

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

- Analysis of General and Disease-Specific Risk Variables for Bovine Tuberculosis..... 156**
Sığır Tüberkülozu için Genel ve Hastalığa Özgü Risk Değişkenlerinin Analizi
B. ŞENTÜRK, A. AKÇAY, S.SARIÖZKAN, M. KÜÇÜKOFLAZ
- Tavuk Etlerinde *Arcobacter* spp. Varlığı, İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları ve Moleküler Tiplendirilmesi.....162**
Presence of *Arcobacter* spp. in Chicken Meat, Antibiotic Susceptibility and Molecular Typing of Isolates
H. HIZLISDOY, O. TAŞLI, M. BAREL, K. KÖŞKEROĞLU
- The Effectiveness of DL-Malic Acid on Fattening Performance and Rumen Parameters in Beef Cattle Rations Containing High Concentrated Feed and Dry Forage169**
Yüksek Düzeyde Konsantre Yem ve Kuru Kaba Yem İçeren Besi Sığırı Rasyonlarında DL-Malik Asitin Besi Performansı ve Rumen Parametreleri Üzerine Etkinliği
O. KIYICI, B. KOCAOĞLU GÜÇLÜ, K. KARA, S. ÖZKAYA, J. METİN KIYICI
- Yumurta Tavuğu Karma Yemlerine İlave Edilen Karahindiba Ekstresinin Performans ve Yumurta Kalitesine Etkisi.....178**
Effect of Dandelion Extracts Supplementation to Laying Hen Diet on Performance and Egg Quality
S.B. KAYA, B. KOCAOĞLU GÜÇLÜ
- Aydın İlindeki Kedilerde FeLV ve FIV Enfeksiyonlarının Belirlenmesi..... 186**
Detection of FeLV and FIV Infections in Cats on Aydın Region
M. ESEN, O. ASLAN
- Veteriner Hekimlik Eğitiminde Klinik Beceri Laboratuvarının Mesleki Eğitime Katkısının Araştırılması.....192**
Investigation of the Contribution of Clinical Skills Laboratory to Vocational Education in Veterinary Medicine Education
E. ÇELİK GÜRBULAK, A. AKÇAY, M. KANBUR, G. EKİNCİ, H.A. YUCEEL, G. GUNGOR, K. GURBULAK
- Kasap Dükkanları ve Şarküterilerde Gıda ile Temas Eden Yüzeylerden Elde Edilen *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Biyofilm Üretiminin Fenotipik ve Genotipik Karakterizasyonu.....198**
Phenotypic and Genotypic Characterization of Biofilm Production in *Staphylococcus aureus* Isolates Obtained from Food Contact Surfaces in Butcher and Delicatessen
N. AKYOL, D.A. GUNDOĞ, Y. OZKAYA, C. GUNGOR, N. ERTAS ONMAZ
- Investigation of the Presence of Stem Cells in Rat Uterus Tissue in Postnatal Development Periods.....206**
Doğum Sonrası Gelişim Dönemlerindeki Sıçan Uterus Dokusunda Kök Hücre Varlığının Araştırılması
B. YALÇIN, E. H. YAY, S. OZDAMAR



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



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 : 2023

Cilt / Volume : 20

Sayı / Number : 3

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

E-posta: ercvet@gmail.com

Baskı Tarihi: Aralık 2023

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.)

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

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

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

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

Dergi Sekreterleri / Journal Secretary

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

Arş. Gör. Dr. 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 GÜRBULAK (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)

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 (Univ. Veterinary Med. Vienna)

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)

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

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

Prof. Dr. Thomas RÜLİCKE (Univ. Veterinary Med. Vienna)

Prof. Dr. Thomas WITTEK (Univ. Veterinary Med. Vienna)

