%4.3, 2/47)

görülme oranının yaz ve sonbahar mevsiminden daha düşük olduğu belirlendi ( $\chi^2=50.255$ ,  $P=0.004$ ). Buna karşın, kış mevsiminde *Cryptosporidium* spp.'nin BRV ve BCoV ile beraber seyrettiği ishal vakalarının yalnız *Cryptosporidium* spp.'nin neden olduğu ishal vakalarına göre daha fazla olduğu belirlendi ( $P=0.020$ ,  $P<0.001$ ). Diğer enteropatojenlerin görülme oranları açısından mevsimler arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılık görülmedi ( $P>0.05$ ).

Tek bir enteropatojen olarak BRV kaynaklı ishal vakalarının ilkbahar mevsiminde (%17.5) hastaneye getirilen neonatal ishali buzağılarda görülme oranının diğer mevsimlerde getirilenlere göre daha fazla olduğu belirlendi (P=0.046).

Buzağuların getirildikleri yerlerdeki (Kayseri ve civar illeri) 2020-2021 yıllarına ait kış mevsimi (aralık, ocak, şubat) sıcaklık değerlerinin -6.9-6.0 °C aralığında olduğu belirlendi (<https://www.mgm.gov.tr/>).



**Şekil 3.** Çalışmaya dâhil edilen neonatal ishali buzağuların mevsimlere göre dağılımı (Ağustos 2019- Ağustos 2021), ilkbahar (n=80), Kış (n=47), Yaz (n=26), Sonbahar (n=22).

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma ile Kayseri ve civar illerinden Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne getirilen neonatal ishali buzağılarda; BCoV, BRV, ETEC K99<sup>+</sup>, *Cryptosporidium* spp. ve *Giardia* spp.'nin 2019-2021 yıllarındaki görülme oranları belirlendi. İlave olarak, mevsim ve yaş değişkenleri ile majör enteropatojen kaynaklı buzağı ishalleri arasındaki ilişki tanımlandı.

Neonatal buzağı ishallerinin etiyolojisinde, BCoV'un diğer enteropatojenlere göre daha düşük oranlarda görüldüğü rapor edilmiştir (Izzo ve ark., 2011; İçen ve ark., 2013). Mevcut çalışmada ise 2019-2021 yılları arasında hastaneye getirilen neonatal ishali buzağılarda, en çok BCoV (%37.7) kaynaklı ishal vakalarının görüldüğü belirlendi. 2016-2019 yılları arasında aynı bölgelerden Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Hastanesine getirilen neonatal ishali buzağılarda BCoV görülme oranından da (%26.3) yüksek olduğu belirlendi. Mevcut çalışmada rapor

edilen bu oranın, hem dünyada [%7.2 (Cruvinel ve ark., 2020), %9.0 (Choe ve ark., 2017), %0.4 (Bertoni ve ark., 2021)] hem de ülkemizde [%1 (Erdoğan ve ark., 2003), %4.8 (Gümüsova ve ark., 2007), %2.1 (İçen ve ark., 2013), %1.96 (Altuğ ve ark., 2013), %9.35 (Kaya ve Çoşkun, 2018), %19.2 (Berber ve ark., 2021)] diğer araştırmacılar tarafından rapor edilen değerlerden yüksek olduğu belirlendi. Yenidoğan buzağular BCoV'u, diğer buzağular veya yetişkin sığırlar tarafından kontamine edilmiş ortamdan alır (Torres-Medina ve ark., 1985). Ayrıca bu hastalık özellikle kış aylarında ve uzun süre kapalı ortamda barındırılan hayvanlarda daha sık görülmektedir (Clark, 1993; Cho ve ark., 2001; Hasoksuz ve ark., 2002). Bulgularımızla uyumlu olarak, Brezilya'da 2009-2013 yılları arasında iki aydan küçük ishali buzağular üzerinde yapılan bir çalışmada, BCoV'un yaygınlığının ilkbahar ve kış aylarında daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Lorenzetti ve ark., 2013). Bulgularımızla ilgili olası bir açıklama, buzağuların getirildiği çiftliklerde kötü yönetimle ilişkili olarak doğum sezonunun ilkbahar ve kış aylarında kümelenmesi barınakların kalabalık olmasına neden olabilir. Bu durum optimum temizlik rutinlerini azaltabilir ve ortamda patojen yükünün artmasına sebep olabilir (Hamnes ve ark., 2006). Ayrıca kış mevsimindeki bu bölgelerdeki düşük sıcaklık değerleri (-6.9 ila 6.0 °C) de ishali ortaya çıkmasında etkili olabilir. Kış aylarında daha düşük sıcaklık ve daha yüksek nem, enfeksiyöz ajanların düzeyini artırarak yenidoğan buzağuların ishale yakalanma riskini artırır (Arsenopoulos ve ark., 2017).

Neonatal ishali buzağılarda rapor edilen *Cryptosporidium* spp., oranları dünyada %3-63 aralığında rapor edilmiştir (Khan ve Khan, 1991; De La Fuente ve ark., 1999; Bendali ve ark., 1999; Naciri ve ark., 1999; Langoni ve ark., 2004; Bartels ve ark., 2010; Troitz-Williams ve ark., 2005). Benzer olarak, Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çalışmalarda *Cryptosporidium* spp. prevalansı %5.9-70.3 aralığında rapor edilmiştir (Burgu, 1984; Özer ve ark., 1990; Aydın ve ark., 2001; Mamak ve ark., 2000; Sevinç ve ark., 2003; Çitilve ark., 2004, Şimşek ve ark., 2012). Mevcut çalışmada hastaneye getirilen neonatal ishali buzağılarda belirlenen *Cryptosporidium* spp. (%34.9) oranlarının ülkemizde, Arslan ve ark. (2003) ve Şahal ve ark. (2005) tarafından rapor edilen oranlar (sırasıyla, %32.9, %35.8) ile benzer olduğu görüldü. Diğer çalışmalara kıyasla, bu çalışmadaki düşük ya da yüksek değerler, yönetsel, çevresel ve bireysel risk faktörlerindeki (örneklem sayısı, çiftlik tipi, yönetim uygulamaları, bölgesel farklılıklar, hava sıcaklığı, yağmur miktarı) farklılıklarla açıklanabilir.

Bulgularımızla uyumlu olarak, Sturdee ve ark. (2003) ve Urie ve ark. (2018), sonbahar mevsiminde *Cryptosporidium* spp. kaynaklı ishal vakalarının daha fazla görüldüğünü rapor etmişlerdir. Maddox-Hyttel ve ark. (2006) ve Hamnes ve ark. (2006) ise kış mevsiminde

*Cryptosporidium* spp. yaygınlığının daha fazla görüldüğünü rapor etmişlerdir. Buna karşın, Mohammed ve ark. (1999) ve Delafosse ve ark. (2015), *Cryptosporidium*'ün görülme oranları açısından mevsimler arasında bir fark olmadığı ifade etmişlerdir. Her bir enteropatojenin prevalansı ve hastalık insidansı çiftliklerin coğrafi konumuna, çiftliklerdeki yönetim uygulamalarına ve sürü büyüklüğüne göre değişkenlik gösterebilir (Altuğ ve ark., 2013; Cho ve Yoon, 2014; Berber ve ark., 2021).

Mevcut çalışmada, daha önceki çalışmalar ile uyumlu olarak, *Cryptosporidium* spp. en çok 8-14 günlük (33.9%) ishallerde görüldü (Trotz-Williams ve ark., 2007; Delgado-González ve ark., 2019). Anaların parturient dönemde, preparturient ve postparturient döneme kıyasla, bağışıklık sistemindeki baskılanma nedeniyle etrafa fazla miktarda *Cryptosporidium* oookisti saçtıkları bilinmektedir (Faubert ve Litvinsky, 2000). Çalışmaya dâhil edilen buzağuların getirildikleri çiftliklerde [çoğunlukla geleneksel çiftlik (%85)] doğumlar çoğunlukla ahır içerisinde diğer hayvanlarla aynı ortamda olmaktadır. Yeni doğan buzağuların anaları ve/veya diğer buzağular tarafından etrafa saçılan *Cryptosporidium* spp. oookistleri ile kirlenmiş ortamda, yaşamlarının ilk günlerinden itibaren barındırılması ve bu dönemde alınan oookistlerin 8-10 günlük inkübasyon dönemini takiben 7-14 günlük yaşta enfeksiyon oluşturmaya başlaması, bu günlerdeki *Cryptosporidium* spp. ishallerindeki yüksek oranları açıklayabilir.

Bu çalışmada ishallerde belirlenen BRV oranlarının (%30.3), dünyada %9.6-79.9 ve ülkemizde %8.5-47.0 rapor edilen aralıklarda olduğu belirlendi (Alkan ve ark., 1992; Alkan, 1998; Bendali ve ark., 1999; Naciri ve ark., 1999; Erdoğan ve ark., 2003; Langoni ve ark., 2004; Gülyaz ve ark., 2005; Çabalar ve ark. 2007; Duman ve Aycan 2010; Bartels ve ark., 2010; Izzo ve ark., 2011). Mevcut çalışmada elde edilen bu oran, 2016-2019 yılları arasında Kayseri ve civar illerinden hayvan hastanesine getirilen neonatal ishallerde etiyojik ve predispoze faktörlerin araştırıldığı çalışmanın (BRV, %31.9) sonuçlarıyla uyumlu bulundu (Hastane Otomasyon Sistemi, ERU-VetO; V.15042019/2015, Kayseri, Türkiye). Berber ve ark. (2021) ise 2016-2017 yılları arasında yine aynı bölgelerden getirilen neonatal ishallerde yaptıkları bir çalışmada BRV prevalansını %56.4 olarak rapor etmişlerdir. Bu farklılık çalışmaya dâhil edilen buzağı sayısı ve teşhis metodundan kaynaklanabilir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) testi lateral flow immünokromatografik (LFI) tanı kitlerine göre daha hassas bir teşhis yöntemidir (Klein ve ark., 2008).

Mevcut çalışmada hastaneye getirilen neonatal ishallerde belirlenen ETEC K99<sup>+</sup>(%15.4) oranlarının, ülkemizde rapor edilen oranlardan (%18.2-32.1) düşük olduğu görüldü (Emre ve ark., 1998, Aydın ve ark., 2000, Caner Küliğ ve Çoşkun, 2019). De LaFu-

ente ve ark. (1999), Bendali ve ark. (1999), Naciri ve ark. (1999), Güneş ve ark. (2004), Bartels ve ark. (2010), Izzo ve ark. (2011) tarafından rapor edilen değerlerden (%1.4-17.4) ise yüksek olduğu görüldü. Yeni doğan buzağular, özellikle sanitasyonun marjinal olduğu durumlarda, çevreden *E. coli*'ye maruz kalırlar (Güneş ve ark., 2004; Foster ve Smith, 2009). Literatür bilgisiyle uyumlu olarak, mevcut çalışmada 1-7 günlük neonatal ishallerde en çok ETEC K99<sup>+</sup> (%33.6) kaynaklı ishal vakaları görüldü (Blanchard, 2012; Berber ve ark., 2021).

Mevcut çalışmada, rapor edilen *Giardia* spp. (%0.6, 1/175) oranlarının ülkemizde %4.1-16.8 ve dünyanın farklı yerlerinde yapılan çalışmalarda [İsviçre (%26.6), ABD (%40), Batı Avustralya (%58), Batı Kanada (%57)] rapor edilen değerlerden düşük olduğu belirlendi (Taminelli ve ark., 1989; O'Handley ve ark., 1999; Trout ve ark., 2004; Değerli ve ark., 2005; Göz ve ark., 2006; Kaya ve Coskun, 2018). Ülkelere, bölgelere, iklimlere, hatta çalışmanın yapıldığı çiftliklerde, yönetim ve hijyen tedbirlerinin uygulanma durumuna göre enteropatojenlerin yaygınlığı değişebilmektedir. Bu sebeple, bu bölgede neonatal buzağı ishallerinin etiyojisinde, *Giardia* spp.'den daha ziyade BRV, BCoV, *E. coli* K99<sup>+</sup> ve *Cryptosporidium* spp. gibi enteropatojenlerin ön planda değerlendirilmesi hastalığın teşhisi ve tedavi stratejilerinin belirlenmesi açısından veteriner hekimler için daha faydalı olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmadaki bulgular, neonatal buzağı ishallerinin etiyojisinde BCoV, BRV, ETEC K99<sup>+</sup> ve *Cryptosporidium* spp. rol oynadığını göstermektedir. 2019-2021 yılları arasında, Kayseri ve civar illerinden hastanemize getirilen neonatal ishallerde buzağulara, BCoV ve *Cryptosporidium* spp. görülme oranlarının diğer enteropatojenlere daha fazla olduğu belirlendi. Bu çalışmadan elde edilen bulguların buzağı ishallerine önlenmesine karşı gerekli profilaktik ve yönetimsel önlemlerin alınmasında faydalı olabileceği kanaatine varıldı.

#### Kaynaklar

- Alkan F. Buzağı ishallerinde rotavirus ve corona virüsünün rolü. AÜ Vet Fak Derg 1998; 45: 29-37.
- Alkan F, Pulat H, Yazıcı Z, Burgu İ. Ters (reverse) pasif hemaglutinasyon (RPHA) testi ile ishallerde buzağuların gaitalarında rotavirusların tespiti. AÜ Vet Fak Derg 1992; 39(1-2): 238-46.
- Al Mawly J, Grinberg A, Prattley D, Moffat J, French N. Prevalence of endemic enteropathogens of calves in New Zealand dairy farms. N Z Vet J 2015a; 63(3): 147-52.
- Altuğ N, Yüksek N, Özkan C, Keleş I, Başbuğan Y, Ağaoğlu ZT, Kaya A, Akgül Y. Neonatal buzağı ishallerinin immunokromatografik test kitleri ile hızlı etiyojik teşhisi. YYÜ Vet Fak Derg 2013; 24(3):

- 123-8.
- Arsenopoulos K, Theodoridis A, Papadopoulos E. Effect of colostrum quantity and quality on neonatal calf diarrhoea due to *Cryptosporidium* spp. infection. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2017; 53: 50-5.
- Arslan MÖ, Erdoğan HM, Tanriverdi S. Neonatal buzağlarda *Cryptosporidiosis*' in epidemiyolojisi. 13. Ulusal Parazitoloji Kongresi, Program ve Özet Kitabı. SB6-01, s. 186, Eylül, 8-12, 2003; Konya-Türkiye.
- Aydın F, Umur Ş, Gökçe G, Genç O, Güler MA. Kars yöresindeki ishalleri buzağlardan bakteriyel ve paraziter etkenlerin izolasyonu ve identifikasyonu. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2001; 7(1): 7-14.
- Bartels CJ, Holzhauser M, Jorritsma R, Swart WA, Lam TJ. Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Prev Vet Med* 2010; 93(2-3): 162-9.
- Bendali F, Bichet H, Schelcher F, Sanaa M. Pattern of diarrhoea in newborn beef calves in South-West France. *Vet Res* 1999; 30(1): 61-74.
- Berber E, Çanakoğlu N, Sözdutmaz İ, Simsek E, Sursal N, Ekinci G, Kökkaya S, Arıkan E, Ambarcıoğlu P, Göksu AG, Keleş İ. Seasonal and age-associated pathogen distribution in newborn calves with diarrhoea admitted to ICU. *Vet Sci* 2021; 8(7): 128.
- Bertoni EA, Bok M, Vega C, Martinez GM, Cimino R, Parreño V. Influence of individual or group housing of newborn calves on rotavirus and coronavirus infection during the first 2 months of life. *Trop Anim Health Prod* 2021; 53(1): 62.
- Blanchard PC. Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhoea. *Vet Clin North Am Food Anim* 2012; 28(3): 443-64.
- Burgu A. Türkiye'de buzağlarda *Cryptosporidium*'ların bulunuşu ile ilgili ilk çalışmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1984; 31(3): 573-85.
- Caner Küliğ C, Coşkun A. Sivas ve ilçelerindeki Neonatal İshalleri Buzağlarda *E. coli*, *Cryptosporidium*, *Clostridium perfringens*, rotavirüs ve coronavirüs Prevalansı. *Turk Vet J* 2019; 1(2): 69-73.
- Cho KO, Hoet AE, Loerch SC, Wittum TE, Saif LJ. Evaluation of concurrent shedding of bovine coronavirus via the respiratory tract and enteric route in feedlot cattle. *Am J Vet Res* 2001; 62(9): 1436-41.
- Cho YI, Yoon KJ. An overview of calf diarrhoea- infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J Vet Sci* 2014; 15(1): 1-17.
- Choe C, Jung YH, Do YC, Cho A, Kim SB, Kang HS, Yoo JG, Park J. Use of rapid diagnostic kit for the diagnosis of Korean native calf diarrhoea. *Korean J Vet Serv* 2017, 40(1): 61-6.
- Clark MA. Bovine coronavirus. *Br Vet J* 1993; 149(1): 51-70.
- Cruvinel LB, Ayres H, Zapa DMB, Nicaretta JE, Couto LFM, Heller LM, Bastos TSA, Cruz BC, Soares VE, Teixeira WF, de Oliveira JS, Fritzen JT, Alfieri AA, Freire RL, Lopes WDZ. Prevalence and risk factors for agents causing diarrhoea (Coronavirus, Rotavirus, *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp., and nematodes helminthes) according to age in dairy calves from Brazil. *Trop Anim Health Prod* 2020; 52(2): 777-91.
- Çabalar M, Kaya A, Arslan S. Yeni doğan buzağların ishal olgularında rotavirus ve coronavirus araştırılması. *Vet Bil Derg* 2007; 23(3-4): 103-6.
- Çitil M, Arslan MÖ, Gunes V, Erdoğan HM. Neonatal buzağı ishallerinde *cryptosporidium* ve *eimeria* enfeksiyonlarının rolü. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg* 2004; 10(1): 59-64.
- Değerli S, Celiksoz A, Kalkan K, Özçelik S. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in cows and calves in Sivas. *Turk J Vet Anim Sci* 2005; 29(4): 995-9.
- Delafosse A, Chartier C, Dupuy MC, Dumoulin M, Pors I, Paraud C. *Cryptosporidium parvum* infection and associated risk factors in dairy calves in western France. *Prev Vet Med* 2015; 118(4): 406-12.
- De la Fuente R, Luzon M, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Garcia A, Cid D, Orden JA, Gomez-Bautista M. *Cryptosporidium* and other concurrent major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Vet Parasitol* 1999; 80(3): 179-85.
- Delgado-González RA, Meza-Herrera CA, González-Álvarez VH, Alvarado-Espino AS, Contreras-Villareal V, Gaytán-Alemán LR, Arellano-Rodríguez G and Véliz-Deras FG. Enteropathogens in Holstein calves with diarrhoea during the first five weeks of age in México. *Indian J Anim Res* 2019; 53(8): 1085-9.
- Duman R, Aycan AE. Prevalence of rotavirus infections in calves with diarrhoea in Konya region. *J Anim Vet Adv* 2010; 9(1): 136-8.
- Emre Z, Alabay B.M, Fidancı H, Düzgün A, Çerçi H. Prevalence of *Cryptosporidium* spp. infection and its relation to other enteric pathogens (*Escherichia*

- coli* K99 and rotavirus) in cattle in Ankara, Turkey. Turk J Vet Anim Sci 1998; 22(5): 453-8.
- Erdoğan HM, Ünver A, Arslan MÖ, Çitil M, Güneş V. Neonatal buzağı hastalıkları. Beşinci Ulusal Veteriner İç Hastalıkları Kongresi. 2-5 Temmuz 2003, Van-Türkiye.
- Faubert GM, Litvinsky Y. Natural transmission of *Cryptosporidium parvum* between dams and calves on a dairy farm. J Parasitol 2000; 86(3): 495-500.
- Foster DM, Smith GW. Pathophysiology of diarrhea in calves. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2009; 25(1):13-36.
- Gebregiorgis A, Tessema TS. Characterization of *Escherichia coli* isolated from calf diarrhea in and around Kombolcha, South Wollo, Amhara Region, Ethiopia. Trop Anim Health Prod 2016; 48(2): 273-81.
- Göz Y, Altuğ N, Yüksek N, Özkan C. Parasites detected in neonatal and young calves with diarrhoea. Bull Vet Inst in Pulawy 2006; 50(3): 345-8.
- Gulliksen SM, Jor E, Lie KI, Hamnes IS, Løken T, Åkerstedt J, Østerås O. Enteropathogens and risk factors for diarrhea in Norwegian dairy calves. J Dairy Sci 2009; 92(10): 5057-66.
- Gumusova SO, Yazici ZA, Albayrak HA, Meral YU. Rotavirus and coronavirus prevalence in healthy calves and calves with diarrhea. Medycyna Wet 2007; 63(1): 62-4.
- Gülyaz V, Hasöksüz M, Özkul A. Türkiye’de yeni doğan ishalleri buzağılarda ilk rotavirus izolasyonu. Pendik Vet Microbiol Derg 2005; 35: 1-2.
- Güneş V, Ünver A, Çitil M, Erdoğan HM. The prevalence of *Escherichia coli* O157 serotype and *Clostridium Perfringens* type A toxin in neonatal diarrhoeic calves in Kars district. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2004; 10(1): 41-5.
- Hamnes IS, Gjerde B, Robertson L. Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in dairy calves in three areas of Norway. Vet Parasitol 2006; 140(3-4): 204-16.
- Hasoksuz M, Hoet AE, Loerch SC, Wittum TE, Nielsen PR, Saif LJ. Detection of respiratory and enteric shedding of bovine coronaviruses in cattle in an Ohio feedlot. J Vet Diagn Invest 2002; 14(4): 308-13.
- Hur TY, Jung YH, Choe CY, Cho YI, Kang SJ, Lee HJ, Ki KS, Baek KS, Suh GH. The dairy calf mortality: the causes of calf death during ten years at a large dairy farm in Korea. Korean J Vet Res 2013; 53(2): 103-8.
- İçen H, Arserim NB, Işık N, Özkan C, Kaya A. Prevalence of four enteropathogens with immunochromatographic rapid test in the feces of diarrheic calves in east and southeast of Turkey. Pak Vet J 2013; 33(4): 496-9.
- Izzo M, Kirkland P, Mohler V, Perkins N, Gunn A, House J. Prevalence of Major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. Aust Vet J 2011; 89(5): 167-73.
- Kaya U, Çoşkun A. Tokat bölgesindeki neonatal buzağı ishallerinin etiyolojisinin belirlenmesi. Manas J Agr Vet Life Sci 2018; 8(1): 75-80.
- Khan A, Khan MZ. Aetiopathology of neonatal calf mortality. Med J Islamic World Acad Sci 1991; 4 (2): 159-65.
- Klein P, Kleinova T, Volek Z, Simunek J. Effect of *Cryptosporidium parvum* infection on the absorptive capacity and paracellular permeability of the small intestine in neonatal calves. Vet Parasitol 2008; 152(1-2):53-9.
- Langoni H, Linhares AC, De Avila FA, Da Silva AV, Elias AO. Contribution to the study of diarrhea etiology in neonate dairy calves in São Paulo state, Brazil. Braz J Vet Res Anim Sci 2004; 41: 313-9.
- Larson RL, Tyler JW. Reducing calf losses in beef herds. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2005; 21(2): 569-84.
- Lorenzetti E, de Arruda Leme R, Ribeiro J, De Souza VRA, Alfieri AF, Alfieri AA. Neonatal diarrhea by bovine coronavirus (BCoV) in beef cattle herds. Semin Cienc Agrar 2013; 34(2): 3795-800.
- Maddox-Hyttel C, Langkjaer RB, Enemark HL, Vigre H. *Cryptosporidium* and *Giardia* in different age groups of Danish cattle and pigs-occurrence and management associated risk factors. Vet Parasitol 2006;141(1-2):48-59.
- Mamak N, Özçelik S, Değerli S, Oğuztürk H, Akin Z. Zara (Sivas) yöresi sığırlarında *Cryptosporidium* infeksiyonunun prevalansı. Türkiye Parazitolojisi Derg 2000; 24(4): 401-4.
- Mohammed HO, Wade SE, Schaaf S. Risk factors associated with *Cryptosporidium parvum* infection in dairy cattle in southeastern New York State. Vet Parasitol 1999; 83(1): 1-13.
- Naciri M, Lefay MP, Mancassola R, Poirier P, Chermette R. Role of *Cryptosporidium parvum* as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. Vet Parasitol 1999;

- 85(4): 245-57.
- O'Handley RM, Cockwill C, McAllister TA, Jelinski M, Morck DW, Olson ME. Duration of naturally acquired giardiasis and cryptosporidiosis in dairy calves and their association with diarrhea. J Am Vet Med Assoc 1999; 214(3): 391-6.
- Ok M. Buzağıları Hastalıklardan Koruma Yöntemleri. Erdem H, Çiftçi E, Işık MK, Yorgancılar MÜ, Yaralı C. eds. In: Buzağı Kayıplarının Önlenmesinde Buzağı Sağlığı ve Yetiştiriciliği. Ankara, Medisan Yayın Evi, 2020; s. 61-64.
- Özer E, Erdoğan SZ, Köroğlu E. Elazığ yöresinde buzağı ve kuzularda bulunan *Cryptosporidium* un yayılımı üzerinde araştırmalar. Turk J Vet Anim Sci 1990; 14: 439-45.
- Sahal M, Karaer Z, Yasa DS, Cizmeci S, Tanyel B. Cryptosporidiosis in newborn calves in Ankara region: clinical, haematological findings and treatment with Lasalocid-Na. DTW. Dtsch Tierarztl Wochenschr 2005; 112(6), 203-8.
- Sevinc F, Irmak K, Sevinc M. The prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in the diarrhoeic and non-diarrhoeic calves. Revue Med Vet 2003; 154(5): 357-62.
- Sturdee AP, Bodley-Tickell AT, Archer A, Chalmers RM. Long-term study of *Cryptosporidium* prevalence on a lowland farm in the United Kingdom. Vet Parasitol 2003; 116(2): 97-113.
- Şimşek AT, İnci A, Yıldırım A, Çiloğlu A, Bişkin Z, Düzlü Ö. Nevşehir yöresindeki yeni doğan ishallerde buzağılarda Cryptosporidiosis'in Real Time PCR ve Nested PCR yöntemleri ile saptanması. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2012; 9(2): 79-87.
- Taminelli V, Eckert J. The frequency and geographic distribution of *Giardia* infections in ruminants in Switzerland. Schweiz Arch Tierheilkd 1989; 131 (5): 251-8.
- Torres-Medina A, Schlafer DH, Mebus CA. Rotaviral and coronaviral diarrhea. Vet Clin North Am Food Anim Pract 1985; 1(3): 471-93.
- Trotz-Williams LA, Jarvie BD, Martin SW, Leslie KE, Peregrine AS. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. Can Vet J 2005; 46(4): 349-51.
- Trotz-Williams LA, Wayne Martin S, Leslie KE, Duffield T, Nydam DV, Peregrine AS. Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. Prev Vet Med 2007; 82(1-2): 12-28.
- Trout JM, Santin M, Greiner E, Fayer R. Prevalence of *Giardia duodenalis* genotypes in pre-weaned dairy calves. Vet Parasitol 2004; 124(3-4): 179-86.
- Urie NJ, Lombard JE, Shivley CB, Koprak CA, Adams AE, Earleywine TJ, Olson JD, Garry FB. Preweaned heifer management on US dairy operations: Part I. Descriptive characteristics of preweaned heifer raising practices. J Dairy Sci 2018; 101(10): 9168-84.