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

- Analysis of General and Disease-Specific Risk Variables for Bovine Tuberculosis..... 156**
Sığır Tüberkülozu için Genel ve Hastalığa Özgü Risk Değişkenlerinin Analizi
B. ŞENTÜRK, A. AKÇAY, S.SARIÖZKAN, M. KÜÇÜKOFLAZ
- Tavuk Etlerinde *Arcobacter* spp. Varlığı, İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları ve Moleküler Tiplendirilmesi..... 162**
Presence of *Arcobacter* spp. in Chicken Meat, Antibiotic Susceptibility and Molecular Typing of Isolates
H. HIZLISDOY, O. TAŞLI, M. BAREL, K. KÖŞKEROĞLU
- The Effectiveness of DL-Malic Acid on Fattening Performance and Rumen Parameters in Beef Cattle Rations Containing High Concentrated Feed and Dry Forage169**
Yüksek Düzeyde Konsantre Yem ve Kuru Kaba Yem İçeren Besi Sığırı Rasyonlarında DL-Malik Asitin Besi Performansı ve Rumen Parametreleri Üzerine Etkinliği
O. KIYICI, B. KOCAOĞLU GÜÇLÜ, K. KARA, S. ÖZKAYA, J. METİN KIYICI
- Yumurta Tavuğu Karma Yemlerine İlave Edilen Karahindiba Ekstresinin Performans ve Yumurta Kalitesine Etkisi.....178**
Effect of Dandelion Extracts Supplementation to Laying Hen Diet on Performance and Egg Quality
S.B. KAYA, B. KOCAOĞLU GÜÇLÜ
- Aydın İlindeki Kedilerde FeLV ve FIV Enfeksiyonlarının Belirlenmesi..... 186**
Detection of FeLV and FIV Infections in Cats on Aydın Region
M. ESEN, O. ASLAN
- Veteriner Hekimlik Eğitiminde Klinik Beceri Laboratuvarının Mesleki Eğitime Katkısının Araştırılması.....192**
Investigation of the Contribution of Clinical Skills Laboratory to Vocational Education in Veterinary Medicine Education
E. ÇELİK GÜRBULAK, A. AKÇAY, M. KANBUR, G. EKİNCİ, H.A. YUCEEL, G. GUNGOR, K. GURBULAK
- Kasap Dükkanları ve Şarküterilerde Gıda ile Temas Eden Yüzeylerden Elde Edilen *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Biyofilm Üretiminin Fenotipik ve Genotipik Karakterizasyonu..... 198**
Phenotypic and Genotypic Characterization of Biofilm Production in *Staphylococcus aureus* Isolates Obtained from Food Contact Surfaces in Butcher and Delicatessen
N. AKYOL, D.A. GUNDOĞ, Y. OZKAYA, C. GUNGOR, N. ERTAS ONMAZ
- Investigation of the Presence of Stem Cells in Rat Uterus Tissue in Postnatal Development Periods.....206**
Doğum Sonrası Gelişim Dönemlerindeki Sıçan Uterus Dokusunda Kök Hücre Varlığının Araştırılması
B. YALÇIN, E. H. YAY, S. OZDAMAR



Analysis of General and Disease-Specific Risk Variables for Bovine Tuberculosis

Berrin ŞENTÜRK^{1,a}, Aytaç AKÇAY^{2,b}, Savaş SARIOZKAN^{3,c}, Mehmet KÜÇÜKOFLAZ^{4,d}

¹Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Health Economics and Management, Samsun-TÜRKİYE

²Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biostatistics, Ankara-TÜRKİYE

³Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Health Economics and Management, Kayseri-TÜRKİYE

⁴Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Health Economics and Management, Kars-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0002-0455-9341; ^b0000-0001-6263-5181; ^c0000-0003-2491-5152; ^d0000-0003-3256-4735

Corresponding author: Savaş SARIOZKAN; E-mail: ssariozkan@erciyes.edu.tr

How to cite: Şentürk B, Akçay A, Sariozkan S, Küçükoflaz M. Analysis of general and disease-specific risk variables for bovine tuberculosis. Erciyes Univ Vet FakDerg 2023; 20(3): 156-161