### Effects of Food Restriction on PTGS2 and NRF2 Genes Expression Levels in Rat Testis

Hüseyin ÖZKAN<sup>1,a</sup>, Sevda DALKIRAN<sup>2,b</sup>, İrem KARAASLAN<sup>3,c</sup>, Ufuk KAYA<sup>4,d</sup>, İbrahim ALAKUŞ<sup>5,e</sup>,  
Baran ÇAMDEVİREN<sup>2,f</sup>, Akın YAKAN<sup>1,3,g</sup>

<sup>1</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Genetics, Hatay-TURKEY

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Institute of Health Sciences, Department of Molecular Biochemistry and Genetics, Hatay-TURKEY

<sup>3</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Technology and Research & Development Center (MARGEM), Hatay-TURKEY

<sup>4</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biostatistics, Hatay-TURKEY

<sup>5</sup>Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Hatay-TURKEY

ORCID: <sup>a</sup>0000-0001-5753-8985; <sup>b</sup>0000-0002-5704-5774; <sup>c</sup>0000-0002-7485-192X; <sup>d</sup>0000-0002-4805-0993;  
<sup>e</sup>0000-0002-2031-7035; <sup>f</sup>0000-0003-1508-7869; <sup>g</sup>0000-0002-9248-828X

**Corresponding author:** Hüseyin ÖZKAN; E-Mail: hozkan@mku.edu.tr

**How to cite:** Özkan H, Dalkıran S, Karaaslan İ, Kaya U, Alakuş İ, Çamdeviren B, Yakan A. Effects of food restriction on PTGS2 and NRF2 genes expression levels in rat testis. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 123-128

**Abstract:** This study aimed to investigate the effects of food restriction on oxidative status at the molecular levels of the testis in rats. A total of 16 male Wistar rats were allocated to two groups (n=8) and fed for four weeks. The first group was control (Cont) and consumed food and water ad libitum. The second one, food-restricted group (FR) was presented half of the regular consumption. But the water was presented ad libitum. The feeding period was maintained for four weeks. At the end of the feeding period, rats were euthanized by cardiac blood sampling under anesthesia. Malondialdehyde (MDA) levels in testis tissue were determined and calculated as nmol/mg protein. In addition, Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2 (PTGS2) and Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) genes expression levels were determined in testis tissue. While MDA and gene expression levels were found similar in groups, a positive correlation was found between PTGS2 and NRF2 genes (r=0.629; P<0.05). The molecular regulation of oxidative status was found strongly related with PTGS2 and NRF2 genes molecular activity in testis of rats. The obtained results were shown that the feeding period and restriction rate factors were mainly responsible for the oxidative status of testis tissue.

**Keywords:** Food restriction, NRF2, oxidative stress, PTGS2, testis

#### Yem Kısıtlamasının Rat Testisinde PTGS2 ve NRF2 Genlerinin Ekspresyon Seviyelerine Etkileri

**Öz:** Bu çalışmanın amacı, yem kısıtlamasının rat testisinde oksidatif duruma etkilerinin moleküler seviyede belirlenmesidir. Toplam 16 erkek Wistar rat iki gruba ayrılmıştır (n=8) ve dört hafta boyunca beslenmiştir. Birinci grup olan Kontrol (Cont) grubuna yem ve su *ad libitum* olarak verilmiştir. İkinci grup olan, yem kısıtlaması (FR) grubuna Cont grubunun yarısı kadar yem sunulurken su *ad libitum* olarak sunulmuştur. Beslenme periyodunun sonunda ratlar anestezi altında kardiyak kan alınarak ötenazi edilmiştir. Testis dokusunda Malondialdehit (MDA) seviyeleri belirlenmiş ve nmol/mg protein olarak hesaplanmıştır. Ayrıca testis dokusunda Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2 (PTGS2) ve Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) genlerinin ekspresyon seviyeleri tespit edilmiştir. Gruplarda MDA ve gen ekspresyon seviyeleri benzer bulunurken, PTGS2 ve NRF2 genleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (r=0.629; P<0.05). Rat testisinde oksidatif durumun moleküler regülasyonu, PTGS2 ve NRF2 genlerinin moleküler aktivitesi ile güçlü bir şekilde ilişkili bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, testis dokusunun oksidatif durumundan esas olarak beslenme süresi ve kısıtlama oranı faktörlerinin sorumlu olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** NRF2, Oksidatif stres, PTGS2, testis, yem kısıtlaması

#### Introduction

Numerous factors are responsible for the sustainable health of organisms. Nutrition is one of the major elements that regulate the complex reproductive activity in mammals (Ajuogu et al., 2020). Male reproductive physiology is strongly associated with diet-related disorders such as obesity. Regulation of diet

is considered the gold standard in treating metabolic disorders (Moszak et al., 2020). Moreover, food or calorie restrictions are frequently preferred to bring obesity-related disorders under control (Filaire et al., 2009).

Most cellular components such as lipids and proteins are vulnerable to oxidative modifications. A disturbed oxidative balance between reactive oxygen species (ROS) causes oxidative stress in the organism. It has been shown in several studies that FR has positive

effects of diminishing the ROS in many tissues and organs (Filaire et al., 2009; Ichikawa et al., 2000; Kim et al., 1996).

As with all systems in the organism, the antioxidant mechanism is of tremendous importance in the reproductive system. In the past 20 years, researchers have focused on the molecular regulation of the biological processes in tissues and organs (Alberts et al., 2002). In addition, gene expression studies attract attention in any area of biology. On the other hand, a limited molecular study-related oxidative stress has been found about the effect of FR on testis tissue (Li et al., 2021; Mladenovic Djordjevic et al., 2021).

Oxidative balance is under the control of many genes of the oxidative pathway. *PTGS2* (Prostaglandin G/H Synthase 2) and *NRF2* (Nuclear Factor, Erythroid 2 Like 2) are responsible for constituting oxidative equilibrium (Özkan and Kutlu, 2020). *PTGS2* is triggered mainly by the activation of the inflammatory pathway and leads to ROS production (Onodera et al., 2015). *NRF2*, other vigorous responsive gene, has essential roles in response as an antioxidant regulator. MDA, a crucial indicator of lipid peroxidation, is a significant parameter that shows the oxidative status (Yang et al., 2014).

The use of laboratory animals, typically rats, as a model is substantial and advantageous in understanding molecular and biological processes of nutrition-related physiology. Although many studies have been reached about the effects of FR on metabolic organs in the literature, limited study at the molecular level has been found about the oxidative status of testis tissue. Restriction in the diet by 50% reduces the amount of calories available and provides minimum micronutrient requirements in adult rats without causing malnutrition (Smyers et al., 2015). This study aimed to investigate the oxidative effects of food restriction for four weeks to testis tissue at the molecular levels. For this aim, in addition to MDA levels, *PTGS2* and *NRF2* genes expression levels were determined. Relationships between these parameters in testis were also analyzed.

## Materials and Methods

### Animals and dietary experiments

The study was ethically approved by the Animal Experiments Local Ethics Committee of Hatay Mustafa Kemal University (Decision no: 2021/04-02). In the study, 16 male Wistar albino rats were divided into two groups and fed with two different diets for four weeks. The rats weighed 200-250 g and were eight weeks old. Animals were housed individually in transparent polycarbonate cages throughout the feeding period. In addition, a standard light procedure was applied (12 hours daylight/12 hours dark). Before the feeding period, the daily food consumption of the rats

during the one-week acclimatization period was recorded and the average daily consumed amount of food was calculated ( $30.04 \pm 2.2$  g/rat/day). While the first group was control (Cont) and consumed commercial food (Bil-Yem Ankara) and water ad libitum, the second was food-restricted group (FR). The Cont group was provided approximately 7 g/day of crude protein and 80 kcal/day. The FR group was provided with about half of the food daily recorded consumption of rats in Cont group, and water was presented as *ad libitum* (Gardner et al., 2010; Smyers et al., 2015). These amounts meet the daily energy and protein requirements recommended by the NRC for rats (NRC, 1995). The ingredients of standard food are presented in Table 1.

At the end of the feeding period, the rats were applied overnight fasting and euthanized by cardiac blood sampling under anesthesia (80 mg/kg Ketamine and 12 mg/kg Xylazine, IP). Following the euthanasia, the right testis tissues were quickly collected and snap-frozen in liquid nitrogen. Frozen samples were stored at  $-86$  °C until the execution of the molecular experiments and MDA analysis.

### RNA isolation and cDNA synthesis

Total RNA isolation was performed on samples according to instructions of the producer of Trizol Reagent (Thermo Fisher Scientific, Cat No: 15596026, USA). Approximately 50 mg tissue was homogenized in 1 mL Trizol Reagent. Following the isolation, pellets of RNA were dried for 10 min at room temperature and dissolved with nuclease-free water (NFW) by pipetting. While purity and concentration of samples were checked with a nucleic acid spectrophotometer (Merinton, SMA-1000 UV Spectrophotometer, China), RNA integrity was evaluated by checking 28S and 18S rRNA units on 1% agarose gel stained by Red Safe (Intone Biotechnology, Cat No: 21141, Korea).

Following the RNA isolation, possible genomic DNA contamination in samples was eliminated with DNase treatment (DNase I, RNase free, Thermo Fisher Scientific, Cat no: EN0525, USA). Then, cDNA synthesis was applied to samples with a commercial reverse transcription kit (High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit, Thermo Fisher Scientific, Cat No: 4368814, USA), and one  $\mu$ g total RNA was used. Protocol in thermal cycler (Bio-Rad T100, USA) was as follows: Following the 60 min at 42 °C, samples were kept at 25 °C for 5 min and 70 °C for 5 min, respectively. After the reaction, all samples were completed to 200  $\mu$ L with NFW and stored at  $-20$  °C until gene expression analyzes.

### RT-qPCR application

*PTGS2* and *NRF2* genes expression levels were determined by RT-qPCR (Rotor-Gene Q, Qiagen,



**Table 1.** Ingredients and nutrient composition of food

	Ingredient (%)
Corn maize	29.00
Full-fat soybean	28.00
Sunflower seed meal	7.00
Wheat middling	13.00
Alfalfa meal	14.00
Meat bone meal	4.00
Molasses	1.75
Limestone	2.00
Dicalcium phosphate	0.50
NaCl	0.50
Vitamin-mineral premixes	0.25
<b>Nutrient composition (calculated)</b>	
Metabolic Energy (kcal/kg)	2600.00
Dry Matter (%)	88.40
Crude Protein (%)	22.50
Crude Cellulose (%)	8.10
Fat (%)	3.15
Carbohydrate (%)	54.72
Insoluble ash in HCl (%)	1.05
Ca (%)	1.30
P (%)	0.80

Germany) using SYBR Green Dye containing kit (Power SYBR® Green PCR Master, Thermo Fisher Scientific, Cat no: 4367659, USA). RT-qPCR protocol was as follows: Following the 10 min at 95 °C, 95 °C for 10 sec, 60 °C for 60 sec, and 40 cycles. Samples were studied as duplicates and primers of genes used for amplification were presented in Table 2. *GAPDH* (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) was used as a housekeeping gene for fold change calculations.

#### Determination of MDA levels

MDA analysis was applied using about 5 g of testis tissues. Samples were diluted ten times with Phosphate-buffered Saline (PBS) and homogenized under cold and sterile conditions. After that, samples were centrifuged at +4 °C for 10 min at 3000 xg. The supernatants were transferred to new sterile 1.5 mL volume tubes and levels of MDA were determined spectrophotometrically at 532 nm wavelength according to the reported method of Wasowicz et al. (1993). In addition, total protein levels of supernatants were evaluated according to the Lowry method, and the levels of MDA were calculated as nmol/mg protein (Lowry 1951). MDA and protein levels were measured by spectrophotometer (Evolution 160 UV-VIS v8.01 Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific, USA)

#### Statistical analysis

Stata 12/MP4 (License No: 50120500264) was used to analyze the data. Before performing the statistical

analysis, data were examined for normality with Shapiro-Wilk test. In addition, homogeneity of variances was examined with Levene test as parametric test assumptions. Independent sample t test was used to evaluate the differences between groups for MDA. In addition, the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method was used to calculate expression levels of target genes. The correlation between studied parameters was determined by Spearman's Rho, and  $P < 0.05$  was considered as significant in all analyzes.

#### Results

The concentration and purity (A260/A280 ratio) of RNA samples were  $156.16 \pm 40.32$  ng/ $\mu$ L and  $1.89 \pm 0.01$ , respectively. In addition, expression levels of *PTGS2* and *NRF2* genes were similar between Cont and FR groups. In addition, there were no significant differences between the groups in terms of MDA levels of about two nmol/mg protein in both groups (Figure 1).

According to correlation analysis, *PTGS2* and *NRF2* gene expression levels were significantly correlated ( $r=0.629$ ;  $P < 0.05$ ). On the other hand, there were no significant relationships between MDA and *PTGS2* and *NRF2* (Table 3).

#### Discussion and Conclusion

In addition to genetic background, environmental factors significantly affect maintaining healthy life. Nutrition and dietary ingredients are some of the significant environmental factors for the physiological

**Table 2.** Forward and reverse primer sequences of genes

Genes	Forward and Reverse Sequences	Product L.	References
<b>GAPDH</b>	F: 5'-AGTGCCAGCCTCGTCTCATA-3' R: 5'-TCCCGTTGATGACCAGCTTC-3'	241	Guvenc et al., 2019
<b>PTGS2</b>	F: 5'-TGTATGCTACCATCTGGCTTCGG-3' R: 5'-GTTTGGAACAGTCGCTCGTCATC-3'	94	Guvenc et al., 2019
<b>NRF2</b>	F: 5'-TTGTAGATGACCATGAGTCGC-3' R: 5'-TGTCCTGCTGTATGCTGCTT-3'	141	Guvenc et al., 2019

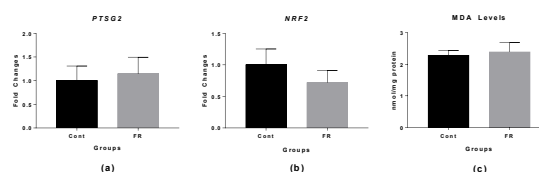
**Product L:** Product Length

processes of the organism (Özkan and Yakan, 2019). Dietary regulation is frequently used to prevent metabolic diseases such as obesity and its complications and in the treatment processes of these diseases. Also, nutrition is often taken under control in delaying aging processes. Moreover, FR is one of the most common practices for these purposes (Hamden et al., 2008; Mladenovic Djordjevic et al., 2021).

It has been reported that FR significantly affects the immune response and the activities of antioxidant parameters in the organism (Mortazavi et al., 2014). In addition, long-term food and calorie restriction have positive effects on oxidative damages in various tissues and organs (Bruss et al., 2010; Filaire et al., 2009). On the other hand, the positive effects of food restriction are strongly related to some parameters such as degree of restriction and time. A study has reported that only a two-week calorie restriction led to a decrease in hydrogen peroxide levels in skeletal muscle (Harper et al., 2004).

Responses of the tissues are different from FR. The effects of food restriction on the liver and other metabolic organs have mainly been studied (Filarie et al., 2009; Hamden et al., 2008). On the other hand, there is limited information about the oxidative status of testis in food-restricted conditions at the molecular level. In this study, the feeding period has been maintained for four weeks, and at the end of the period, the gene expression levels of *PTGS2* and *NRF2* in groups have been found similar. *PTGS2* has been reported to increase with increased oxidative stress in the aging process in testis tissue (Wang et al., 2005). On the other hand, it has been reported in another study that *PTGS2* showed similar expression patterns by food restriction for nine weeks in rat testis at different environmental temperature conditions (Bozkaya et al., 2017). The possible reason for similar *PTGS2* expression levels has been thought to be the time and restriction ratio of our study.

*NRF2* is a crucial transcription factor in response to oxidative stress for maintaining homeostasis (Yang et al., 2018). This transcription factor triggers many genes expression levels, such as HO-1 and NQO1 (Ross and Siegel, 2017). In addition to function on oxidative status, it has a virtual role on cellular pathways such as autophagy, apoptosis, and cell prolifer-

**Figure 1.** Gene expression results and MDA levels in groups.

ation (Özkan and Kutlu, 2020). Therefore, the determination of *NRF2* activity is essential to investigate the effects of calorie restriction on testis tissue. While there have similar expression patterns in terms of *NRF2* determined between the groups, a remarkable and positive correlation has been determined between *PTGS2* and *NRF2* gene expression levels in testis tissue. The specific correlation results have shown that the antioxidant mechanism of testis tissue is provided by effective co-regulation of these genes.

The oxidative damage in testis tissue is crucial for maintaining normal physiology. The MDA levels have shown that consuming different diets for four weeks has no increasing oxidative effects on the testis. As is well known, MDA levels are measured to determine lipid peroxidation levels in various tissues and biological fluids (Özkan and Kutlu, 2020). In a study, MDA levels in plasma were reported to decrease in 8 days food-restricted rats (Filaire et al., 2009). On the other hand, it was reported that there were no significant change in terms of MDA levels in skeletal muscle and liver. In a study conducted on Sprague-Dawley rats, similar MDA levels in testis have been reported after 20% food restriction for two weeks (Jayroe et al., 2012). The possible reasons for these results are the feeding period and restriction rate.

MDA levels may increase in response to *PTGS2* activity, which is involved in pathways such as the inflammation pathway for possible oxidative stress (Özkan and Kutlu, 2020). *NRF2* is the significant regulator for response to oxidative stress. In conclusion, it has been understood that the relationship between *PTGS2* and *NRF2* is essential in maintaining the oxidative balance in the testis tissue. Although it has been reported that food restriction suppresses oxidative stress that may occur in various tissues and or-

**Table 3.** Correlations between studied parameters

Parameters	PTGS2	NRF2	MDA
PTGS2	-	0.629*	0.070
NRF2	-	-	0.380
MDA	-	-	-

\*:  $P < 0.05$ 

gans, more studies are needed to investigate the effects of diets with different calorie content on testis.

### References

- Ajuogu PK, Al-Aqbi MA, Hart RA, Wolden M, Smart NA, McFarlane JR. The effect of dietary protein intake on factors associated with male infertility: A systematic literature review and meta-analysis of animal clinical trials in rats. *Nutr Health* 2020; 26 (1): 53-64.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Roberts K, Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. Fourth Edition. New York: Garland Science, 2002; p. 2568
- Bozkaya F, Atli MO, Guzeloglu A, Kayis SA, Yildirim ME, Kurar E, Yilmaz R, Aydilek N. Effects of long-term heat stress and dietary restriction on the expression of genes of steroidogenic pathway and small heat-shock proteins in rat testicular tissue. *Andrologia* 2017; 49(6): e12668.
- Bruss MD, Khambatta CF, Ruby MA, Aggarwal I, Hellerstein MK. Calorie restriction increases fatty acid synthesis and whole body fat oxidation rates. *Am J Physiol Metab* 2010; 298(1): 108-16.
- Filaire E, Rouveix M, Massart A, Gladine C, Davicco MJ, Durand D. Lipid peroxidation and antioxidant status in rat: effect of food restriction and wheel running. *Eur J Appl Physiol* 2009; 107(2): 243-50.
- Gardner CD, Kim S, Bersamin A, Dopler-Nelson M, Otten J, Oelrich B, Cherin R. Micronutrient quality of weight-loss diets that focus on macronutrients: results from the A TO Z study. *Am J Clin Nutr* 2010; 92(2): 304-12.
- Güvenç M, Cellat M, Özkan H, Tekeli İO, Uyar A, Gökçek İ, İşler CT, Yakan A. Protective effects of tyrosol against DSS-induced ulcerative colitis in rats. *Inflammation* 2019; 42(5): 1680-91.
- Hamden K, Silandre D, Delalande C, ElFeki A, Carreau S. Protective effects of estrogens and caloric restriction during aging on various rat testis parameters. *Asian J Androl* 2008; 10(6): 837-45.
- Harper M, Bevilacqua L, Hagopian K, Weindruch R, Ramsey JJ. Ageing, oxidative stress, and mitochondrial uncoupling. *Acta Physiol Scand* 2004; 182(4): 321-31.
- Ichikawa M, Fujita Y, Ebisawa H, Ozeki T. Effects of long-term, light exercise under restricted feeding on age-related changes in physiological and metabolic variables in male Wistar rats. *Mech Ageing Dev* 2000; 113(1): 23-35.
- Jayroe J, Soulsby M, Chowdhury P. Attenuation of tissue oxidative stress by dietary restriction in rats on simulated microgravity. *Ann Clin Lab Sci* 2012; 42(2): 140-4.
- Kim JD, McCarter RJM, Yu BP. Influence of age, exercise, and dietary restriction on oxidative stress in rats. *Aging Clin Exp Res* 1996; 8(2): 123-9.
- Li Yinlam, Zhang L, Zheng X, Qian J, Li Yanquan, Xie C, Zhang X, Zhou Y, Huang H. Dietary restriction and/or exercise training impairs spermatogenesis in normal rats. *Appl Physiol Nutr Metab* 2021; 46(3): 229-37.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-75.
- Mladenovic Djordjevic A, Loncarevic-Vasiljkovic N, Gonos ES. Dietary restriction and oxidative stress: Friends or enemies? *Antioxid Redox Signal* 2021; 34(5): 421-38.
- Mortazavi M, Salehi I, Alizadeh Z, Vahabian M, Roushandeh AM. Protective effects of antioxidants on sperm parameters and seminiferous tubules epithelium in high fat-fed rats. *J Reprod Infertil* 2014; 15(1): 22.
- Moszak M, Szulińska M, Bogdański P. You are what you eat-the relationship between diet, microbiota, and metabolic disorders-A review. *Nutrients* 2020; 12(4): 1096.
- NRC. *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*. Fourth Revised Edition. Washington (DC): National Academies Press (US) 1995; 11-58.
- Onodera Y, Teramura T, Takehara T, Shigi K, Fukuda K. Reactive oxygen species induce PTGS2 expression via TAK1 activation in synovial fibroblast cells. *FEBS Open Bio* 2015; 5: 492-501.
- Özkan H, Kutlu T. The relationship of fructose consumption with MDA levels in rat liver and its effect on the expression levels of PTGS2 and NRF-2

- genes. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2020; 67(4): 387-92.
- Özkan H, Yakan A. Dietary high calories from sunflower oil, sucrose and fructose sources alters lipogenic genes expression levels in liver and skeletal muscle in rats. *Ann Hepatol* 2019; 18(5): 715-24.
- Ross D, Siegel D. Functions of NQO1 in cellular protection and CoQ10 metabolism and its potential role as a redox sensitive molecular switch. *Front Physiol* 2017; 8: 1-10.
- Smyers ME, Bachir KZ, Britton SL, Koch LG, Novak CM. Physically active rats lose more weight during calorie restriction. *Physiol Behav* 2015; 139: 303-13.
- Wang X, Shen CL, Dyson MT, Eimerl S, Orly J, Hutson JC, Stocco DM. Cyclooxygenase-2 regulation of the age-related decline in testosterone biosynthesis. *Endocrinology* 2005; 146(10): 4202-8.
- Wasowicz W, Neve J, Peretz A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. *Clin Chem* 1993; 39(12): 2522-6.
- Yang J, Hou X, Gao A, Wang H. Effect of dietary energy and protein restriction followed by realimentation on pituitary mRNA expression of growth hormone and related genes in lambs. *Small Rumin Res* 2014; 119(1-3): 39-44.
- Yang SH, Yu LH, Li L, Guo Y, Zhang Y, Long M, Li P, He JB. Protective mechanism of sulforaphane on cadmium-induced sertoli cell injury in mice testis via Nrf2/ARE signaling pathway. *Molecules* 2018; 23(7): 1774.