Abstract: In this study, the relationship of risk variables to the incidence of bovine tuberculosis in areas where the disease is commonly seen and rarely seen was investigated in the years of 2017. For this purpose, the districts of Samsun Province in Türkiye were divided into three risk groups according to the number of bovine tuberculosis outbreaks. The disease-specific risk variables were surveyed 300 cattle enterprises. Information was collected on the feeding regime of the animals, access of drinking water, the source of feed, the management of the manure waste, the presence of wild animals in the area and the presence of similar enterprises within 150 meters. In the analysis of the risk variables associated with the disease, 11 variables were evaluated and a total risk score was allocated. The relationship between the number of outbreaks and general risk scores was significant ($P<0.05$). Moreover, a significant difference was determined between the districts in terms of disease-specific risk variables ($P<0.05$). In conclusion, the results of this study can assist in the determination of the vulnerability of individual farms and particular areas to bovine tuberculosis outbreaks, reduce the risk of disease outbreak, and also facilitate early intervention and suppression of the disease.

Keywords: Bovine tuberculosis, disease management, disease specific risks, scoring, Türkiye

Sığır Tüberkülozu için Genel ve Hastalığa Özgü Risk Değişkenlerinin Analizi

Öz: Bu çalışmada, 2017 yılında hastalığın sık görüldüğü ve nadir görüldüğü bölgelerde risk değişkenlerinin sığır tüberkülozu insidansı ile ilişkisi araştırılmıştır. Bu amaçla Türkiye’de Samsun iline bağlı ilçeler sığır tüberkülozu salgınlarının sayısına göre üç risk grubuna ayrılmıştır. Hastalığa özgü risk değişkenleri 300 büyük baş hayvan işletmesinde incelenmiştir. Hayvanların beslenme rejimi, içme suyuna erişimi, yem kaynağı, gübre atıklarının yönetimi, alanda yabani hayvanların varlığı ve 150 metre yakınındaki benzer işletmelerin varlığı hakkında bilgi toplandı. Hastalıkla ilişkili risk değişkenlerinin analizinde 11 değişken değerlendirildi ve toplam bir risk puanı belirlendi. Salgın sayısı ile genel risk skorları arasındaki ilişki anlamlı bulundu ($P<0.05$). Ayrıca ilçeler arasında hastalığa özgü risk değişkenleri açısından da anlamlı bir fark saptandı ($P<0.05$). Sonuç olarak, bu çalışmanın sonuçları, bireysel işletmelerin ve belirli alanların sığır tüberkülozu salgınlarına karşı savunmasızlığının belirlenmesine yardımcı olabilir, hastalık salgını riskini azaltabilir ve ayrıca hastalığın erken müdahalesini ve baskılanmasını kolaylaştırabilir.

Anahtar kelimeler: Hastalık yönetimi, hastalığa özgü riskler, sığır tüberkülozu, skrolama, Türkiye

Introduction

Epidemic diseases have important negative effects on people, animals and the global economy. Currently, countries use different types of cattle tuberculosis (bTB) fighting methods according to their economic development levels. Among these methods of struggle, risk-focused disease control management is increasing its importance. In the case of bTB infection, the ingestion of the active substance into a new host

usually takes place through the respiratory or digestive tract. In the case of animals in barns, the respiratory tract is the primary route of infection, while in pastures the routes are the respiratory and digestive tracts via infected food and water sources. On farms, most young animals are infected after ingesting contaminated food (Radostits et al., 1994). In addition, the infection can be caused by badger or ferret bite (Kaneene and Pfeiffer, 2006). It has also been reported that the disease can be carried on the feet of birds and in their faeces (Witmer et al., 2010). The Kızılırmak Delta and its Bird Sanctuary, located on

the borders of the Bafra district (Samsun province of Türkiye), should paid more attention when biosecurity measures are implemented, especially in the nearby settlements. In addition, there are many other studies reporting the relevance of wildlife to the occurrence of the disease (Aranaz et al., 2004; Atılğan et al., 2006; Fitzgerald and Kaneene, 2013; Little et al., 1982; Orton et al., 2018; Renwick et al., 2007). In the event of a disease outbreak on a specific farm, other farms in its vicinity are at risk. The distance between farms should be determined, especially in terms of the distance between the nearest manure piles, when investigating the potential for the spread of the disease. In order to minimize the potential for manure to be a source of the disease, there should be a minimum distance of 150 m to the nearest farm for small-scale cattle farms (Atılğan et al., 2006). However, for cattle breeding enterprises, the distance to the nearest farm in about 90% of cases was less than 150 meters in Turkey (Varol and Atılğan, 2017). The potential contamination of water resources requires consideration of the factor. In the case of large farm herds, for example 600 head of mixed stock or 430 head of dairy cattle, there should be a minimum separation distance of 450 m (Liang and Van Devender, 2010). Another important source of risk is the distance from the livestock to the water source for the enterprise. This distance is generally 40 m or less and it influences the risk presented by manure and water contamination in livestock enterprises in the Mediterranean Region (Atılğan et al., 2006).