### Retrospective Evaluation of Pathological Lesions of the Oral Cavity in Dogs

Hazal OZTURK-GURGEN<sup>1,a</sup>, Pembe Dilara KECICI<sup>2,b</sup>, Kivilcim SONMEZ<sup>1,c</sup>, Aydın GUREL<sup>1,d</sup>

<sup>1</sup>Istanbul University-Cerrahpaşa, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Istanbul-TURKEY,

<sup>2</sup>Istanbul University-Cerrahpaşa, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Breeding and Husbandry, Istanbul-TURKEY.

ORCID: <sup>a</sup>0000-0003-2748-6189; <sup>b</sup>0000-0003-1151-179X; <sup>c</sup>0000-0001-8256-9943; <sup>d</sup>0000-0002-0266-8771

**Corresponding author:** Hazal ÖZTÜRK GÜRGEN, hazal.ozturkgurgen@iuc.edu.tr

**How to Cite:** Ozturk-Gurgen H, Kecici PD, Sonmez K, Gurel A. Retrospective evaluation of pathological lesions of the oral cavity in dogs. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 129-135

**Abstract:** Oral neoplasms and non-neoplastic lesions are commonly encountered pathologies in dogs. The histopathological examination of these lesions is required to make a diagnosis and lead the practitioners to appropriate treatment. This study aims to retrospectively document pathological lesions commonly observed in the oral cavity of dogs. In this context, 167 oral pathology cases were investigated in dogs of different breeds, genders, and age groups in the years between 2010 and 2020. Oral pathologies were classified as neoplastic (benign and malignant neoplasms) and non-neoplastic lesions according to the histopathological features diagnosed by the hematoxylin and eosin staining method. The results showed that malign (46.10%; 77/167) and benign neoplasms (40.11%; 67/167) were predominant, but non-neoplastic lesions (13.77%; 23/167) were restricted. The most common malignant neoplasm was malignant melanoma (50.64%; 39/77), while odontogenic neoplasms were determined as the most common benign neoplasms (74.62%; 50/67). When the affected patient profiles were evaluated, the results showed that males were more prone to oral pathologies (M/F: 62.87%/35.32%; 105/59), mostly affected life stage was senior (79.48%; 31/39), and large pure breed dogs were the most commonly encountered dog breeds (49.10%; 82/167), followed by mixed breeds (19.76%; 33/167). These findings showed statistically significant differences by the chi-square test. In addition, the most common affected area in the oral cavity was found to be the gingiva (30.76%; 12/39). As a result, this study contributes to the knowledge about the most common oral pathologies in terms of gender, age, breed, and affected area.

**Keywords:** Canine, non-neoplastic lesions, oral neoplasms, prevalence

#### Köpeklerde Oral Kavitedeki Patolojik Lezyonlarının Retrospektif Değerlendirilmesi

**Öz:** Köpeklerde oral neoplaziler ve neoplastik olmayan lezyonlar sıklıkla karşılaşılan patolojilerdir. Bu lezyonların histopatolojik incelemesi tanı koymak ve klinisyen hekimleri uygun tedaviye yönlendirmek için gereklidir. Bu çalışmada, köpeklerin ağız boşluğunda yaygın olarak gözlenen patolojik lezyonları retrospektif olarak belgelemek amaçlandı. Bu kapsamda 2010-2020 yılları arasında farklı ırk, cinsiyet ve yaş gruplarındaki köpeklerde 167 oral patoloji vakası incelendi. Oral patolojiler hematoxylin ve eozin boyama yöntemi ile teşhis edilen histopatolojik özelliklere göre neoplastik (benign ve malign neoplazmalar) ve neoplastik olmayan lezyonlar olarak sınıflandırıldı. Bulgularda malign (%46.10; 77/167) ve iyi huylu neoplazmaların (%40.11; 67/167) baskın olduğu, ancak neoplastik olmayan lezyonların (%13.77; 23/167) kısıtlı olduğu tespit edildi. En sık görülen malign neoplazm, malign melanom (%50.64; 39/77) iken, odontojenik neoplazmlar en sık görülen benign neoplazmlar olarak belirlendi (%74.62; 50/67). Etkilenen hasta profilleri değerlendirildiğinde, erkeklerin oral patolojilere daha yatkın olduğunu (E/D: %62.87/%35.32; 105/59), en çok etkilenen yaşam evresinin ileri yaş (%79.48; 31/39) olduğu ve büyük safskan köpeklerin en sık rastlanan köpek ırkları (%49.10; 82/167) olduğu, bunu karma ırkların (%19.76; 33/167) izlediği tespit edildi. Bu bulgular ki-kare testi ile istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gösterdi. Ayrıca oral kavitede en sık etkilenen bölgenin dişeti olduğu (%30.76; 12/39) bulundu. Sonuç olarak, bu çalışma cinsiyet, yaş, cins ve etkilenen bölge açısından en sık görülen oral patolojiler hakkında literatür bilgisine katkı sağlamaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Köpek, neoplastik olmayan lezyonlar, oral neoplazmalar, prevalans

#### Introduction

Oral lesions are very common pathologies in dogs in routine clinical examinations. These lesions may occur depending on the dental diseases, infectious conditions, idiopathic inflammatory responses, mucosal

and cutaneous immune-mediated disorders, reactive lesions, or neoplasms (Lommer, 2013). Oral neoplasms in dogs constitute 5% of all canine neoplasms (Munday et al., 2017). Among them, malignant melanoma (MM) has been described as the most common oral malignancy (Bonfanti et al., 2015; Wingo, 2018; Mikiewicz et al., 2019). In benign neoplasms, odontogenic neoplasms take the first place, especially pe-

ripheral odontogenic fibroma (POF) (Wingo, 2018; Mikiewicz et al., 2019) or acanthomatous ameloblastoma (AA) (Bonfanti et al., 2015).

Regardless of the exact nature of the lesion, the clinical findings and macroscopic appearances of oral pathologies may be similar (Verhaert, 2010; Mikiewicz et al., 2019). The clinical signs are generally seen as halitosis, tooth mobility, exfoliation of teeth, bleeding, increase in salivation, and nasal discharge when maxilla is affected (Verhaert, 2010). Niemiec (2008) has stated that approximately 1% of lesions that appear benign on clinical examination may actually be neoplastic, whereas lesions that appear neoplastic may be benign. Therefore, histopathological examination is necessary for differential diagnosis of similar macroscopic entities and for definitive diagnosis of non-neoplastic lesions and neoplastic diseases (Verhaert, 2010).

The aim of this retrospective study is to provide reference for literature about the incidence of oral pathologies in Istanbul between the years of 2010 and 2020. For this purpose, histopathological and statistical analyses were used in dogs to evaluate different pathologies in different breeds, ages, sexes, and affected areas.

## Materials and Methods

### Sampling

A total of 167 oral biopsies were documented from the databases between the years of 2010 and 2020 from the Pathology Department of Veterinary Faculty. Since the study is retrospective, there is no need for an ethics committee approval. The samples were mostly obtained from small animal clinics of the faculty (143/167), and some private veterinary clinics (24/167). The biopsies were evaluated depending on genders, the life stages, breeds of the patients and the area of the lesions. The genders were categorized as male and female, no information about neutering was available. The life stages of the animals were subdivided as a puppy (0-6 m old), junior (7-12 m old), adult (13m-4 y old), mature (5-7 y old), senior (8-15 y old) and geriatric (>15 y old) (Creevy et al., 2019). For statistical evaluations, dog breeds were classified as mixed breeds (no data was given about kg for mixed breeds) and pure breeds; large (20-40 kg, including Great Dane), medium (10-20 kg), small (<10 kg).

### Histopathological investigation

The histopathological examinations were carried out on the hematoxylin and eosin (H&E) stained tissue sections by three different pathologists regarding the histopathological properties of each oral pathology, as described previously (Head et al., 2003; Uzal et al., 2016; Munday et al., 2017).

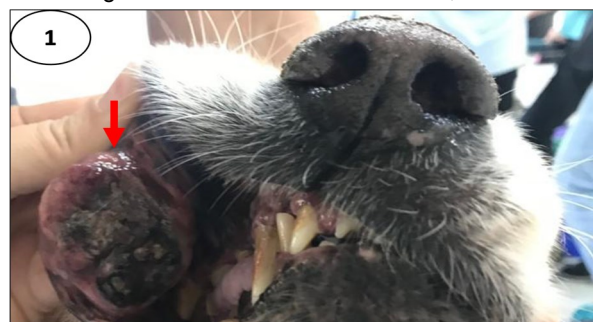
### Statistical analysis

A total of 167 oral biopsies were used in the study. However, 11 out of 167 cases had missing data and therefore statistical analysis was performed only in the remaining 156 out of 167 cases. The frequencies and percentage values of total lesions are given in Tables. SPSS Statistics version 21.0 (IBM, New York, USA) was used for statistical analyses of the study and the frequencies of the dogs' oral pathologies were compared in terms of the pathological lesion, gender, age, and breed using the Fisher's exact chi-square test ( $P < 0.001$ ). Significance level of the statistical analysis was accepted as  $P < 0.05$ .

### Results

The cases revealed total numbers of 77/167 (46.1%) malignant, 67/167 (40.1%) benign neoplasms and 23/167 (13.8%) non-neoplastic lesions, and these results showed statistically significant differences ( $P < 0.001$ ; Table 1). There were 105 (62.9%) males and 59 (35.3%) females. There was no available information on the genders for three patients (1.8%). Also, the most common life stage was senior (56.9%; 95/167). A total of 34 different dog breeds were observed in this study. Large pure breed dogs were the most commonly encountered dog breeds (49.1%; 82/167), followed by mixed breeds (19.8%; 33/167). Affected patient profiles showed significant differences for each gender, age scale, and breed group ( $P < 0.001$ , Table 1).

Malignant melanoma (Figure 1, Figure 2a) was determined as the most common malignancy (50.6%; 39/77) among all malignant neoplasms encountered in the study. A slightly higher prevalence was observed in Golden Retriever (23.1%; 9/39), as a large pure breed, compared to other breeds. Male dogs (64.1%; 25/39) were found more than females (33.3%; 13/39), and no gender information was available for one patient (2.6%; 1/39). Even though, the gender information was not available, the data of that dog was not excluded from the study. The affected mean age was determined to be 10.7, and senior

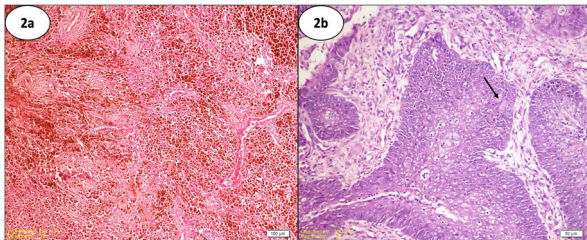


**Figure 1.** Malignant melanoma, buccal mucosa, Golden retriever, 15 y, male. A variably pigmented, irregular mass with soft consistency arising from the buccal mucosa is visible (red arrow).

**Table 1.** Frequency of canine oral pathologies according to the type of lesion, breed group, gender, and life stages in 156/167 patients

Factor	Number of cases	%	P value
<b>Type of lesion</b>			<0.001
<b>Malign Neoplasm</b>	73	46.8 <sup>a</sup>	
<b>Benign Neoplasm</b>	61	39.1 <sup>b</sup>	
<b>Non-neoplastic lesions</b>	22	14.1 <sup>c</sup>	
<b>Breed group</b>			<0.001
<b>Small</b>	17	10.9 <sup>c</sup>	
<b>Medium</b>	29	18.6 <sup>b,c</sup>	
<b>Large</b>	77	49.4 <sup>a</sup>	
<b>Mixed</b>	33	21.2 <sup>b</sup>	
<b>Gender</b>			<0.001
<b>Male</b>	102	65.4 <sup>a</sup>	
<b>Female</b>	54	34.6 <sup>b</sup>	
<b>Life stages</b>			<0.001
<b>Puppy</b>	2	1.3 <sup>d</sup>	
<b>Junior</b>	5	3.2 <sup>d</sup>	
<b>Adult</b>	18	11.5 <sup>c</sup>	
<b>Mature</b>	35	22.4 <sup>b</sup>	
<b>Senior</b>	93	59.6 <sup>a</sup>	
<b>Geriatric</b>	3	1.9 <sup>d</sup>	

<sup>a,b,c</sup> Values within a row with different superscripts differ significantly at  $P < 0.001$ .



**Figure 2a.** Malignant melanoma, gingiva, Cocker Spaniel, 17 y, male. Numerous neoplastic cells containing high amount of melanin pigments (Bar:100  $\mu$ m). **2b.** Oral squamous cell carcinoma, gingiva, mixed breed, 6 y, female. Islands of neoplastic squamous cells with inflammatory reaction, arrow shows a small area of keratinization (Bar: 50  $\mu$ m).

dogs showed a predominantly higher prevalence for the affected life stage (79.5%; 31/39). The most frequently affected site in the oral cavity was detected as the gingiva (30.8%; 12/39) (Table 2).

The second most common malignant neoplasm was oral squamous cell carcinoma (OSCC) (Figure 2b) (13%; 10/77) with the higher incidence in the senior life stage (60%; 6/10). No predisposed breed was determined for this malignancy. Genders were found equally affected (males and females: 50%; 5/10). Other malignancies were mast cell tumors (2.6%; 2/77), malignant lymphoma (2.6%; 2/77), and malignant mesenchymal neoplasms, which were composed of undifferentiated sarcoma (9.1%; 7/77), osteosarcoma (7.8%; 6/77), and fibrosarcoma (7.8%; 6/77). The remaining single cases were undifferenti-

ated round cell tumor (1.3; 1/77), undifferentiated carcinoma (1.3%; 1/77), malignant fibrous histiocytoma (1.3%; 1/77), transmissible venereal tumor (1.3%; 1/77), and hemangiosarcoma (1.3%; 1/77). Detailed data regarding the number of cases, patient profiles and commonly affected areas for malignant neoplasms are described in Table 2.

Benign neoplasms were predominantly composed of the odontogenic tumors (74.6%; 50/67) consistent with POF in the first line (46.3%; 31/67) (Figure 3, Figure 4a) and AA (26.9%; 18/67) (Figure 4b) in the second line. The most common breeds affected by odontogenic tumors were Golden retrievers and mixed breeds (both: 22%; 11/50). POF was observed more frequently in male patients (71%; 22/31) than females (25.8%; 8/31), and no gender information was available for one patient (3.2%; 1/31). Female patients were observed slightly more than males in AA (male: 44.4%; 8/18 / female: 55.5%; 10/18). The most affected life stage in POF was the mature stage (48.4%; 15/31), and in AA was the senior stage (61.1%; 11/18) (Table 3).

Oral papilloma was found to be the third most common benign tumor (17.9%; 12/67) following POF and AA, respectively. No breed predisposition for oral papilloma was observed. Male dogs (75%; 9/12) appeared slightly more than females (25%; 3/12). The most affected life stage was the adult stage (33.3%; 4/12). Other benign neoplasms were extramedullary plasmacytoma (6%; 4/67), fibroma (1.5%; 1/67), and cementoma (1.5%; 1/67), as another type of odontogenic tumor. Detailed data regarding the number of

**Table 2.** Detailed information for malignant neoplasms seen in oral cavity

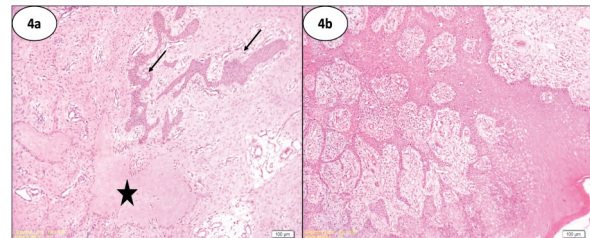
Malign Neoplasms	NC (%)	CALS	MA (Year)	PB	CAL	♂	♀	UG
MM	39 (23.4%)	Senior	10.7	Golden Retriever	Gingiva	25	14	-
OSCC	10 (6%)	Senior	7.7	NA	Non-tonsillar areas	5	5	-
US	7 (4.1%)	Senior	8.42	Rottweiler	Mandible and palate	2	5	-
OS	6 (3.6%)	Senior	9.16	NA	Maxilla	4	2	-
FS	6 (3.6%)	NA	10	NA	Oral mucosa	3	3	-
MCT	2 (1.2%)	NA	11.5	NA	Lip mucosa	1	1	-
ML	2 (1.2%)	Senior	9	NA	NA	1	-	1
URCT	1 (0.6%)	Senior	12	Mixed breed	Gingiva	-	1	-
UC	1 (0.6%)	Senior	13	Belgian Shepherd	Pharynx	1	-	-
MFH	1 (0.6%)	Adult	3	Golden Retriever	Mandible	1	-	-
TVT	1 (0.6%)	Junior	1	Golden Retriever	Gingiva	1	-	-
HES	1 (0.6%)	NA	NA	Labrador Retriever	Gingiva	1	-	-

NC: Number of cases; %: The percentage value of total lesions; CALS: Commonly affected life stage; MA: Mean age; PB: Predominant breed; CAL: Commonly affected localization; G: Gender; MM: Malignant melanoma; OSCC: Oral squamous cell carcinoma; US: Undifferentiated sarcoma; OS: Osteosarcoma; FS: Fibrosarcoma; MCT: Mast cell tumor; ML: Malignant lymphoma; URCT: Undifferentiated round cell tumor; UC: undifferentiated carcinoma; MFH: Malignant Fibrous Histiocytoma; TVT: Transmissible venereal tumor; HES: Hemangiosarcoma; NA: Not applicable; ♂: Male; ♀: Female; UG: Unknown gender.



**Figure 3.** Peripheral odontogenic fibroma, gingiva, Golden Retriever, 10 y, female. A sessile, round, pink mass having hard consistency with crepitation during cutting is located at the level of the 3<sup>rd</sup> premolar tooth in the maxilla (red arrow).

cases, patient profiles and commonly affected areas for benign neoplasms are given in Table 3.



**Figure 4a.** Peripheral odontogenic fibroma, gingiva, Dogo Argentino, 7 y, female. Arrows show odontogenic epithelial islands, and star indicates an area of osseous metaplasia (Bar: 100 µm). **4b.** Acanthomatous ameloblastoma, gingiva, mixed breed, 3 y, male. Significant epithelial growth of the gingival mucosa with the prominent intercellular bridges (Bar: 100 µm).

Non-neoplastic lesions were seen in 23 patients, except for those accompanying most neoplastic cases. Non-neoplastic lesions included inflammatory lesions (52.2%; 12/23), reactive lesions (52.2%; 9/23), and single cases of leukoplakia (4.3%; 1/23), and odontogenic cyst (4.3%; 1/23). Detailed data regarding the number of cases, patient profiles and commonly affected areas for non-neoplastic lesions are described in Table 4.



**Table 3.** Detailed information for benign neoplasms seen in oral cavity

Benign Tumors	NC (%)	CALS	MA (Year)	PB	CAL	♂	♀	UG
POF	31 (18.6%)	Mature/ Senior	7.78	Golden Retriever	Gingiva	22	8	1
AA	18 (10.8%)	Senior	7.97	Mixed Breed	Gingiva	8	10	-
Papilloma	12 (7.2%)	Adult	5.2	NA	Oral mucosa	9	3	-
EP	4 (2.4%)	Senior	10.75	Cocker Spaniel	NA	4	0	-
Fibroma	1 (0.6%)	NA	NA	Anatolian Shepherd	Lip mucosa	-	1	-
Cemento- ma	1 (0.6%)	NA	NA	Dachshund	Gingiva	1	-	-

NC: Number of cases; %: The percentage value of total lesions; CALS: Commonly affected life stage; MA: Mean age; PB: Predominant breed; CAL: Commonly affected localization; G: Gender; POF: Peripheral odontogenic fibroma; AA: Acanthomatous ameloblastoma; EP: Extramedullary plasmacytoma; NA: Not applicable; ♂ : Male; ♀ : Female; UG: Unknown gender.

**Table 4.** Detailed information for non-neoplastic lesions seen in oral cavity

Non-Neoplastic Lesions	NC (%)	CALS	MA (Year)	PB	CAL	♂	♀	UG
Inflammatory lesions	12 (7.2%)	Senior	8.58	Mixed Breed	Gingiva	8	4	-
Reactive Lesions	9 (5.4%)	Mature	6.63	Terrier	Gingiva	7	2	-
Leukoplakia	1 (0.6%)	Adult	5.66	Kangal Shepherd	Tongue	-	1	-
Odontogenic cyst	1 (0.6%)	Mature	6	Golden Retriever	Gingiva	1	-	-

NC: Number of cases; %: The percentage value of total lesions; CALS: Commonly affected life stage; MA: Mean age; PB: Predominant breed; CAL: Commonly affected localization; G: Gender; ♂ : Male; ♀ : Female; UG: Unknown gender.

## Discussion and Conclusion

This retrospective study presents statistical analysis for the most frequently encountered oral pathologies in the years between 2010 and 2020. The results of the study showed that oral neoplastic lesions constituted a large part of the oral pathologies as indicated in other studies (Vural et al., 2007; Bonfanti et al., 2015; Wingo, 2018; Mikiewicz et al., 2019). But, non-neoplastic lesions constituted a small percentage of all cases. In this study, large pure breeds were the most commonly affected breeds, which was not compatible with the other studies (Wingo, 2018; Mikiewicz et al., 2019; Cray et al., 2020). Male patients were determined almost twice as much compared to female ones, although no specific gender predisposition has been reported previously (Wingo, 2018; Mikiewicz et al., 2019). The affected mean age was found to be 8.5 years, consistent with the other studies (Svendenius and Warfvinge, 2010; Verhaert, 2010; Bonfanti et al., 2015; Wingo, 2018; Mikiewicz et al., 2019; Cray et al., 2020). The most common

affected area was determined to be gingiva, which was also compatible with the literature (Cray et al., 2020).

Malignant neoplasms represented the largest part of the study as described in other studies (Wingo, 2018; Mikiewicz et al., 2019). Among them, MM was the most common malignancy, which is considered to be an extremely malignant neoplasm characterized by rapid growth, local invasiveness, and high metastatic propensity (Goldschmidt, 1985; Bergman, 2007; Mikiewicz et al., 2019). Although MM is especially seen in older dogs (Goldschmidt, 1985; Svendenius and Warfvinge, 2010; Bergman, 2007; Mikiewicz et al., 2019), it can also occur in younger ones (Mikiewicz et al., 2019). Gingiva of the caudal maxilla has been reported as more predisposed localization (Putnová et al., 2020). Commonly affected dog breeds have been reported as Cocker Spaniels, Dachshunds, Golden Retrievers, Scottish Terriers, and Poodles (Goldschmidt, 1985; Yoshida et al.,

1999). In the present study, Golden Retrievers were slightly more common than the other dog breeds, which were followed by mixed breeds. There was a slightly greater tendency for male dogs, in contrast to a former study (Ramos-Vara et al., 2000).

The second most common oral malignancy in this study was OSCC, which is considered to be the most common first (Brønden et al., 2009; Wingo, 2018) or second (Verhaert, 2010; Munday et al., 2017; Mikiewicz et al., 2019) oral neoplasm in dogs. In this study, OSCC was commonly observed in older dogs, as previously stated (Munday et al., 2017). This malignancy frequently is assessed as a tonsillar or non-tonsillar SCC (Munday et al., 2017). The neoplasm shows high invasiveness, but the metastatic rate varies depending on the affected area. The tonsillar SCC tends to metastasize in comparison to the non-tonsillar SCC (Vos and Van der Gaag, 1987). In this retrospective study, the most commonly affected area was found as gingiva. Besides the characteristic histopathological properties of OSCC (Munday et al., 2017), the neoplasia was characterized by high invasiveness, bone lysis, and ulceration.

The next most common malignant neoplasms were derived from mesenchymal origin. Generally, fibrosarcoma is presented as the most frequent malign mesenchymal neoplasm for the oral cavity (Vos and Van der Gaag, 1987; Munday et al., 2017; Mikiewicz et al., 2019). In contrast, osteosarcoma and fibrosarcoma were found equal in number in this study, and undifferentiated sarcoma was slightly more than them.

Benign neoplasms constituted a prominent part of the study. Among them, odontogenic neoplasms were the most common benign neoplasms of the oral cavity. Both POF (Mikiewicz et al., 2019) and AA (Fiani et al., 2011) have been described as the most common benign neoplasms in dogs. These two neoplasms arise from different parts of the gingiva. While AA derives from the epithelial cell rests of Malassez, the reduced enamel epithelium, or from the basal epithelial cells of the oral mucosa (Poulet et al., 1992; Fulton et al., 2014), POF arises from the periodontal ligament and refers to the mesenchymal origin (Verhaert, 2010). However, their clinical appearances are hardly distinguished from each other, hyperplastic lesions or other malignant neoplasms arising from the gingiva (Munday et al., 2017). Unlike the benign nature of POF, AA is locally invasive and destructive, resulting in lysis of alveolar bone, and loss of teeth. Therefore these features should be differentiated from OSCC (Liptak and Withrow, 2013). The present study showed that POF was the first, and AA the second most common benign neoplasm. Although Boxers are overrepresented as a predisposed breed (Vos and Van der Gaag, 1987), the mixed breed was found to be the most affected breed in this study. The

most commonly encountered life stage was consistent with the previously reported information (Yoshida et al., 1999; Fiani et al., 2011).

Canine oral papilloma is considered a common benign neoplasm of juvenile (Lange and Favrot, 2011), and immunosuppressed dogs (Sundberg et al., 1994). It has been stated that the exact information about the prevalence of the disease remains unknown since very few of the dogs receive treatment and therefore most are not registered (Munday et al., 2017). In this study, oral papilloma was the third most common benign neoplasm. Unlike other studies, not only young patients but also seniors were affected by the disease resulting in increased mean age.

Non-neoplastic lesions were found less than neoplastic lesions in this study, and the reactive lesions were found less than in other studies (Bonfanti et al., 2015; Mikiewicz et al., 2019).

In conclusion, this retrospective study statistically shows the prevalence of the patient profiles, and commonly affected areas for the oral pathologies in order to make an accurate clinical assessment, and also indicates the importance of histopathology for the differential diagnosis.

## References

- Bergman PJ. Canine oral melanoma. *Clin Tech Small Anim Pract* 2007; 22(2): 55-60.
- Bonfanti U, Bertazzolo W, Gracis M, Roccabianca P, Romanelli G, Palermo G, Zini E. Diagnostic value of cytological analysis of tumours and tumour-like lesions of the oral cavity in dogs and cats: A prospective study on 114 cases. *Vet J* 2015; 205(2): 322-7.
- Brønden LB, Eriksen T, Kristensen AT. Oral malignant melanomas and other head and neck neoplasms in Danish dogs-data from the Danish Veterinary Cancer Registry. *Acta Vet Scand* 2009; 51(1): 1-6.
- Cray M, Selmic LE, Ruple A. Demographics of dogs and cats with oral tumors presenting to teaching hospitals: 1996-2017. *J Vet Sci* 2020; 21: 5.
- Creevy KE, Grady J, Little SE, Little SE, Moore GE, Strickler BG, Thompson S, Webb JA. 2019 AAHA canine life stage guidelines. *J Am Anim Hosp Assoc* 2019; 55(6): 267-90.
- Fiani N, Verstraete FJ, Kass PH, Cox DP. Clinicopathologic characterization of odontogenic tumors and focal fibrous hyperplasia in dogs: 152 cases (1995-2005). *J Am Vet Med Assoc* 2011; 238(4): 495-500.
- Fulton A, Arzi B, Murphy B, Naydan DK, Verstraete

- F.J. The expression of calretinin and cytokeratins in canine acanthomatous ameloblastoma and oral squamous cell carcinoma. *Vet Comp Oncol* 2014; 12(4): 258-65.
- Goldschmidt MH. Benign and malignant melanocytic neoplasms of domestic animals. *Am J Dermatopathol* 1985;7: 203-12.
- Head KW, Cullen JM, Dubielzig RR, Else WR, Misdrop W, Patnaik AK, Tateyama S, Van der Gaag I. Histological classification of tumors of the alimentary system in domestic animals. In: WHO International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology. Second Edition. Washington: World Health Organization, 2003; pp. 29-57.
- Lange CE, Favrot C. Canine papillomaviruses. *Vet Clin Small Anim* 2011; 41(6): 1183-95.
- Liptak JM, Withrow SJ. Oral tumours. Withrow SJ, Vail DM. eds. In: *Withrow & Mac Ewen's Small Animal Clinical Oncology*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2013; pp. 381-98.
- Lommer MJ. Oral inflammation in small animals. *Vet Clin Small Anim* 2013; 43(3): 555-71.
- Mikiewicz M, Paździor-Czapula K, Gesek M, Lemishevskiy V, Otrocka-Domagala I. Canine and feline oral cavity tumours and tumour-like lesions: a retrospective study of 486 cases (2015-2017). *J Comp Pathol* 2019; 172: 80-7.
- Munday JS, Löhr CV, Kiupel M. Tumors of the alimentary tract. Meuten DJ. ed. In: *Tumors in Domestic Animals*. Iowa: John Wiley & Sons, Inc. Ames, 2017; pp.500-43.
- Niemiec BA. Oral pathologies. *Top Companion Anim Med* 2008; 23(2): 59-71.
- Poulet FM, Valentine BA, Summers BA. A survey of epithelial odontogenic tumors and cysts in dogs and cats. *Vet Pathol* 1992; 29(5): 369-80.
- Putnová B, Burová J, Georgiou M, Fichtel T, Stehlík L, Frgelecová L, Škorič M. Occurrence site of canine oral lesions: a retrospective study of 659 cases. *Acta Vet Brno* 2020; 89(2): 179-87.
- Ramos-Vara JA, Beissenherz ME, Miller MA, Johnson GC, Pace LW, Fard A, Kottler SJ. Retrospective study of 338 canine oral melanomas with clinical, histologic, and immunohistochemical review of 129 cases. *Vet Pathol* 2000; 37(6): 597-608.
- Sundberg JP, Smith EK, Herron AJ, Jenson AB, Burk RD, Van Ranst M. Involvement of canine oral papillomavirus in generalized oral and cutaneous verrucosis in a Chinese Shar Pei dog. *Vet Pathol* 1994; 31(2): 183-7.
- Svendenius L, Warfvinge G. Oral pathology in Swedish dogs: A retrospective study of 280 biopsies. *J Vet Dent* 2010; 27(2): 91-7.
- Uzal FA, Plattner BL, Hostetter JM. Alimentary system. Maxie M. ed. In: *Jubb, Kennedy, and Palmers' Pathology of Domestic Animals*. Missouri: Elsevier, 2016; pp. 2-28.
- Verhaert L. Oral proliferative lesions in the dog and cat. *Eur J Companion Anim Pract* 2010; 20(3): 1-3.
- Vos JH, Van der Gaag I. Canine and feline oral-pharyngeal tumours. *J Vet MedA* 1987; 34(1-10): 420-7.
- Vural SA, Keleş H, Özsoy ŞY, Özkul IA. Köpek ve kedilerde 1977-2005 yılları arasında saptanan orofaringeal bölge tümörleri: Retrospektif çalışma. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2007; 54(3): 197-203.
- Wingo K. Histopathologic diagnoses from biopsies of the oral cavity in 403 dogs and 73 cats. *J Vent Dent* 2018; 35(1): 7-17.
- Yoshida K, Yanai T, Iwasaki T, Sakai H, Ohta J, Kati S, Mikami T, Lackner AA, Masegi T. Clinicopathological study of canine oral epulides. *J Vet Sci* 1999; 61(8): 897-902.





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

Araştırma Makalesi / Research Article  
19(2), 136-144, 2022  
DOI: 10.32707/ercivet.1142616

### Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi (EÜVFD)'nin Bibliyometrik Analizi

Savaş SARIÖZKAN<sup>1,a</sup>, Güven GÜNGÖR<sup>2,b</sup>, Mehmet KÜÇÜKOFLAZ<sup>1,c</sup>

<sup>1</sup>Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyometri Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE  
ORCID: <sup>a</sup>0000-0003-2491-5152; <sup>b</sup>0000-0003-3695-9443; <sup>c</sup>0000-0003-3256-4735

**Corresponding author:** Savaş SARIÖZKAN; E-posta: ssariozkan@erciyes.edu.tr

**How to cite:** Sarıözkan S, Güngör G, Küçükoflaz M. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi (EÜVFD)'nin bibliyometrik analizi. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 136-144

**Öz:** Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi (EÜVFD)'nin çeşitli kriterler yönünden bibliyometrik analizinin yapılması amaçlanmıştır. Çalışmanın gereğini, 2004-2021 yılları arasında 47 sayı içerisinde yayımlanan toplam 506 akademik çalışma (araştırma makalesi, derleme ve olgu sunumu) oluşturmuştur. Dergide yayımlanan çalışmaların yıllara göre sayısı, türü, sorumlu yazarın kurumu ve çalıştığı birim, yayım süresi, inceleme/değerlendirme süresi, sayfa sayısı, yazar sayısı, lisansüstü tez özeti olma ve daha önce tebliğ edilme durumu, kullanılan araştırma materyali (hayvan türü), anahtar kelime sayısı, kullanılan tablo/grafik sayısı, resim/şekil sayısı, kaynak sayısı ve yayın dili incelenerek tanımlayıcı istatistikler (frekans, yüzde) şeklinde verilmiştir. Makalelerin yayımlanma, basım ve değerlendirme süreleri Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılmıştır. Araştırma bulgularına göre, EÜVFD'nin 18 yıllık yayın hayatında toplam 345 atıf (%68) aldığı, dergiye gelen çalışmaların yaklaşık değerlendirme, basım ve yayımlanma sürelerinin sırasıyla; dört, altı ve 10 aydan kısa olduğu, dergide yıllık ortalama 28.1 yayının yayımlandığı, yayın başına düşen ortalama yazar sayısının üç olduğu, sorumlu yazarların %40.1'inin Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim elemanlarından oluştuğu, anabilim dallarına göre en fazla yayının Klinik Bilimler Bölümünde (%27.7) ve Cerrahi Anabilim Dalı'na (%10.5) ait olduğu, çalışma materyalinin %30.3'ünün ruminantlardan oluştuğu, makale türüne göre en fazla araştırma makalesi (%61.7) yayımlandığı ve dergideki yayınların %20.4'ünün İngilizce olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, EÜVFD'nin yayın politikasına uygun, veteriner hekimliği alanıyla ilgili ve farklı birimlerden yayın alan, bilimsel olarak tüm aşamaların titizlikle takip edildiği, 18 yıldır aksamadan süresinde yayımlanan ve alan endeksinde taranan bilimsel bir dergi olduğu anlaşılmaktadır. Derginin tüm kazanımları dikkate alındığında, Science Citation Index (SCI) tarafından taranması hedefine her geçen gün daha da yaklaştığı ve makul bir sürede bu payeye de ulaşacağı yönünde güçlü izlenimler edinilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Atıf, bibliyometrik analiz, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, süreli, yayın

#### Bibliometric Analysis of Journal of Erciyes University Faculty of Veterinary Medicine

**Abstract:** This study aimed to apply a bibliometric analysis of the Erciyes University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine (EÜVFD) in terms of various criteria. The material of the study consisted of a total of 506 academic studies (research articles, reviews and case reports) published in 47 issues between 2004-2021 years. Number of studies published in the journal by years, type, institution and unit of the corresponding author, publication period, review/evaluation period, number of pages, number of authors, postgraduate thesis summary and previous presentation status, the research material used (animal species), the number of keywords, the number of tables/graphics used, the number of pictures/figures, the number of sources and the language of publications were given as descriptive statistics (frequency, percentage). The publication, press and evaluation periods were compared with Kruskal-Wallis Test. According to results, EÜVFD received a total of 345 citations (68%) in 18-year publication life. Review, press and publication time were shorter than four, six and 10 months, respectively. An average of 28.1 publications are published annually in the journal, the average number of authors per publication is three, 40.1% of the corresponding authors are Erciyes University Veterinary Faculty members, the highest number of publications are from Division of Clinical Sciences (27.7%) and Department of Surgery (10.5%), 30.3% of the study material consists of ruminants, the highest number of studies are research articles (61.7%), and it has been determined that 20.4% of the publications are in English language. As a conclusion, it is understood that EÜVFD is a scientific journal that complies with the publication policy, receives publications from the field of veterinary medicine and from different units, all stages are followed meticulously, and has been published for 18 years and scanned in the field index. Considering all the achievements of the journal, strong impressions have been gained that it is getting closer to its goal of being scanned by the Science Citation Index (SCI) and will reach this goal in a short time.

**Keywords:** Bibliometric analysis, citation, Journal of Faculty of Veterinary Medicine Erciyes University, periodical, publication

Geliş Tarihi/Submission Date : 22.02.2022

Kabul Tarihi/Accepted Date : 05.04.2022

## Giriş

Sürelî yayınlar, geçmişten günümüze bilimsel hafıza oluşumuna, paylaşımına, gelişimine ve yayımına çok önemli katkılar sunan adeta koleksiyon niteliği taşıyan hazinelerdir. Matematik ve istatistiğin ekonomi alanında uygulanmasına ekonometri, biyoloji ve sağlık bilimleri alanında uygulanmasına biyometri denildiği gibi, yayınların (makale, dergi, tez, kitap vs.) ve aralarındaki ilişkilerin sistematik olarak incelenmesine bibliyometri denilirken, bu ilişkinin sayısal analizine de bibliyometrik analiz denilmektedir (Pritchard, 1969; Van Eck ve Waltman, 2010; Özsoy ve Demir, 2018). Bilimsel iletişimi sağlama ve ışık tutma amacıyla yapılan bu analizlerde, yayınların mevcut durumu ve aralarındaki ilişkiler belirli özellikler (sayfa sayısı, yazar sayısı, konuları, kaynakçaları, değerlendirme ve yayımlama süreleri gibi) yönünden incelenmekte, bilimsel ve yayıncılığa ait nicel bulgularla ortaya konulmaktadır. Bibliyometrik çalışmalarda belirli bir alan (pazarlama, turizm, sağlık vs.) analiz edilebildiği gibi (Martinez-Lopez ve ark., 2018; Miskiewicz, 2020; Zeren ve Kaya, 2020), bilimsel bir dergi de analiz edilebilmektedir (Beşel ve Yardımciöğlü, 2017; Ahmad ve ark., 2020). O nedenle, belirli alanların yayın performanslarının ölçülmesine, dergilerin yayım politikalarını gözden geçirip geliştirmesine, daha hızlı, etkin ve kaliteli hizmet sunmasına olanak sağlayabileceği düşünülmektedir.

Gerek yurtiçi gerekse yurtdışında farklı dergilerin (Crawley-Low, 2006; Birinci, 2008; Donthu ve ark., 2020), lisansüstü tezlerin (Ayaz ve Türkmen, 2018; Küçükaslan ve Küçükaslan, 2022; Shi ve ark., 2022) ve bilim alanlarının (Castillo-Vergara ve ark., 2018; Küçükaslan ve Yiğit, 2021) bibliyometrik analizinin yapıldığı analitik çalışmalar olmakla birlikte, yapılan literatür taramalarında özellikle Türkiye’de Veteriner Hekimlik alanında yayımlanan dergilerin bibliyometrik analizlerine rastlanılmamıştır. Mevcut çalışma daha önce EÜVFD ile ilgili bibliyometrik analiz yapılmamış olması nedeniyle önem arz etmektedir.

İlk olarak 2004 yılında yayımlanmaya başlayan dergi, 2010 yılı dahil (yedi yıl süreyle) yılda iki sayı olarak çıkmış, 2011 yılından itibaren yılda üç sayı halinde basılmaktadır. Dergide araştırma makalesi, derleme ve olgu sunumu şeklinde yayınlar yapılmıştır. Derginin İngilizce adı Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University olup, kısa adı “Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.”dir. Uluslararası standart süreli yayın numarası (ISSN) 1304-7280’dir. Ulusal (ULAKBİM, TR-Dizin) ve uluslararası (Web of Science Zoological Record, ICJME, CABI ve EBSCO) atf dizinlerinde taranabilen dergide, makale inceleme ve basım aşamasında herhangi bir ücret talep edilmemektedir. Dergiye gönderilen yayınların incelenme ve değerlendirmeye alınabilmesi için, intihal/benzerlik açısından iThenticate Plagiarism Detection yazılımı ile kontrol edilmesi ve raporunun %20’den düşük

çıkması ön koşulu vardır. Yayınlar dergiye DergiPark sistemi üzerinden gönderilmekte ve tüm süreçler aynı sistem üzerinden takip edilmektedir. Dergide günümüze kadar 9 baş editör görev almıştır. Bunlar sırasıyla Dr. Abdullah İNCİ, Dr. Fatma UYANIK, Dr. Osman KÜÇÜK, Dr. Meryem EREN, Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ, Dr. Güner KÜÇÜK BAYRAM, Dr. Savaş SARIÖZKAN, Dr. Gültekin ATALAN ve Dr. Bilal AKYÜZ (halen)’dür (Dergipark, 2022).

Bu bilgilerden hareketle, yapılacak olan çalışma ile hem EÜVFD’nin yayım politikası gözden geçirilmiş olacak, hem de yayın gönderen/gönderecek yazarların derginin yayım değerlendirme süreci ve işleyişi hakkında fikir sahibi olmaları sağlanacaktır.

Bu bilgiler ışığında mevcut çalışmanın amacı, EÜVFD’nin süreli olarak yayım hayatına başladığı 2004 yılından 2021 yılına kadar (18 yıllık) çeşitli kriterler yönünden bibliyometrik analizini yapmaktır.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, ulusal hakemli bir dergi olan, EÜVFD’de yayımlanan süreli yayınlar bibliyometrik yönden ele alınmıştır. EÜVFD yayım hayatına başladığı 2004 yılından itibaren 2021 yılına kadar toplam yayımlanan 47 sayı içerisinde 506 akademik çalışmaya yer verilmiştir. Basılı yayım formatında olan derginin açık erişimli olarak elektronik ortamda da tüm sayılarına ve tam metinlerine ulaşılabilir. Çalışmada dergi arşivinden sağlanan bilgiler Coşkun ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmaya benzer olarak doküman incelemesi şeklinde bizzat kontrol edilerek Excel ve SPSS programına girilmiş, düzenlenmiş ve analiz edilmiştir.

Dergide yayımlanan çalışmaların yıllara göre sayısı, türü (araştırma makalesi, derleme, olgu sunumu), sorumlu yazarın kurumu ve çalıştığı birim, yayım süresi, inceleme/değerlendirme süresi, sayfa sayısı, yazar sayısı, lisansüstü tez özeti olma durumu, daha önce tebliğ edilme durumu, kullanılan araştırma materyali (hayvan türü), anahtar kelime sayısı, kullanılan tablo/grafik sayısı, resim/şekil sayısı, kaynak sayısı, yayım dili ve atf sayıları incelenmiş ve analiz edilmiştir. Atf sayılarına ULAKBİM TR Dizin internet platformu kullanılarak ulaşılmıştır (ULAKBİM, 2022).

Derginin çeşitli kriterler yönünden analiz edilebilmesi için aşağıdaki iş akış şeması yardımıyla yayımlanma, değerlendirme/inceleme ve basım/yayım süreleri hesaplanmıştır. Derginin iş akış şeması (kabul edilen çalışmalar için) özetle aşağıdaki gibidir;

1) Yayının gelişi → 2) Editöryal ön inceleme (uygunsa) → 3) Hakem (en az 2 Bilim, 1 İstatistik ve 1 İngilizce) değerlendirmeleri (uygunsa) → 4. Editöryal son inceleme → 5) Karar (KABUL) → 6) Yayım Kurulunun incelemesi → 7) Basım/Yayım

Buna göre bir tanımlama yapılacak olursa;

a) Yayınlanma Süresi (gün): Yayının dergiye gelişi ile basılması arasında geçen süredir (1-7).

b) Değerlendirme/İnceleme Süresi (gün): Yayının dergiye gelip editöryal incelemelerden geçtikten sonra (ön ve son inceleme) hakem değerlendirmelerini de (revizyon dahil) kapsayan süredir. Yayının dergiye gelişiyle kabul aldığı gün (1-5) arasındaki farktır. Kı-saca, kabul alma süresi olarak da değerlendirilebilir.

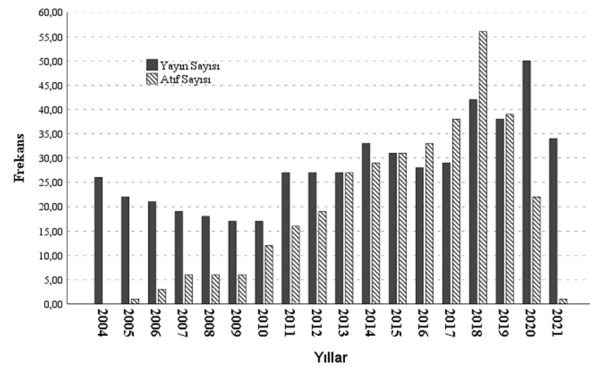
c) Basım/Yayım Süresi (gün): Yayının dergide kabul edilip yayın kurulu'nca da değerlendirildikten sonra basılıp yayımlanması arasında geçen süredir (5-7).

Veriler tanımlayıcı istatistikler (frekans, yüzde) kullanılarak özetlenmiştir. Türüne göre makalelerin yayımlanma süresi, basım/yayım süresi ve değerlendirme/inceleme süreleri parametrik test varsayımları yönünden kontrol edilerek Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $P < 0.05$  olarak belirlenmiştir. Analizlerde IBM SPSS 15.0 paket programı kullanılmıştır.

### Bulgular

EÜVFD'de 2004-2021 yılları arasında yayımlanan çalışmalar ve atıf sayıları yıllara göre Tablo 1 ve Şekil 1'de verilmiştir.

Dergide yayın sayısı olarak en yüksek orana (%9.9) 50 yayın ile 2020 yılında ulaşılmıştır. En az yayın yayımlanan yıllar ise 2009 ve 2010 olmuştur. Genel ortalamaya bakıldığında (2004-2021 arası) yıllık 28.1



Şekil 1. Yıllara göre yayın ve atıf sayılarının dağılımı.

yayının yayımlandığı tespit edilmiştir. Yıllara göre atıf sayıları incelendiğinde en fazla atfın 56 ile 2018 yılında alındığı görülmüştür (Tablo 1; Şekil 1).

Yıllara göre tek yazarlı yayın sayısı en fazla 2004-2005'te gerçekleşirken, 2016 ve 2021 yıllarında dergide tek yazarlı yayın olmamıştır. İki yazarlı yayın sayısı en fazla 2020 yılında, en az ise 2005 yılında yayımlanmıştır. Üç ve üzeri yazarlı yayın sayısı en fazla yine 2020 yılında, en az ise 2004 yılında olmuştur. Toplam yayınların %13.6'sı tek yazarlı, %37'si iki yazarlı ve geri kalan %49.4'ü üç ve üzeri yazarlı olarak yayımlanmıştır. Yıllara göre tek yazarlı yayın sayısında azalma görülürken, iki ile üç ve üzeri yazarlı

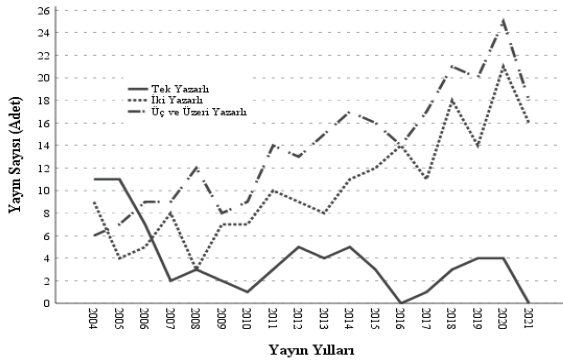
yayın sayıları artış göstermiştir. Tüm yıllara göre değerlendirildiğinde yayın başına ortalama yazar sayısı 3.0'tür (Tablo 2; Şekil 2).

Tablo 1. Yıllara göre yayın ve atıf sayılarının dağılımı

Yıllar	Yayımlanan sayı (n)	Toplam yayın sayısı (n)	%	Atıf sayısı (n)
2004	2	26	5.2	0
2005	2	22	4.3	1
2006	2	21	4.2	3
2007	2	19	3.8	6
2008	2	18	3.6	6
2009	2	17	3.4	6
2010	2	17	3.4	12
2011	3	27	5.3	16
2012	3	27	5.3	19
2013	3	27	5.3	27
2014	3	33	6.5	29
2015	3	31	6.1	31
2016	3	28	5.5	33
2017	3	29	5.7	38
2018	3	42	8.3	56
2019	3	38	7.5	39
2020	3	50	9.9	22
2021	3	34	6.7	1
<b>Toplam</b>	<b>47</b>	<b>506</b>	<b>100</b>	<b>345</b>

**Tablo 2.** Yıllara göre yayınlardaki yazar sayılarının dağılımı

Yıllar	Tek yazarlı		İki yazarlı		Üç ve üzeri yazarlı		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%
2004	11	15.9	9	4.8	6	2.4	26	1.9
2005	11	15.9	4	2.1	7	2.8	22	1.9
2006	7	10.1	5	2.7	9	3.6	21	2.5
2007	2	2.9	8	4.3	9	3.6	19	3.3
2008	3	4.4	3	1.6	12	4.8	18	3.1
2009	2	2.9	7	3.7	8	3.2	17	3.0
2010	1	1.5	7	3.7	9	3.6	17	3.0
2011	3	4.4	10	5.4	14	5.6	27	3.2
2012	5	7.2	9	4.8	13	5.2	27	2.9
2013	4	5.8	8	4.3	15	6.0	27	3.2
2014	5	7.2	11	5.9	17	6.8	33	2.9
2015	3	4.4	12	6.4	16	6.4	31	2.8
2016	0	0.0	14	7.5	14	5.6	28	3.5
2017	1	1.5	11	5.9	17	6.8	29	3.8
2018	3	4.4	18	9.6	21	8.4	42	3.1
2019	4	5.8	14	7.5	20	8.0	38	3.2
2020	4	5.8	21	11.2	25	10.0	50	3.2
2021	0	0.0	16	8.6	18	7.2	34	3.5
<b>Toplam</b>	<b>69</b>	<b>100</b>	<b>187</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>100</b>	<b>506</b>	<b>100</b>

**Şekil 2.** Yıllara göre yazar sayılarındaki değişimi gösteren çizgi grafik.

Yayınlarda sorumlu yazarlarına göre kurumsal dağılımı incelendiğinde, %40.1 ile Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim elemanlarından oluştuğu daha sonra Kafkas (%5.1), Ankara (%4.2) ve İstanbul-Cerrahpaşa Üniversitesi (%4.2) şeklinde sıralandığı görülmektedir. Üniversitelerin dışında Tarım ve Orman Bakanlığı (%3.8) teknik personelinin de EÜVFD'ne yayın gönderdiği ve yayımlandığı belirlenmiştir. Diğer yayınlar ise yine özellikle Veteriner Fakültelerinden olmakla birlikte sayıları 10'un altında olduğu için verilmemiştir (Tablo 3).

Diğer taraftan, Anabilim Dalları'na göre yayın sayıları incelendiğinde, ilk sırayı Cerrahi alırken (%10.5), onu Gıda Hijyeni ve Teknolojisi (%8.5), İç Hastalıkları (%7.1), Doğum ve Jinekoloji (%6.9) takip etmiştir (Tablo 3). Veteriner Fakültelerindeki Bölümler düzeyinde inceleme yapıldığında (sorumlu yazara göre), 140 yayın ile en fazla Klinik Bilimler Bölümü'nün yayını

varken, onu 99 yayın ile Zootekni ve Hayvan Besleme ve 89 yayın ile Klinik Öncesi Bilimler Bölümü izlemiştir (Şekil 3).