Bovine tuberculosis is a zoonotic disease, caused by the bacterium, *Mycobacterium bovis* (Milan-Suazo et al., 2010; Evans et al., 2007; Sunder et al., 2009). This disease was selected as a research topic because of its relevance to Samsun Province, Turkey, and also because of its zoonotic character and the variety of routes of transmission.

In this study, the applicability of the risk-based approach to the epidemic diseases has been investigated. The studies to be carried out for this purpose will enable the development of strategies and practices that minimize the risk of outbreaks in the areas where epidemics are seen, as well as the implementation of preventive measures to protect low risk areas.

In the light of this information, the aim of this study was to investigate the risk variables applicable to outbreaks of bTB in Samsun Province, Türkiye because they harm both human and animal health and cause substantial financial losses.

Material and Methods

The material for this study consisted of data on the risk variables relevant to bTB (Aranaz et al., 2004; Fitzgerald and Kaneene, 2013; Orton et al., 2018; Renwick et al., 2007; Sümbüloğlu and Sümbüloğlu,

2005). For this purpose, 11 general and 11 disease-specific risk variables were used. The general risk variables such as; disease statistics of the study area, livestock statistics, number of cattle by district, number of animals transported, number of slaughterhouses, demographic statistics, pasture status and number of animal health workers in the study area were used. As for disease-specific risk variables the recurrence of bTB in certain areas, wildlife and environmental risks were determined.

Detailed information on the disease was obtained from the Turkish Ministry of Agriculture and Forestry, with the permission dated 25.01.2017 and numbered 78255852-192904, and the data is defined as Official Data (OD). By using the annual activity reports of the Ministry of Agriculture and Forestry, this study was able to include data related to 11 variables, which were included as general risk variables. NCSS 2009 (Version 9.0.5, Perpetual Single-User License) package program was used for statistical analysis.

The survey, firstly, by using the outbreak data for 2010-2016 for the Bafra district, which had the highest number of outbreaks of bTB, that district was classed as being at "high risk", Havza district was termed "medium risk" and Ayvacık district, where the disease is rare was defined as "low risk". To conduct a robust sampling regime, five villages were selected from each district and a total of 300 cattle breeding enterprises were surveyed with the random sampling method (There are 1252 livestock farm in the study area). The population of this study consisted of a total of 1252 cattle farms located in Samsun province, Ayvacık, Bafra, Havza counties. In the study, the sample size was calculated as at least 295 enterprises in total and the study was carried out with 300 farms, using the 95% confidence interval and 0.05 marginal deviation in the enterprises. The calculation of the sample size (n_0) in the study is given in the equation below.

$$n_0 = \frac{N t^2 p q}{d^2 (N - 1) + t^2 p q} = \frac{1252 (1,96)^2 0,5 * 0,5}{0,05^2 (1292 - 1) + (1,96)^2 * 0,5 * 0,5} \cong 295$$

N = Population size; t-table value for t = 95% confidence interval = 1.96; p, q = Frequency of occurrence of the event in question, from being a factor (+) and being a factor (-), p = 0.5, q = 0.5; d = marginal deviation (Sümbüloğlu and Sümbüloğlu, 2005). In the study area, a survey was conducted with approximately 100 enterprises in all three districts. Prevalence of bTB was also considered in calculating the minimum sample size.