Dergide basılan yayınların %61.7'si araştırma makalesi, %28.8'i derleme ve %9.5'i de olgu sunumu şeklindedir. Dergiye gelen çalışmaların yaklaşık basım/yayım süresi 6 aydan kısa (176 gün), yayımlanma süresi 10 aydan az (293 gün) ve değerlendirme/inceleme süresi de 4 aydan azdır (98 gün). Araştırma makalelerinin yayımlanma ve basım/yayım süreleri daha kısa bulunmuştur ( $P<0.05$ ; Tablo 4).

Yayın türlerine göre alınan atıflar incelendiğinde, sayısal olarak en fazla atıf araştırma makalelerine (210 atıf) yapılırken, oransal (atıf sayısı/çalışma sayısı) olarak ise derlemelere (%84 atıf) yapılmıştır. Toplamda EÜVFD 18 yıllık yayın hayatında 345 atıf (%68) almıştır (Tablo 5).

Yayınlardaki ortalama sayfa sayısı %70.9 oranında 5-8 sayfa arasında (ort. 7.0), yayın başına tablo/grafik sayısı ortalama 2.0 ve resim/şekil sayısı da 1.3 bulunmuştur. Yayınların %29.2'sinde tablo/grafik yer almazken, %53.5'inde ise resim/şekil yoktur (Tablo 6).

İncelenen yayınlardaki kaynak sayıları 19-33 arasında yoğunlaşırken, az sayıda (4-8 kaynak) veya oldukça çok sayıda (60-70 üzeri) kaynağın kullanıldığı yayınlara rastlamak mümkündür. Yayınlarda ortalama 28.3 kaynak kullanılmıştır (Tablo 7).

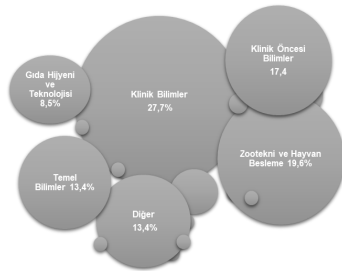
Yayınlardaki anahtar kelime sayıları 2-6 arasında değişmekte olup (ort. 3.9), en fazla (%40.1) kullanılan anahtar kelime sayısı 4, daha sonra 3 (%28.3) olmuştur (Tablo 8).



**Tablo 3.** Yayınların kurumlara ve anabilim dallarına göre dağılımı

Sıra	Kurum Adı*	n	%	Anabilim Dalı*	n	%
1	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	203	40.1	Cerrahi	53	10.5
2	Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi	26	5.1	Gıda Hijyeni ve Teknolojisi	43	8.5
3	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	21	4.2	İç Hastalıkları	36	7.1
4	İstanbul-Cerrahpaşa Üniv Veteriner Fakültesi	19	3.8	Doğum ve Jinekoloji	35	6.9
5	Tarım ve Orman Bakanlığı	19	3.8	Parazitoloji	33	6.5
6	Aydın Adnan Menderes Üni. Veteriner Fakültesi	17	3.4	Hayvan Bes. ve Besl. Hast.	32	6.3
7	Burdur Mehmet Akif Ersoy Üni. Veteriner Fakültesi	17	3.4	Zootekni	30	5.9
8	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi	17	3.4	Genetik	17	3.4
9	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi	15	3.0	Histoloji ve Embriyoloji	17	3.4
10	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi	13	2.6	Mikrobiyoloji	17	3.4
11	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi	13	2.6	Dölerme ve Suni Tohumlama	16	3.2
12	Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi	12	2.4	Hayvancılık Ekonomisi	16	3.2
13	Diğer	114	22.4	Diğer	161	31.7
	<b>Toplam</b>	<b>506</b>	<b>100.0</b>	<b>Toplam</b>	<b>506</b>	<b>100.0</b>

\*sorumlu yazara göre

**Şekil 3.** Yayınların bölümlere göre yoğunluğu.

Dergide yayımlanan çalışma materyallerinin önemli bir kısmını (%30.3) ruminantlar (sığır, mada, koyun, keçi) oluştururken, bunu %12.6 ile karnivor (kedi/köpek), %10.7 ile kanatlı ve %7.5'i de deney hayvanı izlemiştir. Atıf sayıları yönünden de ruminant ve karnivor türlerinde yapılan çalışmalar öne çıkmaktadır (Tablo 9).

EÜVFD'de yayımlanan 506 çalışmanın 321'i daha önce hiçbir yerde yayımlanmamış, %20.8'i daha önce kongre/sempozyum gibi bilimsel ortamlarda sunulmuş, %19.4'ü de lisansüstü tez çalışması olarak kabul edildikten sonra yayımlanmıştır (Tablo 10). Dergi-deki yayınların %79.6'sı Türkçe ve geri kalan %20.4'ü

İngilizce olarak yayımlanmıştır (Tablo 11).

### Tartışma ve Sonuç

Sürelî yayım yapan dergiler, etkin bilimsel iletişimin vazgeçilmez unsurlarıdır. Çünkü belirli kurallar çerçevesinde (yazım kuralları) disipline edilmiş olan akademik çalışmalara evrensel nitelik kazandıran bu dergiler, bir yandan bilimsel bilginin yayılmasına aracılık ederken, diğer yandan da bu bilgi/gelişmelerin gelecek kuşaklara aktarılmasına ve yeni yol haritaları oluşturulmasına katkı sağlarlar (Rousseau, 2002).

Bibliyometrik analizler, dergilerin dönemsel gelişme ivmelerinin ve eğilimlerinin ortaya çıkarılmasına rehberlik ederler (Çiçek ve Kozak, 2012). Ayrıca, yayımcıya kendini değerlendirebilme ve politikalarını gözden geçirme olanağı sunarlar (Özbek ve Badem, 2018).

Bibliyometrinin tanımında her ne kadar matematik ve istatistiğin uygulandığı denilse de yapılan bibliyometrik analizlerin çoğunda deskriptif istatistik (ortalama, yayılma, % oran, tablo/grafik, sınıflama gibi) kullanılırken (Ayaz ve Türkmen, 2018; Beşel ve Yardımcıoğlu, 2017), analize dayalı önem kontrolünün yapıldığı çıkarımsal istatistik yok denecek kadar azdır.

Üniversitelerde akademik atama/yükseltme ile do-

**Tablo 4.** Türüne göre makalelerin yayımlanma süresi, basım/yayım süresi ve değerlendirme/inceleme sürelerinin karşılaştırılması

Makale Türü	Frekans, n (%)	Yayımlanma süresi, gün*	Basım/Yayım süresi, gün**	Değerlendirme/İnceleme süresi, gün***
Araştırma makalesi	312 (%61.7)	279 (173-404) <sup>a</sup>	150 (89-272) <sup>a</sup>	101 (56-158)
Derleme	146 (%28.8)	299 (204-426) <sup>ab</sup>	192 (98-277) <sup>ab</sup>	94 (58-147)
Olgu sunumu	48 (%9.5)	328 (267-409) <sup>b</sup>	214 (165-279) <sup>b</sup>	105 (61-188)
Genel	506 (%100.0)	293 (189-409)	176 (94-277)	98 (57-154)
<b>P değeri</b>		<b>0.038</b>	<b>0.023</b>	0.653

\* geliş-yayımlanma arası süre; \*\*, kabul-basım arası süre; \*\*\* geliş-kabul arası süre <sup>†</sup>: Ortanca (1.Çeyrek-3.Çeyrek) <sup>a,b,c</sup>: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir.

**Tablo 5.** Makale türlerine göre atıf sayıları ve oranları

Yayın Türü	Çalışma sayısı, adet	Atıf sayısı, adet	Oran, yüzde (%)
Araştırma makalesi	312	210	67
Derleme	146	123	84
Olgu Sunumu	48	12	25
<b>Toplam</b>	<b>506</b>	<b>345</b>	<b>68</b>

**Tablo 6.** Yayınlardaki sayfa, tablo/grafik ve resim/şekil sayıları

Sayfa sayısı	n	%	Tablo/Grafik sayısı	n	%	Resim/Şekil sayısı	n	%
3-4	48	9.5	Yok (0)	148	29.2	Yok (0)	271	53.5
5-6	202	39.9	1-2	191	37.7	1-2	130	25.7
7-8	157	31.0	3-4	114	22.5	3-4	71	14.0
9-10	58	11.5	5-6	33	6.5	5-6	20	4.0
11-12	27	5.3	7-8	13	2.6	7-8	11	2.2
13-14	12	2.4	9-10	4	0.8	9-10	1	0.2
15 ve üzeri	2	0.4	11 ve üzeri	3	0.7	11 ve üzeri	2	0.4
<b>Toplam</b>	<b>506</b>	<b>100.0</b>	<b>Toplam</b>	<b>506</b>	<b>100.0</b>	<b>Toplam</b>	<b>506</b>	<b>100.0</b>

**Tablo 7.** Yayınlarda kullanılan kaynak (referans) sayısı

Kaynak sayısı	n	%
4-8 arası	12	2.4
9-13 arası	36	7.1
14-18 arası	36	7.1
19-23 arası	82	16.2
24-28 arası	77	15.2
29-33 arası	83	16.4
34-38 arası	56	11.1
39-43 arası	35	6.8
44-48 arası	29	5.7
49-53 arası	17	3.4
54-58 arası	10	2.0
59-63 arası	6	1.2
64-68 arası	10	2.0
69-73 arası	7	1.4
74-78 arası	6	1.2
79 ve üzeri	4	0.8
<b>Toplam</b>	<b>506</b>	<b>100.0</b>

**Tablo 8.** Anahtar kelime sayıları

Anahtar kelime sayısı	n	%
2	20	4.0
3	143	28.2
4	203	40.1
5	130	25.7
6	10	2.0
<b>Toplam</b>	<b>506</b>	<b>100</b>

çentlik kriterlerinin devamlı güncellenmesi ve geliştirilmesinin altında yatan en önemli nedenler nitelik artışının sağlanması ve rekabet ortamının oluşturulmasıdır (Tuncer ve ark., 2018). Bilimsel dergiler de nitelikli yayınları çekebilme, yayım hayatına devam edebil-

mek ve daha üst düzey kategorilerde taranabilmek için artan bu beklentiye ayak uydurmak zorundadır. EÜVFD de 18 yıllık süreçte devamlı gelişme göstermiş ve yeni hedefler çerçevesinde yayım hayatına kesintisiz devam etmiştir. Bu yönüyle mevcut çalış-

**Tablo 9.** Yayınlarda kullanılan/araştırılan hayvan türü

Tür adı	n	%	Atıf sayısı (n)
<b>Ruminant</b>	155	30.2	115
<b>Karnivor</b>	64	12.6	41
<b>Kanatlı</b>	54	10.7	33
<b>Deney hayvanı</b>	38	7.5	6
<b>At/Eşek</b>	32	6.3	6
<b>Diğer ve tüm türler</b>	28	5.9	32
<b>Su ürünleri</b>	16	3.2	3
<b>Yok*</b>	119	23.5	109
<b>Toplam</b>	506	100.0	345

\*genel konular incelenmiş

mada araştırmaya değer bulunmuştur. Literatürde hem EÜVFD hem de Türkiye’de Veteriner Hekimlik alanında farklı bir derginin bibliyometrik analizine rastlanmadığı için araştırma bulguları daha çok kendi içerisinde karşılaştırılmıştır.

Akademik dergilerde makale inceleme ve değerlendirme sürecinin detaylı olarak web sayfasında verilmesi, bu sürecin optimum şekilde yürütülmesi ve derginin farklı dizinler tarafından taranması tanınırlığını ve atıf sayısını artıran faktörler olarak sayılabilir. İngilizce makale sayısının artması ve yayımda öncelik verilmesi, Türkçe olanlarda da tablo/grafik ve resim/şekil başlıklarının altına İngilizcesinin yazılması yabancı araştırmacılar tarafından anlaşılma oranını ve

ması da atıf sayısını artırabilir.

Derginin alan endeksinde olması (WOS Zoological Record) ve değerlendirme (kabul alma) süresinin 100 günün altında olması, 18 yıldır kesintisiz olarak yayımlanması güçlü yönleri olarak öne çıkmaktadır. Bu açıdan bakıldığında, bazı dergilere göre (Karagöz ve Şeref, 2019) derginin değerlendirme sürecini (hakem belirleme ve karar alma) hızlı ve iyi yönettiğini söylemek yanlış olmayacaktır. Tüm bu olumlu göstergeler derginin yılda dört sayıya çıkması için elini güçlendirmektedir. Yılda dört sayıya çıkılmasının hem derginin yeni hedeflerle gelişimine ivme kazandıracığı hem de bu sayede yayın ve atıf sayısını artıracığı düşünülmektedir.

**Tablo 10.** Çalışmaların daha önce yayımlanma/sunulma durumu

Yayımlanma durumu	n	%
<b>1. Hiçbir yerde yayımlanmamış*</b>	321	63.4
<b>2. Tez özeti**</b>	98	19.4
<b>3. Kongre/sempozyum sunumu</b>	105	20.8
<b>4. Tez özeti+kongre/sempozyum sunumu</b>	18	-3.6
<b>Toplam</b>	506	100.0

\* (2+3)-4 \*\* Lisansüstü tez olarak sunulmuş ve kabul edilmiş

**Tablo 11.** Yayınların dili

Yayın dili	n	%
<b>Türkçe</b>	403	79.6
<b>İngilizce</b>	103	20.4
<b>Toplam</b>	506	100.6

atıf sayısını artırabilir. EÜVFD yazım kurallarında 5 olan anahtar kelime sayısının ortalama 3.9 olması düşük bulunmuştur. Anahtar kelimelerin sayısının 5’e yaklaşması atıf oranını artıracak diğer bir faktör olarak düşünülmektedir. Derlemelerin daha fazla atıf alması, alanında uzman ve tanınırlığı yüksek yerli/yabancı araştırmacılar tarafından güncel konular dahil çağrılı derleme istenebileceği sonucunu doğurmaktadır. Ayrıca, kabul alan çalışmalara erken erişim sağlan-

Yayınların önemli bir oranının (%40.1), Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi akademisyenleri tarafından yayımlanmış olması, dergiyi sahiplenme açısından olumlu görülse de diğer üniversite ve kurumlardan daha fazla yayın akışı sağlanması için farklı iletişim politikaları (e-posta, sosyal medya vs.) geliştirilebilir.

Dergi web sayfasında kabul oranı, değerlendirme ve

yayımlama süreleri gibi sayısal bilgilerin verilmesi, yayın göndermeyi düşünen araştırmacılar için karar aşamasında faydalı olabilir.

Yazım kuralları bölümünde yazılı olan "İngilizce hazırlanmış makalelerin yayımlanmasına öncelik verilir." ibaresi dergi web sayfasında (ana sayfa) yayın politikası içinde görünür şekilde olması atıf ve tanınırlığı artırabilecek ve gelecekte daha nitelikli uluslararası (SCI) dizinlerde taranmasının önünü açabilecektir.

Sonuç olarak, toplamda 506 bilimsel çalışmanın analiz edildiği bu çalışmada EÜVFD'nin yayın politikasına uygun, veteriner hekimliği alanıyla ilgili ve farklı birimlerden yayın alan, bilimsel olarak tüm aşamaların titizlikle takip edildiği, 18 yıldır aksamadan süresinde yayımlanan ve alan endeksinde taranan bilimsel bir dergi olduğu anlaşılmaktadır. Derginin gerek yayın sayısı gerekse atıf sayısı yönünden de belirli bir olgunluğa ulaştığı görülmektedir. Derginin tüm kazanımları dikkate alındığında, Science Citation Index (SCI) tarafından taranması hedefine her geçen gün daha da yaklaştığı ve makul bir sürede bu payeye de ulaşacağı yönünde güçlü izlenimler edinilmiştir.

#### Kaynaklar

- Ahmad P, Asif JA, Alam MK, Slots J. A bibliometric analysis of periodontology 2000. *Periodontol* 2000; 82: 286-97.
- Ayaz N, Türkmen MB. Yöresel yiyecekleri konu alan lisansüstü tezlerin bibliyometrik analizi. *Gastroia: J Gastron Travel Res* 2018; 2(1): 22-38.
- Beşel F, Yardımcıoğlu F. Maliye Dergisi'nin bibliyometrik analizi: 2007-2016 dönemi. *Maliye Derg* 2017; 172:133-51.
- Birinci HG. Turkish Journal of Chemistry'nin bibliyometrik analizi. *BD Derg* 2008; 9(2): 348-69.
- Castillo-Vergara M, Alvarez-Marin A, Placencia-Hidalgo D. A bibliometric analysis of creativity in the field of business economics. *J Bus Res* 2018; 85: 1-9.
- Coşkun İ, Dündar Ş, Parlak C. Türkiye'de özel eğitim alanında yapılmış lisansüstü tezlerin çeşitli değişkenler açısından incelenmesi (2008-2013). *Ege Eğitim Derg* 2014; 2(15): 375-96.
- Crawley-Low J. Bibliometric analysis of the American Journal of Veterinary Research to produce a list of core veterinary medicine journals. *J Med Libr Assoc* 2006; 94(4): 430-4.
- Çiçek D, Kozak N. Anatolia: Turizm Araştırmaları Dergisi'nde yayınlanan hakem denetimli makalelerin bibliyometrik profili. *Türk Kütüphaneciliği* 2012; 26(4): 734-56.
- Dergipark. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ercivet>; Erişim Tarihi: 10.01.2022.
- Donthu N, Kumar S, Pattnaik D. Forty-five years of Journal of Business Research: A bibliometric analysis. *J Bus Res* 2020; 109: 1-14.
- Karagöz B, Şeref İ. Değerler Eğitimi Dergisi'nin bibliyometrik profili (2009-2018). *Değerler Eğitimi Derg* 2019; 17(37): 219-46.
- Küçükaslan Ö, Küçükaslan İ. Bibliometric profile of postgraduate theses in veterinary obstetrics and gynecology in Turkey. *Vet Hekim Der Derg* 2022; 93(1): 52-8.
- Küçükaslan Ö, Yiğit A. Veteriner hekimliği tarihi ve deontoloji alanı akademisyenlerinin bilimsel çalışmalarının bibliyometrik analizi (1950-2015). *Eurasian J Vet Sci* 2021; 37(4): 286-95.
- Martinez-López FJ, Merigo JM, Valenzuela-Fernandez L, Nicolas C. Fifty years of the European Journal of Marketing: a bibliometric analysis. *Eur J Mark* 2018; 52: 439-68.
- Miskiewicz R. Internet of things in marketing: Bibliometric analysis. *Int Mark Manag Innov* 2020; 3: 371-81.
- Özbek CY, Badem AC. Muhasebe ve Vergi Uygulamaları Dergisi'nde yayımlanmış makalelerin bibliyometrik analizi (2008-2017). *MUVU* 2018; 11 (2): 216-47.
- Özsoy Z, Demir E. The evolution of bariatric surgery publications and global productivity: A bibliometric analysis. *Obes Surg* 2018; 28: 1117.
- Pritchard A. Statistical bibliography or bibliometrics?. *J Doc* 1969; 25: 348-9.
- Rousseau R. Journal evaluation: Technical and practical issues. *Library Trends* 2002; 50(3): 419-39.
- Shi X, Zhou Y, Li Z. Bibliometric analysis of the Doctor of Nursing Practice dissertations in the ProQuest Dissertations and Theses database. *J Adv Nurs* 2022; 78: 776-86.
- Tuncer M, Dikmen M, Tanaş R, Bahadır F, Temur M, Uluğ H. Doçentlik süreci ve bazı akademik kadrolardaki düzenlemelere yönelik öğretim elemanlarının görüşlerinin değerlendirilmesi. *Electr Turk Studies* 2018; 13(11): 1311-35.
- ULAKBİM TR Dizin. <https://app.trdizin.gov.tr/dergi/TkRNeE1RPT0/erciyes-universitesi-veteriner-fakultesi-dergisi>; Erişim Tarihi: 12.01.2022.
- Van Eck, NJ, Waltman, L. Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric map-

ping. *Scientometrics* 2010; 84(2):523-38.

Zeren D, Kaya N. Dijital Pazarlama: Ulusal yazının bibliyometrik analizi. *Çağ Üniv Sos Bil Derg* 2020; 17(1): 35-52.





**Sepsis Patogenezi, Tanı ve Tedavisi Sepsiste Oksidatif Stres ve Sepsis İnflamasyon İlişkisi, Sepsiste Deneysel Modeller**

Esra Nur ÜVENÇ<sup>1,a</sup>, Feride KOÇ<sup>1,b</sup>

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE  
ORCID: <sup>a</sup>0000-0002-5682-2789; <sup>b</sup>0000-0002-3963-5199

**Corresponding author:** Esra Nur ÜVENÇ; E-posta: esranuruvenç@gmail.com

**How to cite:** Sepsis patogenezi, tanı ve tedavisi sepsiste oksidatif stres ve sepsis inflamasyon ilişkisi, sepsiste deneysel modeller. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 145-151

**Öz:** Sepsis hem beşerî hekimlik hem de veteriner hekimlikte yüksek ölüm oranları ile seyreden önemli bir sistemik cevaptır. Bu derleme makalede; sepsisin patogenezi, etiyolojisi, epidemiyolojisi, teşhis ve tedavi yöntemlerinden bahsedilmektedir. Bunun yanında, sistemik inflamatuvar cevap ile sepsis ilişkisi, oksidatif stresin sebepleri, oluşumu ve sepsisle olan bağlantısı ve farmakolojide deneysel olarak uygulanan sepsis modelleri hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** İnflamasyon, oksidatif stres, sepsis

**Sepsis Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. Oxidative Stress in Sepsis and Sepsis Inflammation Relation. Experimental Models in Sepsis**

**Abstract:** Sepsis is an important systemic response with high mortality rates in both human medicine and veterinary medicine. In this seminar, Pathogenesis, etiology, epidemiology, diagnosis, and treatment of sepsis are mentioned. In addition, it was aimed to give information about the relationship between systemic inflammatory response and sepsis, the causes of oxidative stress, its formation and connection with sepsis, and experimental sepsis models in pharmacology.

**Keywords:** Inflammation, oxidative stress, sepsis

**Giriş**

Sepsis, mikroorganizmaların ve toksik özellik gösteren metabolitlerinin akut bir seyirde kan dolaşımında yayılması sonucu, dokularda perfüzyonun bozulmasıyla seyreden, sistemik inflamatuvar cevap sonucu oluşan klinik tabloyu tanımlamaktadır. Hayatı tehdit eden bir enfeksiyon olmakla beraber hem insan hekimliği hem de veteriner hekimlik için mortalitenin en önemli sebeplerindedir (Özcan ve ark., 1996; Aygün, 2002).

Sepsis, sepsis sendromu ve septik şok aynı hastalığın gelişim aşamaları olarak da kabul edilebilir. Bakteriyemiden başlayarak septik şoka kadar ilerleyen bu hastalık zincirinde hangi klinik aşamada hangi ismin kullanılacağı hakkında kesin bir ayırım bulunmamaktadır ancak inflamatuvar cevabın farklı dönemlerini ortaya koymak için bazı tanımlamalar yapılmıştır (Özcan ve ark., 1996; Bone ve ark., 1997).

**Bakteriyemi:** Kültür pozitifliği ile kanda canlı bakteri bulunması durumudur.

**Enfeksiyon:** Bir dokunun mikroorganizmalar ile invazyonuna konak vücudunun gösterdiği inflamatuvar cevaptır.

**Sistemik inflamatuvar reaksiyon sendromu (SIRS):**

Yanık, pankreatit, travma gibi herhangi bir klinik uyarı karşısında konakta gelişen vücudun oluşturduğu anormal inflamatuvar reaksiyondur. SIRS tanısı için sayılacak belirtilerden iki veya daha fazlasının hastada bulunması gerekir: 38°C'den yüksek ya da 36°C'den düşük vücut ısısı, dakikada 90 üzerinde kalp atışı, 32 mmHg'den düşük PaCO<sub>2</sub> oranı ve 12000/mm<sup>3</sup>'ten fazla ya da 4000/mm<sup>3</sup>'ten az lökosit sayısı.

**Şiddetli sepsis:** Organ fonksiyonlarında kayıplar, düşük perfüzyon ve düşük tansiyonla beraber seyreden sepsis ya da sepsise ek olarak en az bir organ yetmezliğinin gelişmesi durumu olarak tanımlanır (Aygün, 2002; Levy ve ark., 2003; Dellinger ve ark., 2013; Singer ve ark., 2016).

**Septik şok:** Sepsiste yeterli sıvı tedavisi uygulanmasına rağmen perfüzyon bozukluğu belirtilerinin (laktik asidoz, oligüri, akut mental değişiklikler vb.) devam etmesidir. Şok, hayatı tehdit eden akut dolaşım yetmezliği ve hücrelerin yetersiz oksijen kullanımı ile tanımlanmaktadır. Şiddetli sepsisin bir alt grubu olarak kabul edilebilmektedir. Bu durumda kan dolaşımı hücrelerin oksijen ihtiyacını karşılayamaz ve hücre fonksiyon kaybına yol açar (Gürkan ve Çobanlı, 1999; Cecconi ve ark., 2014)

**Multi organ yetmezliği sendromu:** 24-48 saatte akut şekilde gelişen ve en az iki organda görülen ciddi organ fonksiyon kaybı olarak tanımlanabilir (Bone ve Grodzin, 1997). Çoklu organ yetmezliği sendromunun gelişmesi için birkaç mekanizma öne sürülmüştür. Bunlar; hücre veya doku hipoksisi, doku apoptozisinin uyarılması, gastrointestinal sistemde mikroorganizmaların veya bileşiklerinin translokasyonu, bağışıklık sisteminin düzensizliği ve mitokondriyal disfonksiyondur (Osterbur ve ark., 2014).