The study was carried out in the Ayvacık, Bafra and Havza districts of Samsun Province, namely Şenpınar, Söğüt pınar, Örencik, Eynel, Koçyurdu, Doğanca, Altınay, Yakıntaş, Osmanbeyli, Kale, Kamlık, Cevizlik and Çamyatağı villages Karpuzlu and

Havza Center surroundings.

In the analysis of general risk variables, the total general risk score (Y) was calculated with the following formula (Liang and Van Devender, 2010; Radostits et al., 1994).

$$(Y) = f(a_1 + a_2 + a_3 + a_4 + a_5 + a_6 + a_7 + a_8 + a_9 + a_{10} + a_{11})$$

Where:

Y = General risks of bTB occurrence

a₁ = Number of study area outbreaks

a₂ = Proportion of total animals in the province

a₃ = Number of farms and average number of cattle per farm

a₄ = Animal product facilities at the district level (dairy farm, milk factory, livestock cooperative)

a₅ = Slaughterhouses by district and animal bazaar

a₆ = Number of people per km² in district

a₇ = Number of animal transports by district

a₈ = Districts' coastal roads, ring roads, roads connecting with other provinces

a₉ = The share of the province pasture by the districts

a₁₀ = Number of veterinarians and veterinary technicians working in the district (official)

a₁₁ = Number of artificial inseminations at the district level

Values from 1 - 25, 1 (lowest),

Values from 26 - 50, 2 (low),

Values from 51 - 75, 3 (medium),

Values from 76 - 100, 4 (high).

Data of the disease-specific risk variables were obtained through questionnaires. In the determination of risk variables, the risks specific to the disease, which were demonstrated in previous studies (Orton et al., 2018), were used. The data obtained from the questionnaires, which identified 11 risk variables specific for bTB and the number of animals at risk of the disease on the individual farms, were recorded electronically and a data index was created. Missing and incorrect information was identified during data entry which meant that the number of incorrect entries was minimized. Univariate statistical analysis was used to evaluate the data obtained from the surveys. The relationship between animal numbers and disease risk was also investigated in the study. Descriptive statistics (percentage distributions, mean ± standard error of mean) were performed on the 300 samples and cross-tables showing the relationships between districts and risk variables, classified according to risk levels. The Pearson Chi-square and Fisher's exact test was performed according to the scale type and number of the variables. Data were analyzed with NCSS statistical software with P values <0.05 considered significant.

Results

The risk scores for high, medium and low risk areas for bTB, determined by using the general risk variables (a₁ - a₁₁), are presented in Table 1.

Table 1. General risk scores for bTB across three districts in Samsun Province, Türkiye

Districts/ Region	Risk Variables											Total Risk Scores
	a ₁	a ₂	a ₃	a ₄	a ₅	a ₆	a ₇	a ₈	a ₉	a ₁₀	a ₁₁	
Ayvacık	1	1	1	-	1	1	1	-	-	1	-	7
Havza	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	21
Bafra	3	3	2	3	2	3	3	3	3	2	3	30

The lowest value for the risk scoring system was 1 and the highest was 4. The total risk score was obtained from the sum of the risk scores for each risk variable.

Ordinal scoring (1 through 4) was made according to the risk status. Hierarchical clustering analysis method was used to determine the number of risk groups and according to the total score values. In scoring, the sum of the data scores for all three districts was taken to be 100 points and the proportion of the districts from the total score was divided into 4 equal parts.

The data and its statistical evaluations for different risk levels of the disease are presented in Tables 2 and 3.

The number of bTB outbreaks across the three districts, specific risk variables, there were significant differences (P<0.05) for the type of feeding of animals, drinking water source of animals, the management of waste, application of biosecurity measures, farm close to wildlife habitat, the presence of goats and/or sheep in the common area, and the presence of animals on a different farm within 150 meters.

There were significant differences in the mean number of animals per farm in the districts categorized according to the number of tuberculosis outbreaks (P<0.05).

Table 2. Distribution of disease-specific bTB risk factors for cattle by district in Samsun Province, Türkiye

Risk factors	Districts			P
	Low Risk Ayvacic (%)	Medium Risk Havza (%)	High Risk Bafra (%)	
1. Feeding areas of animals				
Exclusive use of external areas	99(99.0)	12(12.0)	45(45.0)	<0.001
Non-use of external areas	1(1.0)	88(88.0)	55(55.0)	
2. Drinking water sources				
Tap water	1(1.0)	21(21.0)	40(40.0)	<0.001
Well or spring water	99(99.0)	2(2.0)	9(9.0)	
Common (fountain-stream)	0(0.0)	77(77.0)	51(51.0)	
3. Manure management on farm				
Accumulating near barn on farm	74(74.0)	91(91.0)	89(89.0)	0.001
Removed to field	26(26.0)	9(9.0)	11(11.0)	
4. Biosecurity (e.g. ventilation, environmental control, staff hygiene)				
Applied	23(23.2)	17(17.0)	23(23.0)	0.476
Not applied	76(76.8)	83(83.0)	77(77.0)	
5. Additional biosecurity measures taken after the outbreak of epidemic disease				
Yes	43(43.0)	83(83.0)	92(92.0)	<0.001
No	57(57.0)	17(17.0)	8(8.0)	
6. Badger - seen in the potential contact area in the previous 12 months				
Yes	18(18.0)	39(39.0)	35(35.4)	0.002
No	82(82.0)	61(100.0)	64(64.6)	
7. Pig - seen in the potential contact area in the previous 12 months				
Yes	68(68.7)	66(66.0)	24(24.0)	<0.001
No	31(31.3)	34(34.0)	76(76.0)	
8. Other possible carrier wild animals seen in the potential contact area in the last 12 months				
Yes	57(57.0)	30(30.0)	15(15.0)	<0.001
No	43(43.0)	70(70.0)	85(85.0)	
9. Goats present in the common area				
Yes	0(0.0)	49(49.0)	2(2.0)	<0.001
No	100(100.0)	51(51.0)	98(98.0)	
10. Sheep present in the common area				
Yes	0(0.0)	55(55.0)	36(36.0)	<0.001
No	100(100.0)	45(45.0)	64(64.0)	
11. Farm with animals within 150 meters				
Yes	63(63.0)	88(88.0)	85(85.0)	<0.001
No	37(37.0)	12(12.0)	15(15.0)	

Table 3. Number of animals in districts classified by level of risk (Mean ± SE)

Variables	Districts			P
	Ayvacic	Havza	Bafra	
Number of animals on farms	6.51±0.50 ^a	11.29±1.35 ^b	31.4±4.07 ^c	<0.001
Number of female cattle	3.94±0.24 ^a	7.44±0.60 ^b	21.44±2.7 ^c	<0.001
Number of male cattle	2.57±0.42 ^a	3.87±1.20 ^b	9.96±1.74 ^c	<0.001
Number of young animals (< 3yrs)	3.16±0.37 ^a	5.28±1.20 ^b	13.42±1.90 ^c	<0.001
Number of adult animals (3-8 yrs)	2.56±0.22 ^a	4.51±0.39 ^b	14.18±2.10 ^c	<0.001
Number of animals (> 8 yrs)	0.79±0.10 ^a	1.49±0.21 ^b	3.75±0.68 ^c	<0.001

^{a,b,c}: The difference between means in the same row with different letters is significant.

Discussion and Conclusion

In areas where bovine tuberculosis has historically been detected, the risk of recurrence is greater than in areas where the disease has not been seen (Orton et al., 2018). In this research, it was argued that in the areas where the disease risk is high, explaining this situation only by animal movements is not sufficient. It was further argued that local factors contribute to the spread of the disease. Determining the high-risk areas before outbreaks of the disease is the key to minimizing the level of risk associated with different contributing factors (Orton et al., 2018). These explanations are relevant to the Bafra district, which has a high number of outbreaks and was defined as high risk; it is therefore necessary to develop specific measures that take account of the historic frequency of the disease. In the Bafra area, the need for drinking water was mostly met from the common grazing area (51%), there was a high rate of disposal of farm waste due to animal density (89%) and the number of badger sightings (35%) was higher than in other districts. This indicates the need to develop area specific measures for the prevention and control of the disease.