### 1. Sepsisin Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi

Septisemiyle her grupta bulunan mikroorganizmaların şiddetli seyreden sistemik enfeksiyonları sonucunda karşılaşılabilmektedir. Sepsisli hastalarda morbidite ve mortaliteye yol açan en önemli nedenlerden birisi kardiyovasküler yetersizlik ve bunun sonucunda gelişen yaygın doku hipoksisidir (Özcan ve ark., 1996; Worthley, 2000). Sepsiste genellikle en sık rastlanan etkenler; *Escherichia coli*, *Klebsiella-Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*'dur (Aygün, 2002).

Veteriner hekimlikte kedilerde sepsis görülme oranının %1-5 olduğu ve tedaviye alınan kedilerde hayatta kalma oranının %10-25, köpeklerde sepsis görülme oranının %6-10 ve hayatta kalma oranının %25-50 olduğu belirtilmiştir. Taylarda ise %45-55 oranında ölüm olduğu kayıtlara geçmiştir (Otto, 2007).

### 2. Sepsiste Patogenez

Sepsisin fizyopatolojisi karmaşıktır ve birçok faktöre bağlıdır. Enfeksiyon hem proinflatuvar hem de antiinflatuvar süreci tetikler. Bu etkiler sonucunda vücut dış etkenlerden arındırılırken aynı zamanda doku hasarı ve organ yetmezliği gelişebilir (Russell, 2006; Angus ve Van Der Poll, 2013). Enfeksiyon kaynağından, sistemik dolaşıma giren mikroorganizmalar ya da bu mikroorganizmaların ürünleri bakteriyemiye sebep olurlar. Fakat dolaşıma geçen bu maddeler sepsis oluşumu için tek başlarına yeterli olmazlar. Bu aşamada asıl önemli nokta konakçının vereceği immun yanıtıdır (Ural, 2007).

Bağışıklık sistemi tarafından algılanıp immun yanıtı neden olan zararlı mikroorganizma ürünlerine, patojen ilişkili moleküler kalıp adı verilir (Janeway Jr ve Medzhitov, 1998). Endotoksin, proteazlar, ekzotoksinler gram negatif bakterilerin hücre duvarında yer alan ve sepsis oluşumunda etkin rol oynayan patojen ilişkili moleküler kalıplardır. Bu yapılar içerisinde en güçlü etkileri gözlemlenen gram negatif bakteri ürünü lipopolisakkariddir (LPS). O-antijeni, lipid-A ve kor polisakkaridinden oluşan LPS, gram negatif bakterilerin hücre duvarlarının en dış kısmında bulunur. Lipid-A kısmını doymuş yağ asitleri oluşturur ve bu kısım şok, yüksek ateş, sürgün benzeri belirtilere sebep olan, asıl endotoksin özelliği gösteren bölümdür (Ural, 2007; Akyıldız ve ark., 2019). LPS, nötrofil ve

makrofajlardan sitokin salınımını tetikler (Yorgancı, 2005; Özkanlar ve ark., 2015; Koç ve ark., 2020).

Gram-pozitif bakterilerde ise endotoksin bulunmaz ancak hemolizinler, lipoteikoik asit, ekzotoksin, enterotoksinler ve peptidoglikanlar bu bakterilerin hücre duvarında yer alan yapılarıdır. Bu endotoksin, ekzotoksin ve antijenik yapıların septik süreci başlatmaları için konak hücrelerde LPS bağlayıcı protein (LPB) ve plazma membranının dış kısmında bulunan bir protein olan CD14 reseptörleri bulunması gerekir (Wright ve ark., 1990). CD14'ün hücre membranında bulunan mCD14 versiyonu olduğu gibi bir de dolaşımda bulunan sCD14 versiyonu vardır. Dentrik hücreler, düz kas hücreleri, fibroblastlar gibi CD14 reseptörünü hücre yüzeyinde bulundurmayan yapılar, sCD14 ile etkileşime girerek LPS tarafından uyarılırlar (Landmann ve ark., 1995). CD14 reseptörlerinin bulunması ile immun sistemin LPS'ye karşı cevabı daha net anlaşılmıştır fakat mCD14 reseptörlerinin hücre içine herhangi bir etkisine rastlanamamıştır. Sonuç olarak LPS-LBP kompleksinin hangi yolları kullanarak aktivasyon oluşturduğu toll-like reseptörler (TLR) keşfedilene kadar anlaşılamamıştır. Toll-like reseptörleri ile ilgili kısa zamanda pek çok araştırma yapılmış ve oldukça fazla TLR bulunarak bu reseptörlerin etkileri tanımlanmıştır. Örneğin; TLR-4, LPS'ye ait; TLR-2 ise gram pozitif hücre duvarı yapılarını tanıyan reseptördür (Karaali ve Tabak, 2009).

Bakteriyeminin akabinde endotoksin, ekzotoksin ve antijenik yapılar, CD14 reseptörüne bağlanarak mononükleer fagosit sistem hücrelerini uyarırlar. Fagosit sistemin hücrelerinden olan monositlerden birtakım sitokinler salınır bunlar; trombosit aktive edici faktör (PAF), tümör nekroz faktör (TNF), interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve interlökin 8 (IL-8)'dir. Bu sitokinlerden interlökin 6 ve interlökin 1, lenfositlerin bir alt kümesi olan T hücrelerinin aktivasyonuna sebep olarak, granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF),  $\gamma$ -interferon, interlökin 2 ve interlökin 4 salınmasını tetikler. Bakteri ve ürünlerine karşı olarak salınan bu sitokinlerin görevleri normal şartlar altında enfeksiyon odağına karşı savunma yapmaktır fakat sepsis durumunda hücresel reaksiyonlar aşırı şekilde aktive edilir ve denge bozulur.

Sonuçta, fazla miktarlarda salgılanan sitokinler endotel hücrelerinde yaygın hasara neden olur. Lökositler yüzeyinde bulunan adezyon molekülleri TNF tarafından aktive edilir ve neticesinde nötrofiller, endotel hücrelerine yapışır böylece aktif hale geçmiş nötrofillerin sitoplazmasında bulunan granüllerin hücre dışına bırakılması sonucu endotel hasarı daha kolay hale gelir. Endotelin zedelenmesi sonucu hemodinamik değişiklikler ve organ yetmezliği gözlemlenir. Ayrıca sitokinlerden ileri gelen uyarım ya da endotoksinin doğrudan etkisi ile prostaglandin, tromboksan gibi araziidonik asitten sentezlenen maddelerin dolaşıma katılmaları kapiller permabilitede artışa yol açar. Ka-



piller permabilitedeki artış, endotel hücrelerinde şekillenilen hasar ve mikrosirkülasyonda kanın göllenmesi; organ etmezliği hatta şok ile sonuçlanır. Nitrik oksit (NO) de endotel hücrelerinden salınır ve sepsiste gözlemlenen yaygın vazodilatasyona sebep olur. Endotoksinin varlığı kompleman sistemi de aktif hale getirir. Kompleman sistem savunma sisteminde ve antikorun aracılık ettiği doku hasarında rol oynayan ve hücre zarında yer alan bir grup proteinden oluşur, C3a ve C5a kompleman reseptörleridir ve nörofil, makrofaj, mast hücrelerinde bulunurlar uyarılmaları hipotansiyon oluşturabilecek histamin benzeri vazokaktif maddelerin salınımına sebep olur (Karaali ve Tabak, 2009).

Sonuç olarak proinflatuvar süreç enfeksiyöz etken tarafından tetiklenir ve patojenin etkisiz hale getirilmesine eşlik eder, ancak antiinflatuvar süreç dokuların iyileşmesi için konak tarafından aktif hale gelir. Bu mekanizmaların arasında dengesizlik olması, vücutta aşırı miktarda doku hasarına veya immüno-supresyona ve ikincil enfeksiyonlara eğilimli hale gelmeye neden olabilmektedir. Bu duruma organların tepkisi konakçının ve patojenin özelliklerine bağlıdır (Angus ve Van Der Poll, 2013).

### 3. Sepsiste Klinik Tablo

Sepsiste klinik tablo, enfeksiyöz etkenin giriş noktasına, mikroorganizma türüne, akut olarak gelişen organ fonksiyon kaybı durumuna, hastanın bağışıklık sisteminin etkinliğine ve tedavinin başlama zamanına göre değişiklik göstermektedir (Levy ve ark., 2003). Bakteriyeminin en önemli bulgusu 39°C'nin üzerinde seyreden ateştir. Taşikardi, taşipne, idrar çıkışında azalma, hastanın mental sağlığı ve düşük tansiyon gibi verilere bakarak SIRS gelişimi hakkında bilgi sahibi olunabilir (Nguyen ve ark., 2006). Sepsiste şiddetli enfeksiyondan şüphelenildiği durumlarda lökogram, kan gaz analizi, laktat ve koagülasyon testlerinin yapılması teşhis açısından kolaylık sunmaktadır (Bone ve ark., 1992). Lökositoz ve nörofil bakteriyel enfeksiyonlar için ayırt edicidir. Ancak duyarlılığı ve özgüllüğü düşük olduğu için yalnızca lökogram yapmak yeterli değildir. Hemogloblin ve hematokrit değerlerinin ölçülmesi de sepsisin teşhis edilemesinde faydalı olabilir (Levrant ve ark., 1997; Irmak ve ark., 2006).

Akut gelişen organ fonksiyon kayıpları, solunum yetmezliği, akut respiratör distres sendromu şeklinde kendini gösterir. Kardiyovasküler sistemdeki sıkıntılar ise düşük tansiyon veya serum laktat düzeyindeki artış şeklinde ortaya çıkar (Dellinger ve ark., 2013). Bu bozukluklara ek olarak böbrekler ve beyinde de birtakım değişiklikler ortaya çıkabilir. Merkezi sinir sisteminde gelişen fonksiyon kaybı, depresyon ve bilincin yitilmesi şeklinde ortaya çıkarken, akut böbrek hasarı ise idrar çıkışında azalma ve serum kreatinin düzeyindeki artış şeklinde kendini gösterir. Yine septik şoklu hastalarda paralitik ileus, aminotransferaz düzeyinde artış, trombositopeni ve yaygın damar

içi pıhtılaşma gözlemlenmektedir (Levy ve ark., 2003).

## 4. Sepsisin Tedavisi

Sepsiste etkinliği kanıtlanmış spesifik bir tedavi bulunmamaktadır. Ancak mortaliteyi azaltmak için antibiyotik kullanımını, sıvı sağaltımını, oksijen desteğini, pozitif inotrop ve vazopresor uygulamalarını içeren bir tedavi protokolü belirlenmiştir (Lee ve Levy, 2013).

### 4.1. Antibiyotik Uygulamaları

Uygulama mutlaka parenteral ve uygun dozda yapılmalıdır Antibiyogram sonuçlarına göre olmakla birlikte tercihen bakterisid ve geniş spektrumlu antibiyotikler seçilmelidir (Aygün, 2002; Lee ve Levy, 2013).

### 4.2. Oksijen Desteği

Sepsis durumunda solunum gücünün ve akciğer yetmezliği nedeniyle oksijen ihtiyacında bir artış gözlenir. Düşük düzeydeki oksijen doyumunu yanında yüksek laktat seviyesinin bulunuyor ise sistemik oksijen dağılımı ve doku oksijen tüketiminin uyumlu olmadığı anlaşılır. Hastalara en hızlı şekilde oksijen desteği sağlamak gerekir. Aynı zamanda kan transfüzyonu ve inotropik ajanlar da uygulanabilir (Aygün, 2002; Vieillard-Baron, 2011).

### 4.3. Sıvı Tedavisi

Septik şok durumunda, sıvı tedavisi öncelikle kan basıncının düzenlenmesi ve kardiyak output için önemlidir (Rivers ve ark., 2001). Sıvı kristalloidler ya da kolloidler vasıtası ile yerine konmaya çalışılabilir. Kolloid kullanımı sonucunda akciğer ödemi riskinin daha az olduğuna rastlanmıştır. Anemisi olan hastalarda şayet verilebiliyor ise taze kan ya da eritrosit süspansiyonu da bir seçenektir (Aygün, 2002). Sıvı tedavisi oldukça önemlidir ancak şiddetli sepsis olgularında aşırı miktarda sıvı verilmesi durumunda da akut akciğer hasarı ve serebral ödeme neden olabileceği bilinmektedir (Akyüz ve ark., 2017).

### 4.4. Vazoaktif Ajanlar

İnsanlarda bir kristalloid solusyonun 20-40 mL/kg dozda uygulanmasına rağmen hipotansiyon devam ediyor ise veya ortalama arter kan basıncı 65 mmHg'den düşükse, vazopresörler uygulanır (Rudis ve ark., 1996). Septik şoklu hastalarda norepinefrin ve dopamin ilk tercih edilen vazoaktif ajanlardır. Fakat dopamin doza bağlı olarak farklı etkiler gösterebilir. Norepinefrin ise sıvı sağaltımı ve dopamin uygulanmasına rağmen hipotansiyon varlığı devam ettiğinde kullanılabilir (Martin ve ark., 1993; Gürkan ve Çobanlı, 1999). Ayrıca kullanılacak diğer bir ajan fenilefrindir. Fenilefrin: Saf alfa adrenerjiktir. Kan basıncını arttırmaktadır (Gürkan ve Çobanlı, 1999).

#### 4.6. İnotropik Ajanlar

Yeterli volüm sağlandıktan ve ortalama arter basıncına ulaşıldıktan sonra oksijen doygunluğu devamlı şekilde %70'in altında seyrediyorsa, dobutaminin 2.5-20 µg/kg/dk dozda, oksijen doygunluğu %70'in üzerine çıkana kadar verilmesi tavsiye edilir. Bu vakalarda dobutaminle miyokard depresyonu tedavi edebilir (Qiu ve ark., 2001).

#### 5. Oksidatif Stres

Oksijen moleküllerinin metabolizma edilmeleri aşamasında serbest radikal kaynağı olarak adlandırılan ve yüksek derecede reaktivite özelliğine sahip olan ara ürünler ortaya çıkar. Bu radikaller, reaktif nitrojen türleri (RNS) ve reaktif oksijen türleri (ROS) olarak sınıflandırılır. Hidrojen peroksit, hipoklorik asit, ozon, süperoksit anyon radikali, hidroksil radikalleri reaktif oksijen türleri olarak isimlendirilip metabolik reaksiyonlar gerçekleşirken az miktarda üretilirler (Freeman ve Crapo, 1982; Gutteridge, 1995; Halliwell 1991). Serbest radikallerin sınıflandırılması oluşum şekline göre endojen ve eksojen kaynaklı olarak yapılır. Endotelial ve fagositik hücrelerde gerçekleşen oksidatif reaksiyonlar, yaşlılık, egzersiz, yağ oksidasyonu, immunolojik reaksiyonlar ve biyokimyasal redoks reaksiyonları endojen kaynaklı serbest radikal oluşum sebepleridir. Ultraviyole ışınları, çeşitli ilaçlar, radyasyon, stres, diyet, endüstriyel kirlenmeler gibi pek çok etken de eksojen kaynaklar olarak kabul edilirler. Reaktif oksijen metabolitleri oksidatif strese sebep olarak DNA, protein ve lipit hasarı sonucu hücrelerin ölümüne yol açmaktadır (Çaylak, 2011; Narin, 2012).

Oksijenli solunum yapan organizmalarda serbest radikallerin oluşumunu kontrol altında tutmak ve bu moleküllerin zararlı etkilerine engel olmak için antioksidan savunma sistemi vardır. Organizmanın antioksidan mekanizmalarının oksidatif stres karşısında yetersiz kalması durumunda oksidatif hasar gelişir ve hücre fonksiyonları önemli ölçüde sekteye uğrar. Bu mekanizmanın sonucu oluşan serbest radikaller, kalp damar sistemi hastalıkları, kanser, sepsis, nörodegeneratif hastalıklar, infertilite, akut renal yetmezlik, akciğer ve karaciğer hastalıkları, diyabet gibi pek çok patolojik durumun oluşumunda katkı sağlar (Aruoma, 1998; Gutteridge, 1995; Çaylak, 2011; Ercan ve Fidancı, 2012; Narin, 2012).

#### 6. Sepsiste Oksidatif Stres

Antioksidan-oksidan dengesinin bozulması şeklinde tanımlanan oksidatif stresin hücresel ve moleküler düzeyde doku hasarı oluşturduğu bilinmektedir (Tabakoğlu ve Durgut, 2013). Sepsisli hastaların kan parametrelerinde oksidatif hasarın belirteci olarak ksantin oksidaz aktivasyonu, artmış redoks reaktif demir, düşük konsantrasyonda endojen antioksidan ve eksojen antioksidanların anormal kullanımına rastlanmıştır (Macdonald ve ark., 2003; Koç ve ark.,

2020). Yapılan klinik çalışmalarda, kritik durumdaki hastalarda tiobarbitürik asit reaktif madde miktarının plazmada arttığı α-tokoferol düzeyinin ise azaldığı gözlenmiştir (Takeda ve ark., 1984; Macdonald ve ark., 2003). Sepsisli hastaların plazma antioksidan konsantrasyonları sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldığında; beta karoten, likopen A ve E vitamini miktarında düşme görüldüğü bildirilmiştir (Borrelli ve ark., 1996; Macdonald ve ark., 2003). Sağlıklı bireyler ve sepsisli hastaların kan parametrelerinin kıyaslandığı başka bir çalışmada, sepsisli hastaların kanlarında yüksek serbest radikal konsantrasyonu ve ksantin oksidaz aktivasyonuna rastlanmıştır (Macdonald ve ark., 2003).

#### 7. Antioksidanlar

Antioksidanlar, dışarıdan alınabilen ya da vücut tarafından sentezlenebilen, serbest radikaller ile çok hızlı reaksiyona girerek bu maddelerin organizmada oluşturduğu zararlı etkileri önleyen maddelerdir (Dündar ve Aslan, 1999). Endojen ve eksojen olarak sınıflandırılan antioksidanların endojen olanlarını enzimatik ve nonenzimatik şeklinde iki bölüme ayırmak mümkündür. Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) endojen antioksidanlardır. GSH-Px, sitoplazmada bulunan bir enzim olup hidrojen peroksidin sebep olduğu oksidatif hasara karşı koruma sağlar (Narin, 2012). CAT, en yoğun şekilde eritrositler ve karaciğerde bulunur ve hidrojen peroksidi su ve oksijene indirgeyerek etkinliğini gösterir (Çaylak, 2011). SOD ise hem sitozolde hem de mitokondrilerde bulunup süperoksit radikallerini moleküler oksijen ve hidrojen peroksit dönüşmesini sağlar (Narin, 2012). A, C ve E gibi vitaminler ise enzimatik olmayan antioksidanlardır. Bu vitaminler antioksidan özellik gösterip bağışıklık sistemini uyarırlar (Çaylak, 2011; Narin, 2012).

#### 8. İnflamasyon Sepsis İlişkisi

Sepsis oluşumuna sebebiyet veren eksojen ajanlara karşı, vücudun immun sistemi birtakım mediatörler oluşturur. Bu mediatörler hastalığın seyrinin belirlenmesinde ana faktörler olup bazı toksik etkilerinden ötürü endojen toksinler olarak bilinirler. Toksin özelliği gösteren endojen mediatörlerin hemodinamiyi bozucu etkileri sonucunda vasküler permeabilite artışı, yaygın organ yetmezliği ve sonucunda ölüm şekillenmektedir. Mikroorganizmaların yapısal bileşenleri, endotoksin ve ekzotoksinlerin etkisi ile vücutta hücresel ve humoral immun yanıt şekillenir. Bu bakteriyel hücresel yapı ve toksinler arasında en iyi bilineni gram negatif bakterilerin hücre duvarında yer alan lipopolisakkarid yapısındaki endotoksinlerdir (Özcan, 1996).

Endotoksin, sepsis oluşumu için en önemli yapılardan biridir ancak mantar ve gram pozitif bakteri hücre duvarı yapıları gibi yapılar da sepsis kaskadını başlatmakta etkili olabilirler. Sepsis, bakterilerin parçalan-

masıyla LPS ya da diğer toksik hücre duvarı bileşenlerinin dolaşıma salınması ile tetiklenir, bu durum septik şokun başlamasına neden olan ilk olaydır. Gram negatif bakterilerin lizisi sonucu dolaşıma geçen LPS'nin aktivitesi bir glikoprotein olan lipopolisakarid bağlayıcı protein (LPB) vesilesiyle gerçekleşir ki LPB karaciğerde sentez edilen bir akut faz proteindir. Daha sonra LPS, LPB aracılığıyla makrofaj ve monositlerin yüzeyinde bulunan CD14 reseptörüne aktarılır. Plazma membranında bulunan mCD14 gibi dolaşımda bulunan sCD14 de LPB'ye bağlanmak suretiyle LPS'nin oluşturduğu etkilere aracılık eder. Reseptörlerin bağlanmasından sonra pek çok genin aktivasyonu gerçekleşir bu da ikincil mesajcı yollarının (protein kinaz, nükleer faktör kappa beta ve protein kinaz) harekete geçmesi ile olur (Ural, 2007). Lipopolisakaridin etkileri sonucunda konak vücudunda üç farklı mekanizma oluşur. Bunlardan ilki, sitokinlerin makrofaj, monosit gibi hücrelerden salınması ve bu maddelerin lökotrien ve prostaglandin salınımını tetiklemesidir. İkincisi, koagülasyon kaskadının harekete geçmesi ve sonucusu da kompleman sisteminin aktivasyonudur. Normalde bu sistemlerin tamamı organizmayı korumak görevinde iken, sepsis durumunda organizmaya zarar verir hale gelirler (Özcan 1996).

## 9. Deneysel Sepsis Modelleri

### 9.1. Lipopolisakarid verilmesiyle gerçekleştirilen septik şok modeli

Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarından elde edilen glikolipid yapıdaki lipopolisakaridin deney hayvanlarına verilmeleri ile oluşturulan septik şok modelidir (Koç ve ark., 2015). İlgili kaynaklarda endotoksin ve lipopolisakarid aynı anlamda kullanılırlar ancak aralarında birtakım farklar bulunmaktadır. Lipopolisakaridin yapısı saflaştırılmış glikolipiddir. Endotoksinde ise lipopolisakaridin yanında düşük oranda hücre duvarı proteinleri, lipidler, lipoproteinler ve polisakaridler bulunmaktadır. Lipopolisakarid *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*, gibi pek çok gram negatif bakteriden elde edilebiliyor olmasına rağmen deneysel çalışmalar için *Escherichia coli*'den elde edilen lipopolisakaridler önem kazanmıştır. Bu grupta, O55:B5, O26:B6, O111:B4 benzeri değişik serotiplere sahip farklı suşlardan elde edilmiş lipopolisakarid türleri bulunmaktadır (İskit, 2001).

### 9.2. Çekal ligasyon ve delme modeli (CLP)

Önceleri ratlarda tarif edilmiştir fakat koyun ve farelerde de uygulanmıştır. Genel anestezi altındaki hayvanda çekum barsak geçişini bozmadan ligatüre edilir ve daha sonra ligatüre edilmiş kısım bir enjektör iğnesi yardımıyla bir ya da iki kez delinir. Çekumdan feçes çıkışı ile birçok mikroorganizmanın katıldığı bir septik şok modeli oluşturulmuş olur. Operasyondan

sonra karın boşluğu kapatılır ve hayvanların cilt altına ağırlıkları ile orantılı şekilde sıvı verilir (İskit, 2001).

### 9.3. İntravenöz veya intraperitoneal canlı bakteri uygulanması

Bu model özellikle *Escherichia coli* uygulanmak suretiyle oluşturulur. Uygulanacak bakteriler bir defada infüzyon ile verilebilir. Doğal oluşan septik şokta konağın kısa süre içinde benzer yüksek oranda patojene maruz kalmaması bu model için en büyük olumsuzluğu oluşturur. *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella* ile intraperitoneal uygulama yapılabilir bu uygulama sıçanlarda ilk 24 saatte %100 ölümlü sonuçlanmaktadır. Hızlı ölümlerin önüne geçmek için periton içine yavaş salınım yaparak bakteri açığa çıkaran, ozmotik mini pompa benzeri sistemler konulmuş ve bu sistemler ile ölümler 18-20 güne kadar uzatılmıştır (İskit, 2001).

## Sonuç

Sepsis, bakteriyemiden başlayarak; septik şok ve organ yetmezliği hatta ölüme sebep olabilen bir inflammatuar yanıt sendromudur (Aygün, 2002). Daha çok gram negatif bakterilerle enfeksiyon sonucunda oluşmaktadır çünkü gram negatif bakteri hücre duvarında bulunan lipopolisakarid yüksek toksik özellik gösteren bir maddedir (Ural, 2007). Lipopolisakaridin konak vücuduna salınması makrofajlardan sitokin salınımını ve kompleman sistemi uyarır (Koç ve ark., 2020). Bu sistemlerin normalde görevi organizmayı stabil tutmaktır fakat sepsis olduğu hallerde miktarlarında aşırı artış olmasıyla zararlı hale gelirler (Özcan, 1996). Sepsisin hipotansiyon, ateş, solunum sayısında artış gibi belirtileri vardır ve antibiyotik uygulamaları, oksijen desteği, sıvı desteği gibi uygulamalar ile bu klinik tablo yenilmeye çalışılır (Lee ve Levy, 2013). Oksijen moleküllerinin metabolizasyonu sırasında serbest radikal kaynağı olarak bilinen reaktif ara ürünler oluşur bu ürünler organizmada hasar yaparak hücrelerin ölümüne sebep olurlar. Bu ürünlerin organizmadaki zararlı etkilerini önlemek için endojen ve eksojen antioksidanlar kullanılır (Narin, 2012). Uygulanan tedavi protokollerine rağmen sepsisin hala yüksek bir ölüm oranı ile seyretmesi septik şok ile yürütülen klinik çalışmaları çok önemli kılmaktadır. Bu sebeple deneysel sepsis modelleri ile sepsisin tedavisi ile ilgili yol kat edilmeye çalışılmaktadır.

## Kaynaklar

- Akyıldız Ö, Beşli Y, Kocagöz AS. Yoğun bakım ünitesinde bakteriyemi tanısı ile takip edilen hastaların değerlendirilmesi. Cukurova Med J 2019; 44(1): 521-8.
- Akyüz E, Naseri A, Erkilic EE, Makav M, Uzlu E, Kırmızıgül AH, Gökçe G. Neonatal buzağı ishalleri ve sepsis. KAUFBED 2017; 10(2): 181-91.

- Angus DC, Van Der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2013; 369: 840-51.
- Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc* 1998; 75(2): 199-212.
- Aygün G. Sepsis ve septik şok. Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinlerde toplumdaki edinilmiş enfeksiyonlar. Sempozyum Dizisi No:312002; 131-40.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RMH, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 1992; 101: 1644-55.
- Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: A new hypothesis for pathogenesis of the disease process. *chest* 1997; 112: 235-43.
- Borrelli E, Roux-Lombard P, Grau GE, Girardin E, Ricou B, Dayer J, Suter PM. Plasma concentrations of cytokines, their soluble receptors, and antioxidant vitamins can predict the development of multiple organ failure in patients at risk. *Crit Care Med* 1996; 24: 392-7.
- Cecconi M, DeBacker D, Antonelli M, Beale R, Bakker B, Hofer C, Jaeschke R, Mebazaa A, Pinsky MR, Teboul JL, Vincent JL, Rhodes A. Consensus on circulatory shock and hemodynamic monitoring. Task force of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med* 2014; 40: 1795-815.
- Çaylak E. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi* 2011; 9(1): 73-83.
- Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2013; 41: 580-637.
- Dündar Y, Aslan R. Oksidan-antioksidan denge ve korunmasında vitaminlerin rolü. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* 1999; 1(2): 32-9.
- Ercan N, Fidancı UR. Piyodermalı köpeklerde idrarda 8-hidroksi-2' deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri. *Ankara Üniv Vet Fak Dergisi* 2012; 59: 163-8.
- Freeman BA., Crapo JD. Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982; 47: 412-6.
- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-28.
- Gürkan Ö, Çobanlı B. Sepsis ve septik şok. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası 1999; 1: 41-4.
- Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91(3): 14-22.
- Irmak K, Sen I, Col R, Birdane FM, Guzelbektes H, Civelek T, Yılmaz A, Turgut K. The evaluation of coagulation profiles in calves with suspected septic shock. *Vet Res Comm* 2006; 30: 497-503.
- İskit AB, Guc MO. The timing of endothelin and nitric oxide inhibition affects survival in a mice model of septic shock. *Eur J Pharmacol* 2001; 414: 28187.
- Janeway CA Jr, Medzhitov R. Introduction: The role of innate immunity in the adaptive immune response. *Semin Immunol* 1998; 10: 349-50.
- Karaali R., Tabak F. Sepsis patogenezi. *Klinik Gelişim Dergisi* 2009; 3: 71-7.
- Koç F, Atila A, Karakuş E, Üney K. Influences of flunixin and tenoxicam on the pharmacokinetics of florfenicol in lipopolysaccharide-induced endotoxemia. *Turk J Vet Anim Sci* 2015; 39: 168-73.
- Koç F, Tekeli MY, Kanbur M, Karayigit MÖ, Liman BC. The effects of chrysin on lipopolysaccharide-induced sepsis in rats. *J Food Biachem* 2020; 44 (9): 13359.
- Landmann R, Zimmerli W, Sansano S, Link S, Hahn A, Glauser MP, Calandra T. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in gram-negative septic shock. *J Infect Dis* 1995; 171: 639-44.
- Lee J, Levy MM. Treatment of patients with severe sepsis and septic shock: Current evidence-based practices. *R I Med J* 2013; 102(10):18-21.
- Levrant J, Bounatirou T, Ichai C. Reliability of anion gap as an indicator of blood lactate in critically ill patients. *Intensive Care Med* 1997; 23: 417-22.
- Levy MM, Fink MP, Marshall JC. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. *Intensive Care Med* 2003; 29: 530-8.
- Macdonald J, Galley HF, Webster NR. Oxidative stress and gene expression in sepsis. *Br J Anaesth* 2003; 90(2): 221-232.

- Martin C, Papazian L, Perrin G. Norepinephrine or dopamine for the treatment of hyperdynamic septic shock? *Chest* 1993; 103: 1826-31.
- Narin B. Oksidatif stres ve antioksidanlar. Oksidatif Stres Analiz Parametreleri ve Oksantest 2012; Oksante Ar-Ge Laboratuvarı. [https://www.academia.edu/24930021/OKS%C4%B0DAT%C4%B0F\\_STRES\\_VE\\_ANT%C4%B0OKS%C4%B0DANLAR](https://www.academia.edu/24930021/OKS%C4%B0DAT%C4%B0F_STRES_VE_ANT%C4%B0OKS%C4%B0DANLAR); Erişim Tarihi: 02.10.2021.
- Nguyen HB, Corbett SW, Menes K, Cho T, Daugharty J, Klein W, Wittlake WA. Early goal-directed therapy, corticosteroid, and recombinant human activated protein c for the treatment of severe sepsis and septic shock in the emergency department. *Acad Emerg Med* 2006; 13: 109-13.
- Osterbur K, Mann FA, Kuroki K, DeClue A. Multiple organ dysfunction syndrome in humans and animals. *J Vet Intern Med* 2014; 28: 1141-51.
- Otto CM. Sepsis in veterinary patients: What do we know and where can we go? *J Vet Emerg Crit Care* 2007; 17: 329-32.
- Özcan C, Hasanoğlu A, Gülcüler M. Sepsis ve inflamasyon mediatörleri. *Turgut Özal Tıp Merk Derg* 1996; 3(4): 374-81.
- Özkanlar S, Koç F, Karakuş E, Güvenalp Z, Oruç E, Özbek H. The protective effects of peganum harmala extract on lung and kidney in sepsis induced by cecal ligation and perforation in rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2015; 21(3): 367-75.
- Qiu HB, Yang, Y, Zhou SX. Prognostic value of dobutamine stress test in patients with septic shock. *Acta Pharmacol Sin* 2001; 22: 71-5.
- Rivers EP, Ander DS, Powell D. Central venous oxygen saturation monitoring in the critically ill patient. *Curr Opin Crit Care* 2001; 7(3): 204-11.
- Rudis MI, Basha MA, Zarowitz BJ. Is it time to reposition vasopressors and inotropes in sepsis? *Crit Care Med* 1996; 24: 525-537.
- Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med* 2006; 355: 1699-713.
- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Belleme R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, Can Der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock. *JAMA* 2016; 315: 801-10.
- Tabakoğlu E, Durgut R. Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. *AVKAE Dergisi* 2013; 3(1): 69-75.
- Takeda K, Shimada Y, Amano M, Sakai T, Okada T, Yoshiya I. Plasma lipid peroxides and alpha-tocopherol in critically ill patients. *Crit Care Med* 1984; 12: 957-9.
- Ural O. Sepsis fizyopatolojisi ve alternatif tedaviler. *Yoğun Bakım Dergisi* 2007; 7(1): 173-7.
- Vieillard-Baron A. Septic cardiomyopathy. *Ann Intensive Care* 2011; 1: 6.
- Worthley LIG. Shock: A review of pathophysiology and management Part II. *CC&R2000*; 2: 66-84.
- Wright SD, Detmers PA, Aida Y, Adamowski R, Anderson DC, Chad Z, Kabbash LG, Pabst MJ. CD 18-deficient cells respond to lipopolysaccharide in vitro. *J Immunol* 1990; 144(7): 2566-71.
- Yorgancı K. Sepsis patofizyolojisi. *Türk Yoğun Bakım Dergisi* 2005; 5(2): 80-4.





## MikroRNA Ekspresyon Profillemesinde Yaygın Kullanılan Normalizasyon Yaklaşımları

Ali Osman TURGUT<sup>1,a</sup>, Özgecan KORKMAZ AĞAOĞLU<sup>2,b</sup>

<sup>1</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Burdur-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Burdur-TÜRKİYE

ORCID : <sup>a</sup>0000-0001-6863-0939; <sup>b</sup>0000-0002-7414-1725

**Corresponding author:** Ali Osman TURGUT; E-posta: aoturgut@mehmetakif.edu.tr

**How to cite:** Turgut AO, Korkmaz Ağaoğlu Ö. MikroRNA ekspresyon profillemesinde yaygın kullanılan normalizasyon yaklaşımları. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(2): 152-159

**Öz:** MikroRNA (miRNA) ekspresyonlarının belirlenmesinde RT-qPCR, mikroarray platformları ve miRNA dizileme en yaygın kullanılan tekniklerdir. Tüm bu tekniklerin kullanıldığı çalışmalarda en önemli hususlardan biri verilerin uygun normalizasyon yöntemi ile normalize edilmesidir. Normalizasyon ile biyolojik ve teknik varyasyonların sonuçlar üzerine olan etkisinin elimine edilmesi amaçlanmaktadır. MiRNA ekspresyonu çalışmalarında, farklı tekniklerden elde edilen verilerin normalizasyonunda kullanılan çok sayıda normalizasyon yaklaşımı kullanılmaktadır. Bu derlemede, miRNA ekspresyonu çalışmalarında en yaygın kullanılan normalizasyon yaklaşımları hakkında bilgiler özetlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Mikroarray, mikroRNA, miRNA dizileme, normalizasyon, RT-qPCR

### Commonly Used Normalization Approaches in MicroRNA Expression Profiling

**Abstract:** RT-qPCR, microarray platforms and miRNA sequencing are the most common techniques used to determine microRNA (miRNA) expressions. One of the most important issues in studies these techniques are used is the normalization of the data by using appropriate normalization method. The purpose of normalization is to eliminate the effects of biological and technical variations on study results. Numerous normalization approaches are used for normalization of data obtained from different techniques in miRNA expression studies. In this review, information about the most commonly used normalization approaches in miRNA expression studies is summarized.

**Keywords:** Microarray, microRNA, miRNA sequencing, normalization, RT-qPCR

### Giriş

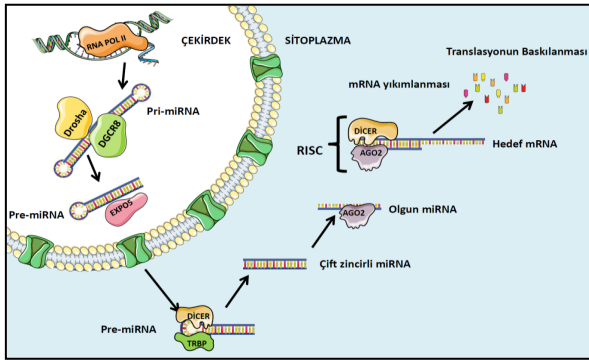
miRNA'lar; yaklaşık 18-22 nükleotid uzunluğunda, gen ekspresyonlarının transkripsiyon sonrası baskılanmasında rol oynayan ve kodlama yapmayan RNA sınıfına dahil olan RNA'lardır (Faraldi ve ark., 2018). MiRNA'lar hedef genlerin ekspresyonunu düzenleyerek önemli biyolojik yollarda etkili olmaktadır (Qureshi ve Sacan, 2013; Sidekli ve Korkmaz Ağaoğlu, 2019). Ayrıca, miRNA'ların değişen ekspresyon düzeyleri kanser ve bazı önemli patolojik olaylarla da ilişkili olabilmektedir (Heneghan ve ark., 2010; Lange ve ark., 2017). MiRNA gen ekspresyonlarının belirlenmesinde gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (real time quantitative polymerase chain reaction; RT-qPCR), miRNA mikroarray platformları ve miRNA dizileme tekniklerinden yararlanılmaktadır (Saliminejad ve ark., 2019). Bu tekniklerden elde edilen sonuçların güvenilir olabilmesi için uygun normalizasyon yaklaşımı ile verilerin normalize edilmesi gerekmektedir. Normalizasyon, biyolojik varyasyonların ve deneysel uygulamalar sırasında oluşan farklılıkların sonuçlara olan etkisini en az düzeye indirge-

mek için gereklidir (Bustin ve ark., 2009). Bu nedenle; gen ekspresyonu çalışmalarında normalizasyon amacıyla çok sayıda yaklaşım geliştirilmiştir (Livak ve Schmittgen, 2001; Qureshi ve Sacan; 2013; Tam ve ark., 2015). Bu yaklaşımlardan bazıları kullanılan moleküler tekniğe özeldir (Livak ve Schmittgen, 2001; López-Romero ve ark., 2010; Robinson ve ark., 2010). Bazı normalizasyon yaklaşımları ise, birden fazla teknikte bazı modifikasyonlarla kullanılabilir (Bolstad ve ark., 2003; Ritchie ve ark., 2015; Tam ve ark., 2015). Bu derlemede, miRNA gen ekspresyonu çalışmalarında kullanılan moleküler teknikler ve normalizasyon yaklaşımları hakkında bilgiler verilmiştir.

### miRNA'ların biyogenezi

miRNA'lar kodlama yapmayan RNA'lardır. Bu sınıftaki RNA'lar gen ekspresyonlarının transkripsiyon sonrası düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Faraldi ve ark., 2018). Biyogenezde ilk olarak; miRNA gen bölgesi RNA polimeraz II enzimi tarafından transkripsiyona uğramakta ve stem-loop (gövde ilmek) yapıda primer transkript (pri-miRNA) sentezlenmektedir. Pri-miRNA'lar; çekirdekte bulunan Drosha enzimi ve onun kofaktörü (DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8; DiGeorge syndrome critical region 8; DGCR8) tara-

findan kesilerek, yaklaşık 60 baz uzunluğunda prekürsör-miRNA'ya (precursor-miRNA; pre-miRNA) dönüştürülmektedir (Lee ve ark., 2003; Faraldi ve ark., 2018). Oluşan miRNA'lar çekirdek porlarından sitoplazmaya, Ekspörtin 5-Ran-GTP kompleksi aracılığıyla taşınmaktadır (Lund ve ark., 2004). Stoplazmaya taşınan pre-miRNA'lar, Dicer enzimi tarafından kesilerek yaklaşık 22 nükleotit uzunluğundaki çift zincirli (double-stranded RNA; dsRNA) miRNA'lara dönüştürülmektedir (Faraldi ve ark., 2018). Oluşan dsRNA'lar; helikaz enzimi tarafından tek zincirli hale dönüştürülmektedir. Olgun miRNA stem-loop yapısının 5' kolundan sentezlenirse "5p", 3' kolundan sentezlenirse "3p" ifadesi miRNA isminin sonuna eklenmektedir. Tek zincir yapıdaki olgun miRNA'lar; RNA ile uyarılan susturma kompleksine (RNA induced silencing complex; RISC) bağlanmaktadır. RISC; Dicer proteini ve mRNA'yı hedef alan argonat-2 (AGO2) proteininden oluşmaktadır (Faraldi ve ark., 2018). RISC; tam anlamıyla bir eşleşme olması durumunda mRNA'yı parçalamaktadır. Kısmi bir eşleşme olması durumunda ise RISC; hedef mRNA'nın translasyonunu baskılamaktadır (Qureshi ve Sacan, 2013). MiRNA'ların hedef mRNA'larla eşleşmesi çoğunlukla; 5' uçta yer alan 2-8 baz uzunluğundaki çekirdek (seed) dizilerin eşleşmesiyle olmaktadır. Bu çekirdek dizilerin birden fazla genin mRNA'sı ile eşleşebilmesi nedeniyle tek bir miRNA çok sayıda genin ekspresyonunu etkileyebilmektedir (Hammond, 2015).



**Şekil 1.** miRNA'ların biyogenezini. Şekil, Servier Medical Art görselleri kullanılarak hazırlanmıştır (<https://smart.servier.com>).

## miRNA ekspresyonu analiz yöntemleri

### 1- RT-qPCR

RT-qPCR miRNA gen ekspresyon düzeylerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Mestdagh ve ark., 2009; Sidekli ve Korkmaz Ağaoğlu, 2021). MiRNA'ların az sayıda nükleotit içermeleri; miRNA'ların izolasyonu, kalite ve kantite kontrolleri, komplementer DNA (complementary DNA; cDNA) sentezi ve PCR reaksiyonu gibi aşamalarında farklı yaklaşımların ele alınmasına neden olmuştur

(Redshaw ve ark., 2013; Schwarzenbach ve ark., 2015; Sidekli ve Ağaoğlu, 2021). RT-qPCR tekniğinde, özgün olmayan floresan boyalar veya özgün prob dizaynı ile miRNA'ların kantifikasyonu gerçekleştirilmektedir. RT-qPCR reaksiyonu sonrası elde edilen veriler, hedef bölgenin yükseltgenmesiyle açığa çıkan floresan ışımının tespit edilebildiği siklus eşik değerleridir (cycle threshold; Ct). MiRNA çalışmalarında 35'ten küçük Ct değerleri dikkate alınmaktadır. Bunun sebebi tek bir miRNA kopyası olması durumunda dahi floresan sinyalinin en fazla 35. PCR siklusunda tespit edilebilir düzeye ulaşmasıdır (Mestdagh ve ark., 2009). Elde edilen ham Ct değerleri referans (housekeeping) genlerin kullanımı (Izumi ve ark., 2012) veya diğer normalizasyon yaklaşımları ile normalize edilerek verilerin istatistiksel analizi gerçekleştirilmektedir (Mestdagh ve ark., 2009; Qureshi ve Sacan, 2013).

### 2- Mikroarray platformları

Gen ekspresyonu çalışmalarında, cDNA mikroarray platformları ve oligonükleotid mikroarray platformları olmak üzere iki farklı mikroarray platformu kullanılmaktadır (Mandruzzato, 2007). Gen ekspresyonu çalışmalarında kullanılan mikroarray platformları DNA array, DNA çip, biyo çip ve gen çip olarak da isimlendirilmektedir (Gershon, 2002). Bu mikroarray platformları belirli bir hücre veya doku örneğinde ekspresyon olan çok sayıda genin ekspresyon düzeyinin belirlenmesine olanak tanımaktadır. Mikroarray platformlarında çapı 200 µm'den küçük olan binlerce gözenek bulunmaktadır. Bu gözenekler cDNA veya oligonükleotid problemlerini içermektedir ve özel lazer tarayıcılarla okunmaktadır (Gershon, 2002). Mikroarray platformlarında tarayıcı tarafından okunan floresan ışımaya değerleri farklı normalizasyon yaklaşımları ile normalize edildikten sonra gen ekspresyon değişimleri analiz edilmektedir. MiRNA mikroarray platformlarının en büyük dezavantajı inceleme de yüksek miktarda RNA örneğine ihtiyaç duyulmasıdır. Prob sinyallerinin güvenilir bir şekilde değerlendirilebilmesi için yaklaşık 10 µg total RNA örneğine ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir (Mandruzzato, 2007).

### 3- miRNA dizileme tekniği

MiRNA dizileme (miRNA sequencing; miRNA-seq), yeni nesil sekanslama temelli bir yaklaşımdır. Bu yaklaşımda analiz, diğer yöntemlerden farklı olarak genellikle zenginleştirilmiş miRNA'lar ile gerçekleştirilmektedir (Saliminejad ve ark., 2019). Bu yöntem pahalı bir yöntem olmasının yanı sıra veri analizi ve yorumlamasındaki zorluklar nedeniyle bazı dezavantajları bulunmaktadır (Pritchard ve ark., 2012). Ancak yeni nesil sekanslama platformlarının sayısının artması bu yöntemin maliyetinin düşmesini ve miRNA ekspresyon profillerinin değerlendirilmesinde miRNA-seq tekniğinin daha yaygın kullanımını mümkün hale getirmektedir (Tam ve ark., 2015). MiRNA dizileme



platformlarında genel analiz şeması; kısa okumaların belirlenmesi, düşük kaliteli okumaların ve adaptör dizilerinin filtrelenmesi, filtrelenen dizilerin bir referans dizi ile tespit edilmesi (bu aşamada miRBase veya genom veri tabanlarından yararlanılmaktadır), miRNA ekspresyon düzeyinin belirlenmesi, verilerin normalize edilmesi ve miRNA biyolojik fonksiyonlarına ilişkin analizlerin gerçekleştirilmesi aşamalarından oluşmaktadır (Tam ve ark., 2015). MiRNA dizileme yeni miRNA'ların keşfinin yanısıra (Metpally ve ark., 2013), miRNA mutasyonlarının tespitine de olanak tanımaktadır (Pritchard ve ark., 2012).

### RT-qPCR verilerinin normalizasyonu

RT-qPCR çalışmalarında; örnek toplama ve hazırlanması, RNA izolasyonu, PCR etkinliği ve ters transkripsiyon reaksiyonu sırasındaki farklılıklar ve hatalar sonuçların güvenilirliği açısından risk teşkil etmektedir. Bu hataları en az düzeye indirmek için uygun bir normalizasyon metodu ile elde edilen verilerin normalize edilmesi gerekmektedir (Bustin ve ark., 2009). Veri normalizasyonu sadece mRNA'lar değil, miRNA gen ekspresyonu çalışmalarında da gereklidir (Meyer ve ark., 2010). MiRNA RT-qPCR verilerinin normalizasyonunda farklı yaklaşımlar kullanılmaktadır (Livak ve Schmittgen, 2001; Mestdagh ve ark., 2009; Qureshi ve Sacan, 2013).

### Referans genler ile normalizasyon

RT-qPCR çalışmalarında normalizasyon amacıyla referans genlerin kullanımı altın standart olarak kabul edilmektedir (Faraldi ve ark., 2018). İdeal bir referans genin farklı dokularda, patolojik koşullarda, hücre döngüsü aşamalarında ve fizyolojik süreçlerde ekspresyonunun stabil olması sahip olması istenmektedir (Dheda ve ark., 2005). RT-qPCR çalışmalarında kullanılan referans genler genel olarak temel hücre fonksiyonlarının sürdürülebilmesi için gerekli olan, fizyolojik ve patolojik koşullarda ekspresyonu stabil olan genlerdir (Zhu ve ark., 2008). MiRNA RT-qPCR verilerinin normalizasyonunda da referans gen yaklaşımı yaygın olarak kullanılmaktadır (Schwarzenbach ve ark., 2015). RT-qPCR çalışmalarında normalizasyon işleminden önce çalışılan dokuda referans gen adaylarının stabilitesi farklı bilgisayar programları ile değerlendirilmektedir (Korkmaz Ağaoğlu ve Sidekli, 2020; Mestdagh ve ark., 2009; Qureshi ve Sacan, 2013). Bu amaçla en yaygın olarak kullanılan programlar; geNorm, NormFinder ve BestKeeper programlarıdır (Faraldi ve ark., 2018). MiRNA çalışmalarında çalışılan dokuda belirlenen en stabil olan referans genler ile verilerin normalizasyonu yoluna gidilmektedir (Faraldi ve ark., 2018; Inyawilert ve ark., 2015; Zhang ve ark., 2017).

MiRNA RT-qPCR verilerinin normalizasyonunda endojen referans genler veya sentetik spike-in miRNA'lar kullanılmaktadır. Normalizasyon amacıyla en yaygın kullanılan endojen referans genler; miR-93,

miR-425 (Zalewski ve ark., 2017), miR-191 (Zheng ve ark., 2013), miR-320, miR-16 (Schwarzenbach ve ark., 2015), miR-221, miR-26a (Zhu ve ark., 2012), küçük kodlama yapmayan RNA genleri (RNU6, RNU43, RNU44, RNU48) (Inyawilert ve ark., 2015; Donati ve ark., 2019) ve ribozomal RNA genleridir (5S rRNA ve 18S rRNA) (Montenegro ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2017). Yaygın olarak kullanılan spike-in miRNA'lar ise; *Coehabtidis Elegans* (cel) miR-39, cel-miR-54, cel-miR-238'dir (Izumi ve ark., 2012).

RT-qPCR çalışmalarında genlerin mutlak (absolute) ve relatif (relative) ekspresyon düzeyleri belirlenmektedir. Ancak, RT-qPCR çalışmalarının çoğunda genlerin relatif ekspresyon düzeyi saptanmaktadır (Schwarzenbach ve ark., 2015). Relatif ekspresyon düzeyi deneysel bir gruptaki hedef bölgenin PCR sinyalinin, kontrol grubundaki PCR sinyaline kıyaslanması ile belirlenebilmektedir (Livak ve Schmittgen, 2001). Livak ve Schmittgen (2001) tarafından geliştirilen delta delta Ct ( $\Delta\Delta Ct$ ) matematiksel modeli genlerin relatif ekspresyon düzeylerinin belirlenmesinde en yaygın kullanılan modeldir. Bu modelde relatif ekspresyon;  $\Delta Ct = Ct$  (hedef gen) -  $Ct$  (referans gen),  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$  (çalışma grubu) -  $\Delta Ct$  (kontrol grubu) formülü ile belirlenmektedir. Çalışılan bir genin kontrol grubuna kıyasla ekspresyon düzeyinin değişimi ise kat değişimi (fold change; FC) olarak isimlendirilmektedir. Bir genin ekspresyon düzeyi değişimi;  $FC = 2^{-\Delta\Delta Ct}$  formülasyonu ile hesaplanmaktadır (Livak ve Schmittgen, 2001). MiRNA gen ekspresyonlarının araştırıldığı çalışmalarda bu matematiksel model sıklıkla kullanılmaktadır (Inyawilert ve ark., 2015; Zhang ve ark., 2017).