In this study, in the analysis of general risk variables using the 1- 4 scoring method for the disease, the total risk score of the Bafra district, where the disease risk was determined to be the highest, was 30, in the medium risk Havza district was 21, and in the low risk Ayvacık district was 7. The general risk scores in this study were similar to those reported for the relationship between global risk factors and the number of outbreaks for the Foot and Mouth disease, in terms of general risk variables (Şentürk et al., 2016). This situation suggests that the methods used in the study may be applicable to the determination of the general risk variables characteristic for epidemics.

The on-farm disposal of manure should be at least 150 m from the nearest neighbouring farm (Atılğan et al., 2006) but on 89.5% of the cattle farms in Turkey the waste disposal site was less than 150 m from the closest neighbour (Varol and Atılğan, 2017). In the present study, in the Bafra district, which was in the high risk category, the manure deposition site on 85% of farms was less than 150 m from the nearest neighbour. The results of this study have again demonstrated that cattle farms in close proximity are at higher risk of the spread of bTB from their neighbours. The close proximity of farms to each other therefore constitutes a significant risk for the transmission of the disease. The highest rate of use of the external/outside areas of the farms was in Ayvacık (99%) and the difference between it and the other districts was significant ($P < 0.001$). This suggests that increasing the density of grazing animals on common pasture areas increases the risk of exposure to the disease and hence transmission of the disease.

It is not appropriate to feed animals susceptible to disease in the areas where they are at risk of exposure to animals that are thought to be carriers of the disease (Fine et al., 2011). This potential threat was investigated in the present study and in Bafra (high risk) and Havza (medium risk) the cattle were being exposed to sheep on the same pastures. It is therefore imperative that measures be taken to increase the awareness of owners to prevent the interaction of different species in the common grazing areas. In this study, the inadequacy of bio security practices was also demonstrated in all three districts, which were at different risk levels. Considering the survival time of the disease pathogen in different environments, minimizing both the direct (common pastures) and indirect (manure piles) exposure of animals of one farm to sources of infection from other farms should always be emphasized as high priorities in educational programs.

Separately, significant differences were found between the average number of animals, males, females, young animals, adult animals and old animals in the three districts and the number of bTB outbreaks ($P < 0.05$). These results imply higher rates of disease associated with higher numbers of animals in the high-risk areas which would result in higher economic losses due to the disease.

Risk assessments in disease control are essential in developing countries where financial resources for disease control are scarce (Avila et al., 2018). On the other hand, in the fight against disease local spread will require a deeper understanding of the patterns, drivers and characteristics (Milne et al., 2022). The study supported the contention that the general disease risk factors do not change much in epidemics in different situations and with different characteristics. Consequently, practical disease prevention measures should be implemented urgently to reduce the disease risk across all areas, especially in the high risk areas. The results of this study, which was conducted with a view to the development of improved disease prevention and control strategies, strongly suggest that the following measures be taken:

-In the areas where the disease arises and the common pasture area is used, animals should be used tubercle test.

-Temporary prohibition of the use of these pastures (taking into account the life span of disease agent in the soil and water)

-On farms where the disease is detected, even if the farm is later declared free from the disease, animals should not be sold for breeding or fattening purposes for a mandatory minimum period but these farms should be able to sell for slaughter. With respect to these three steps, financial support should be provided.

ed to prevent the producer from being disadvantaged. When a new farm is established, the distance to the nearest farm should be more than 150 m so as to minimize the potential for the transmission of the disease,

-Disease prevention and control measures should take into account the number of previous infections on a particular farm,

- Investigate the presence of the disease in wildlife, especially the badger, which is reported to be a disease carrier.

In conclusion, this study determined that a set of eleven general and eleven disease-specific risk variables can be used to classify the risk an outbreak of bTB in a particular area. Risk-based control strategies should be adapted to the system in order to increase efficiency in disease intervention and control.