### Global ortalama normalizasyonu

MiRNA RT-qPCR verilerinin normalizasyonunda kullanılan diğer bir yöntem; global ortalama normalizasyon (global mean normalization) yöntemidir. Bu yöntemde, bir örnek içerisindeki tüm genlerin Ct değerleri ortalaması endojen kontrol olarak kullanılmaktadır.  $\Delta Ct$  değeri, genlerin Ct değerlerinin bu ortalama Ct değerinden çıkarılmasıyla elde edilmektedir (Mestdagh ve ark., 2009). Global ortalama yaklaşımında yüksek Ct değerlerine sahip genler olması durumunda varyasyonun artacağı ve örnek içerisinde çok düşük miktarlarda bulunan miRNA'ların kantifikasyonunda güvenilir olmadığı belirtilmektedir (Qureshi ve Sacan, 2013).

### Ağırlıklı ortalama normalizasyonu

Ağırlıklı ortalama (weighted mean) normalizasyonu Ct varyasyonlarını da normalizasyona dahil eden bir yaklaşımdır. Bu yaklaşımda, tüm örneklerde bir genin Ct değerinin standart sapmasının tersi alınarak ağırlıklı ortalama gücü (weighted mean power; wmp) hesaplanmaktadır. Bu değer tüm genler için standart sapma değerlerinin tersinin toplamına bölünmektedir. Bu değer ile bir örnekteki tüm ham Ct değerlerinin

toplamı çarpılarak  $Ct_0$  değeri hesaplanmaktadır.  $Ct_0$  değeri;

$$Ct_0 = \sum_j^n x \left( \frac{1}{STD(Ct_j)} \right) / \sum_{i=1}^n 1/STD(Ct_i)$$

formülasyonuna göre belirlenmektedir (Qureshi ve Sacan, 2013).  $\Delta Ct$  değeri ise, her bir genin  $Ct$  değerinden  $Ct_0$  değerinin çıkarılmasıyla hesaplanmaktadır. Bu yöntemin, standart sapma değeri düşük olan genlerin normalizasyondaki ağırlığını artırdığı ifade edilmektedir. Ayrıca düşük ve yüksek ekspresyon düzeyine sahip miRNA'ların kantifikasyonunda normalizasyon amacıyla kullanılabileceği bildirilmiştir (Qureshi ve Sacan, 2013).

### Mikroarray verilerinin normalizasyonu

Mikroarray platformlarında; RNA örneklerinin hazırlanması, floresan işaretleme, hibridizasyon, yıkama aşamasındaki uygulamalar ve bazı teknik problemler sonuçlarda farklılıklara neden olabilmektedir (Meyer ve ark., 2010). Bu nedenle, miRNA mikroarray verilerindeki bu farklılıkları en az düzeye indirmek için veriler normalize edilerek sonuçlar değerlendirilmektedir. Bu amaçla yaygın kullanılan normalizasyon yaklaşımları; toplam gen sinyali, üst çeyrek normalizasyonu, kuantil normalizasyon, medyan normalizasyonu, RMA (robust microarray algorithm) ve siklik loess (cyclic locally estimated scatterplot smoothing veya cyclic local regression) yaklaşımıdır.

### Toplam gen sinyali

Oligonükleotid problemlerinde genelde her bir miRNA'nın birkaç farklı kopyası bulunmaktadır. Agilent mikroarray platformlarında bu birkaç kopyanın floresan sinyallerinin ortalaması alınarak toplam gen sinyali değeri (total gene signal; TGS) hesaplanmaktadır (López-Romero ve ark., 2010). Oligonükleotid mikroarray platformlarındaki prob hücreleri, iki farklı oligonükleotid probu (perfect match; PM; mis-match; MM) içermektedir. Aynı hücredeki bu iki farklı prob sadece bir baz farklılığa (13. baz) sahiptir (Mandrizzato, 2007). TGS, PM floresan sinyali değerinin MM floresan sinyali değerinden çıkarılması ile hesaplanmaktadır. Hesaplanan bu TGS direkt olarak istatistiksel analizde kullanılabilir (López-Romero ve ark., 2010). Ancak bu değer bazı miRNA problemlerinde MM floresan sinyalinin PM floresan sinyalinden yüksek olması nedeniyle negatif değer alabilmektedir. Böyle durumda, minimum TGS değerinin eklenmesiyle negatif değerler pozitif hale gelmektedir. Bu aşamadan sonra elde edilen veriler log<sub>2</sub> tabanında değerlere dönüştürülerek değerlendirilmektedir (López-Romero ve ark., 2010).

### Üst çeyrek normalizasyonu

Bu yöntemde TGS değerlerindeki 75. yüzdellik değer

(75<sup>th</sup> percentile) baz alınarak normalizasyon gerçekleştirilmektedir. MiRNA mikroarray platformlarının kullanıldığı çalışmalarda 75. yüzdellik değer üst çeyrek (upper quartile) veya üçüncü çeyrek (third quartile; Q3) olarak da isimlendirilmektedir (Pradevand ve ark., 2009). Her bir miRNA için elde edilen TGS sinyallerinin bu değere bölünmesiyle veriler normalize edilmektedir. Normalizasyon sonrası veriler log<sub>2</sub> tabanına dönüştürülerek sonuçlar değerlendirilmektedir. Bu yaklaşımın normalize edilmemiş TGS yaklaşımına kıyasla, verilerin standart sapma değerini azalttığı ve sonuçlarının güvenilirliğini artırdığı ifade edilmektedir (Pradevand ve ark., 2009; López-Romero ve ark., 2010).

### Kuantil normalizasyon

Kuantil normalizasyonda tüm mikroarray platformunda prob floresan sinyal yoğunluğunun değişmeyeceği varsayılmaktadır. Bu nedenle elde edilen floresan sinyal yoğunlukları kuantil normalizasyon yöntemiyle eşitlenerek elde edilen yeni veriler istatistiksel analizde kullanılmaktadır (Bolstad ve ark., 2003; Meyer ve ark., 2010). Normalizasyon yapılırken; p sayıda miRNA ve n sayıda örneğin floresan sinyali verilerini içeren X matrisi ( $p \times n$ ) oluşturulur (Rao ve ark., 2008). Bu matriste her örnek için sıralama en küçükten en büyüğe doğru gerçekleştirilmektedir. Birinci sırada yer alan floresan sinyali en küçük floresan sinyalidir (Ballman ve ark., 2004). Daha sonra X matrisinin her satırında yer alan değerlerin ortalaması alınarak yeni değerler oluşturulur ki bu değerlerin tüm örneklerde aynı olduğu kabul edilir (Rao ve ark., 2008). Kuantil normalizasyon işlemi, Bioconductor gibi R programlama ile aynı dili kullanan bilgisayar programları ile gerçekleştirilebilmektedir (Liu ve ark., 2008). Diğer normalizasyon yöntemleri ile kıyaslandığında bu yöntemde normalizasyonun daha hızlı yapılabildiği ifade edilmektedir (Ballman ve ark., 2004).

### Medyan normalizasyonu

Medyan normalizasyon yönteminde; p sayıda miRNA ve n sayıda örneğin floresan sinyali verilerini  $p \times n$  matrisi oluşturulmaktadır. Bu matriste yer alan her kolondaki medyan değerleri alınarak n-boyutlu medyan vektörü M oluşturulmaktadır. Daha sonra bu M vektöründe de medyan değeri (overall median) belirlenmektedir. M vektörü medyan değeri ile her örneğin medyan değeri arasındaki fark belirlenmekte ve bu fark miRNA'nın ekspresyon değerinden çıkartılarak veriler normalize edilmektedir (Rao ve ark., 2008). Ancak, medyan normalizasyon yaklaşımının miRNA ekspresyonlarındaki global değişimlerin belirlenmesinde yetersiz kaldığı ifade edilmektedir (Wu ve ark., 2013).

### RMA

Oligonükleotid temelli mikroarray platformlarından elde edilen verilerin normalizasyonu amacıyla kullanı-

lan RMA algoritması, genlerin ekspresyon seviyelerinin daha kesin bir şekilde tespit edilmesine olanak tanımaktadır (Wu ve ark., 2013). Genellikle Affymetrix GeneChip mikroarray platformlarında kullanılan standart bu algorithmada, elde edilen anormal değerler çıkarılmakta ve sadece pozitif sinyal değerleri dikkate alınmaktadır (Irizarry ve ark., 2003). RMA algoritmasındaki son adımda veriler kuantil normalizasyon yöntemi ile normalize edilmektedir (Bolstad ve ark., 2003; Wu ve ark., 2013). Bu algoritmanın aynı zamanda Agilent mikroarray platformlarından elde edilen TGS verilerinin arka plan sinyallerinin düzeltilmesi amacıyla kullanılabilceği bildirilmektedir (López-Romero ve ark., 2010).

### **Siklik loess**

MiRNA mikroarray verilerinin normalizasyonunda kullanılan diğer yöntem ise, siklik loess yöntemidir (Rao ve ark., 2008). Bu yöntemde ilk olarak iki farklı örnek seçilerek MA plotu (M versus A plot) verisi oluşturulmaktadır. Bu plotta M; bir miRNA probu için iki örneğin ekspresyon değerleri arasındaki farktır. A ise iki ekspresyon değerinin ortalamasıdır. Her prob için oluşturulan M ve A değerleri regresyonu ile bir eğrisi oluşturulur (Rao ve ark., 2008). Bu eğriden elde edilen düzeltme faktörü ile verilerin normalizasyonu gerçekleştirilmektedir (Rao ve ark., 2008; Ballman ve ark., 2004). Tüm problemler için bu ikili işlem yapılarak analiz tamamlanmaktadır. Ancak siklik loess yönteminde aynı anda iki örnek için normalizasyon gerçekleştirilmektedir. Bu nedenle normalizasyon işleminin nispeten daha uzun süre aldığı ifade edilmektedir (Ballman ve ark., 2004).

### **miRNA dizileme verilerinin normalizasyonu**

MiRNA dizileme tekniğinde gerekli filtrelemeler yapıldıktan sonra iyi kalitedeki okumalarla miRNA dizileri ilgili veri tabanları ile tespit edilmektedir. Okuma sonrası elde edilen veriler, miRNA'ların toplam okuma sayılarıdır. Bu nedenle veri normalizasyonu temelinde miRNA okuma sayıları ile gerçekleştirilmektedir (Tam ve ark., 2015). MiRNA dizileme verilerinin normalizasyonunda farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bu amaçla yaygın olarak kullanılan yöntemler; milyon başına düşen okuma sayısı (counts per million; CPM veya read per million; RPM), toplam sayı normalizasyonu, medyan normalizasyonu, üst çeyrek normalizasyonu, M'in budanmış ortalaması (trimmed mean of M; TMM) ve kuantil normalizasyon ve DEseq2 yöntemleridir.

### **CPM**

CPM, miRNA dizileme verilerinin normalizasyonunda kullanılan en basit yöntemdir. Bu yöntemde normalizasyon, karşılaştırılan örnekler arasında; bir miRNA'nın toplam okuma sayısının toplam okuma sayısına bölünmesi ve elde edilen değer  $1 \times 10^6$  ile çarpılması ile hesaplanmaktadır. Bu yaklaşımda, toplam

okuma sayısının  $10^6$ 'ya göre orantılanmasıyla, miRNA okuma sayıları tekrar hesaplanmaktadır (Tam ve ark., 2010). Bu sayede, okuma sayısı bir milyondan fazla veya az olsa dahi, milyon başına düşen miRNA okuma sayısı dikkate alınmaktadır. Daha sonra veriler log2 tabanındaki değere dönüştürülerek analiz gerçekleştirilmektedir (Robinson ve ark., 2010; Tam ve ark., 2015).

### **Toplam sayı normalizasyonu**

Toplam sayı normalizasyonunda (total count; TC) her örnekte bir miRNA'nın toplam okuma sayısı örnekteki tüm okumaların sayısına bölünerek hesaplanmaktadır. Tüm örnekler için bu hesaplama yapılmaktadır. Daha sonra elde edilen değer log2 tabanındaki değere dönüştürülmektedir (Dillies ve ark., 2013). Ancak miRNA dizileme verilerinin normalizasyonunda kullanılan TC ve CPM yaklaşımlarında varyasyonun yüksek olduğu bu nedenle bu iki yaklaşımın güvenilirliğinin diğer yöntemlere kıyasla düşük olduğu bildirilmiştir (Tam ve ark., 2015).

### **Medyan normalizasyonu**

Medyan normalizasyonunda, bir miRNA'nın okuma sayısı, tüm örneklerdeki okumaların median değerine bölünmesi ve  $1 \times 10^6$  ile çarpılmasıyla veriler normalize edilmektedir. Normalizasyon sonrası elde edilen değer log2 tabanına dönüştürülerek analiz gerçekleştirilmektedir (Dillies ve ark., 2013).

### **Üst çeyrek normalizasyonu**

Üst çeyrek normalizasyonunda; bir genin toplam okuma sayısı, her örnekteki 75. yüzdelikteki okuma sayısına bölünerek verilerin normalizasyonu gerçekleştirilmektedir. Bu normalizasyon işlemi Bioconductor programında EdgeR package ile gerçekleştirilebilmektedir (Robinson ve ark., 2010; Tam ve ark., 2015).

### **Kuantil normalizasyon**

Kuantil normalizasyonda çoğu miRNA'nın ekspresyon seviyesinin değişmediği varsayılmaktadır. Mikroarray verilerinin kuantil normalizasyonu ile benzer olan bu yaklaşımda, normalizasyon işleminde miRNA okuma sayıları kullanılmakta ve tüm örneklerde genlerin çoğunun ekspresyon düzeyi dağılımının benzer olduğu kabul edilmektedir (Bolstad ve ark., 2003; Tam ve ark., 2015). Bu analiz Bioconductor Limma paketi ile gerçekleştirilebilmektedir (Ritchie ve ark., 2015).

### **TMM**

MiRNA dizileme tekniğinde genellikle örneklerdeki RNA miktarı göz ardı edilmektedir. RNA miktarının örnekler arasında farklı olması, okuma sayılarının farklı olmasına neden olmaktadır. Öyle ki; analiz so-

nucunda bir miRNA'nın ekspresyon düzeyinin değişmediği tespit edilse bile, bu durumun örneklerdeki RNA miktarı farklılığından kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Tam ve ark., 2015). TMM normalizasyon yöntemi ile RNA miktarından kaynaklanan varyasyonun önüne geçilmesi amaçlanmaktadır. TMM yönteminde normalizasyon işlemi; genlerin okuma sayıları ve toplam okuma sayıları ile hesaplanan M ve A değerlerinin belirli bir oranda budanmasıyla gerçekleştirilmektedir (Robinson ve Oshlack, 2010). Budama oranı yapılan çalışmaya göre %5-%30 arasında değişiklik gösterebilmektedir (Robinson ve ark., 2010; Tam ve ark., 2015). Bu normalizasyon Bioconductor EdgeR paketi ile gerçekleştirilebilmektedir (Robinson ve ark., 2010).

### DEseq2

DEseq2 yaklaşımında; bir örnekteki bir miRNA'nın okuma sayısı, tüm örneklerdeki tüm genlerin okuma sayılarının geometrik ortalamalarına bölünerek veriler normalize edilmektedir. Bu normalizasyon işlemi Bioconductor DEseq2 paketi ile gerçekleştirilmektedir (Love ve ark., 2014).

### Sonuç

MiRNA ekspresyon profillerinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalardan yüksek miktarda veri elde edilmektedir. Elde edilen bu verilerin normalizasyonunda çok sayıda yöntem kullanılmaktadır. Referans gen yaklaşımı RT-qPCR verilerinin normalizasyonunda en yaygın kullanılan yaklaşımdır. MiRNA mikroarray platformları ve miRNA dizileme tekniğinde ise kullanılan normalizasyon yaklaşımlarının sayısı nispeten daha fazladır ve bu yaklaşımların güvenilirliği yapılan çalışmaya göre değişebilmektedir. Bu nedenle, özellikle miRNA mikroarray platformları ve miRNA dizileme çalışmalarında veri normalizasyonu hususunda fikir birliğinin bulunmadığı söylenebilir. Bu bağlamda, miRNA ekspresyonu profillerinin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmalarda uygun normalizasyon yaklaşımlarının belirlenmesi sonuçların güvenilirliği açısından önemlidir. Bu sayede, miRNA'ların fizyolojik olaylar, kanser ve diğer patolojik olaylardaki rollerinin daha güvenilir bir şekilde belirlenmesi mümkün olabilecektir.

### Kaynaklar

Ballman KV, Grill DE, Oberg AL, Therneau TM. Faster cyclic loess: normalizing RNA arrays via linear models. *Bioinformatics* 2004; 20(16): 2778-86.

Bolstad BM, Irizarry RA, Astrand M, Speed TP. A comparison of normalization methods for high density oligonucleotide array data based on variance and bias. *Bioinformatics* 2003; 19: 185-93.

Bustin SA, Benes V, Garson J, Hellems J, Huggett J, Kubista M, Mueller R, Nolan T, Pfaffl MW, Ship-

ley GL, Vandesompele J, Wittwer CT. The MIQE guide-lines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clin Chem* 2009; 55: 611-22.

Dheda K, Huggett JF, Chang JS, Kim LU, Bustin SA, Johnson MA, Rook GA, Zumla A. The implications of using an inappropriate reference gene for real-time reverse transcription PCR data normalization. *Anal Biochem* 2005; 344 (1): 141-3.

Dillies MA, Rau A, Aubert J, Hennequet-Antier C, Jeanmougin M, Servant N, Keime C, Marot G, Castel D, Estelle J, Guernec G. A comprehensive evaluation of normalization methods for Illumina high-throughput RNA sequencing data analysis. *Brief Bioinform* 2013; 14: 671-83.

Donati S, Ciuffi S, Brandi ML. Human circulating miRNAs real-time qRT-PCR-based analysis: an overview of endogenous reference genes used for data normalization. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 1-19.

Faraldi M, Gomarasca M, Banfi G, Lombardi G. Free circulating miRNAs measurement in clinical settings: the still unsolved issue of the normalization. *Adv Clin Chem* 2018; 87: 113-39.

Gershon D. Microarray technology: An array of opportunities. *Nature* 2002; 416: 885-91.

Hammond SM. An overview of microRNAs. *Adv Drug Deliv Rev* 2015; 87: 3-14.

Heneghan HM, Miller N, Lowery AJ, Sweeney KJ, Newell J, Kerin M. Circulating micromas as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer. *Ann Surg* 2010; 251: 499-505.

Inyawilert W, Fu TY, Lin CT, Tang PC. Let-7-mediated suppression of mucin 1 expression in the mouse uterus during embryo implantation. *J Reprod Dev* 2015; 61: 138-44.

Irizarry RA, Hobbs B, Collin F, Beazer-Barclay YD, Antonellis KJ, Scherf U, Speed TP. Exploration, normalization, and summaries of high density oligonucleotide array probe level data. *Biostatistics* 2003; 4(2): 249-64.

Izumi H, Kosaka N, Shimizu T, Sekine K, Ochiya T, Takase M. Bovine milk contains microRNA and messenger RNA that are stable under degradative conditions. *J Dairy Sci* 2012; 95(9): 4831-41.

Korkmaz Ağaoğlu Ö, Sidekli Ö. Kantitatif RT-PCR (RT-qPCR) Çalışmalarında uygun housekeeping genlerin (HKGs) seçimi ve validasyonu. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2020; 17(1): 76-83.

Lange T, Stracke S, Rettig R, Lendeckel U, Kuhn J, Schlüter R, Rippe V, Endlich K, Endlich N. Identifi-

- cation of miR-16 as an endogenous reference gene for the normalization of urinary exosomal miRNA expression data from CKD patients. *PLoS One* 2017; 12(8): 1-13.
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Radmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-9.
- Liu CG, Calin GA, Volinia S, Croce CM. MicroRNA expression profiling using microarrays. *Nat Protoc* 2008; 3(4): 563-78.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods* 2001; 25(4): 402-8.
- López-Romero P, González MA, Callejas S, Dopazo A, Irizarry RA. Processing of agilent microRNA array data. *BMC Res Notes* 2010; 3(1): 1-6.
- Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol* 2014; 15(550): 1-21.
- Lund E, Güttinger S, Calado A, Dahlberg JE, Kutay U. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303(5654): 95-8.
- Mandrizzato S. Technological platforms for microarray gene expression profiling. Simone M. eds. In: *Microarray Technology and Cancer Gene Profiling*, New York: Springer Science+Business, 2007; pp.12-8.
- Mestdagh P, Van Vlierberghe P, De Weer A, Muth D, Westermann F, Speleman F, Vandesompele J. A novel and universal method for microRNA RT-qPCR data normalization. *Genome Biol* 2009; 10(6): 1-10.
- Metpally RP, Nasser S, Malenica I, Courtright A, Carlson E, Ghaffari L, Villa S, Tembe W, Keuren-Jensen V. Comparison of analysis tools for miRNA high throughput sequencing using nerve crush as a model. *Front Genet* 2013; 4(20): 1-13.
- Meyer SU, Pfaffl MW, Ulbrich SE. Normalization strategies for microRNA profiling experiments: A 'normal' way to a hidden layer of complexity? *Bio-technol Lett* 2010; 32(12): 1777-88.
- Montenegro D, Romero R, Kim SS, Tarca AL, Draghici S, Kusanovic JP, Kim JS, Lee DC, Erez O, Gotsch F, Hassan SS. Expression patterns of microRNAs in the chorioamniotic membranes: a role for microRNAs in human pregnancy and parturition. *J Pathol* 2019; 217(1): 113-21.
- Pradervand S, Weber J, Thomas J, Bueno M, Wirapati P, Lefort K, Dotto GP, Harshman K. Impact of normalization on miRNA microarray expression profiling. *RNA* 2009; 15(3): 493-501.
- Pritchard CC, Cheng HH, Tewari M. MicroRNA profiling: Approaches and considerations. *Nat Rev Genet* 2012; 13(5): 358-69.
- Qureshi R, Sacan A. A novel method for the normalization of microRNA RT-PCR data. *BMC Med Genomics* 2013; 6(1): 1-13.
- Rao Y, Lee Y, Jarjoura D, Ruppert AS, Liu CG, Hsu JC, Hagan JP. A comparison of normalization techniques for microRNA microarray data. *Stat Appl Genet Mol Biol* 2008; 7(1): 1-18.
- Redshaw N, Wilkes T, Whale A, Cowen S, Huggett J, Foy CA. A comparison of miRNA isolation and RT-qPCR technologies and their effects on quantification accuracy and repeatability. *Biotechniques* 2013; 54(3): 155-64.
- Ritchie ME, Phipson B, Wu DI, Hu Y, Law CW, Shi W, Smyth GK. Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res* 2015; 43(7): 1-13.
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: A bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics* 2010; 26: 139-40.
- Robinson MD, Oshlack A. A scaling normalization method for differential expression analysis of RNA-seq data. *Genome Biol* 2010; 11(3): 1-9.
- Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, Ghaffari SH. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol* 2019; 234(5): 5451-65.
- Schwarzenbach H, Da Silva AM, Calin G, Pantel K. Data normalization strategies for microRNA quantification. *Clin Chem* 2015; 61(11): 1333-42.
- Sidekli Ö, Korkmaz Ağaoğlu Ö. Kantitatif RT-PCR (RT-qPCR) ile mikroRNA (miRNA) ekspresyon profillemesi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2021; 18(1): 48-56.
- Sidekli Ö, Korkmaz Ağaoğlu Ö. Gebelik sürecinde rol oynayan mikroRNA (miRNA)'lar. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg* 2019; 59(1): 36-48.
- Tam S, Tsao MS, McPherson JD. Optimization of miRNA-seq data preprocessing. *Brief Bioinform* 2015; 16(6): 950-63.
- Wu D, Hu Y, Tong S, Williams BR, Smyth GK, Gantier MP. The use of miRNA microarrays for the analysis of cancer samples with global miRNA dec-

rease. RNA 2013; 19(7): 876-88.

Zalewski K, Misiek M, Kowalik A, Bakula-Zalewska E, Kopczyński J, Zielińska A, Bidziński M, Radziszewski J, Gózdź S, Kowalewska M. Normalizers for microrna quantification in plasma of patients with vulvar intraepithelial neoplasia lesions and vulvar carcinoma. *Tumour Biol* 2017; 39: 1-6.

Zhang L, Liu XR, Liu JZ, Song YX, Zhou ZQ, Cao BY. miR-182 selectively targets HOXA10 in goat endometrial epithelium cells in vitro. *Reprod Domest Anim* 2017; 52(6): 1081-92.

Zheng G, Wang H, Zhang X, Yang Y, Wang L, Du L, Li W, Li J, Qu A, Liu Y, Wang C. Identification and validation of reference genes for qPCR detection of serum microRNAs in colorectal adenocarcinoma patients. *PLoS ONE* 2013; 8: 1-10.

Zhu HT, Dong QZ, Wang G, Zhou HJ, Ren N, Jia HL, Ye QH, Qin LX. Identification of suitable reference genes for qRT-PCR analysis of circulating microRNAs in hepatitis B virus-infected patients. *Mol Biotechnol* 2012; 50: 49-56.

Zhu J, He F, Hu S, Yu J. On the nature of human housekeeping genes. *Trends Genet* 2008; 24(10): 481-4.

## 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](mailto: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 yayınlanmak 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, Krusbeek 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](mailto: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.