References

- Aranaz A, De Juan L, Montero N, Sánchez C, Galka M, Delso C, Domínguez L. Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in wildlife in Spain. Clin Microbiol Newsl 2004; 42(6): 2602-8.
- Atılğan A, Erkan M, Saltuk B, Alagöz T. Environmental pollution caused by existing manure from animal farms in mediterranean region. Ekoloji 2006; 15 (58): 1-7.
- Avila Luciana N, Gonçalves Vitor SP, Perez Andres M. Risk of introduction of bovine tuberculosis (TB) into TB-free herds in Southern Bahia, Brazil, associated with movement of live cattle. Front Vet Sci 2018; 5.
- Evans JT, Smith E, Banerjee A, Smith RM, Dale J, Innes JA, Sonnenberg P. Cluster of human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*: Evidence for person-to-person transmission in the UK. Lancet 2007; 369(9569): 1270-6.
- Fine AE, Bolin CA, Gardiner JC, Kaneene JB. A Study of the Persistence of *Mycobacterium bovis* in the Environment under Natural Weather conditions in Michigan, USA. Vet Med Int 2011; 4: 765430.
- Fitzgerald SD, Kaneene JB. Wildlife reservoirs of bovine tuberculosis worldwide: Hosts, pathology, surveillance, and control. Vet Pathol 2013; 50(3): 488-99.
- Liang Y, Van Devender K. Managing a livestock operation to minimize odor. University of Arkansas, United States Department of Agriculture and County Governments Cooperating. Cooperative Extension Service FSA 3007. 2010.
- Little TWA, Naylor PF, Wilesmith JW. Laboratory study of *Mycobacterium bovis* infection in badgers and calves. Vet Rec 1982; 11(24): 550-7.
- Milan-Suazo F, Guerrero LP, Diaz CA, Chávez ME. Molecular epidemiology of human cases of tuberculosis by *Mycobacterium bovis* in Mexico. Prev Vet Med 2010; 97(1): 37-44.
- Milne G, Graham J, McGrath J, Kirke R, McMaster W, Byrne AW. Investigating farm fragmentation as a risk factor for bovine tuberculosis in cattle herds: A matched case-control study from Northern Ireland. Pathogens 2022; 11: 299.
- Orton RJ, Deason M, Bessell PRM. Identifying genotype specific elevated-risk areas and associated herd risk factors for bovine tuberculosis spread in British cattle. Epidemics 2018; 24: 34-42.
- Radostits OM, Blood DC, Gay CC. Veterinary medicine a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. Eight Edition London UK: WB Saunders, 1994; pp. 2045-50.
- Renwick AR, White PCL, Bengis RG. Bovine tuberculosis in southern African wildlife: A multi-species host-pathogen system. Epidemiol Infect 2007; 135(4): 529-40.
- Sunder S, Lanotte P, Godreuil S, Martin C, Boschiroli ML, Besnier JM. Human-to-human transmission of tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in immunocompetent patients. Clin Microbiol Newsl 2009; 47(4): 1249-125.
- Sümbüloğlu V, Sümbüloğlu K. Klinik ve saha araştırmalarında örnekleme yöntemleri ve örneklem büyüklüğü. Birinci Baskı. Ankara: HatiboğluYayınevi, 2005.
- Şenturk B, Yalçın C, Akçay A. Analysis of risk factors in the management of foot and-mouth disease in Turkey. Turk J Vet AnimSci 2016; 40: 1-6.
- Thoen, CO, Steele JH, Gilsdorf MJ. *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans. Kaneene JB, Pfeiffer D. eds. In: Epidemiology of *Mycobacterium bovis*. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing, 2006; pp. 34-48.
- Varol H, Atılğan A. Management of waste from animal breeding enterprises and its environmental potential impact: Afyonkarahisar case. J Eng Appl Sci 2017; 1(3): 211-22.
- Witmer G, Fine AE, Gionfriddo J, Pipas M, Shively K, Piccolo K, Burke P. Epizootiologic survey of *Mycobacterium bovis* in wildlife and farm environments in northern Michigan. J Wildl Dis 2010; 46 (2): 368-78.



Tavuk Etlerinde *Arcobacter* spp. Varlığı, İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları ve Moleküler Tiplendirilmesi*

Harun HIZLISOY^{1,a}, Özgün TAŞLI^{1,b}, Mukaddes BAREL^{1,c}, Kürşat KÖŞKEROĞLU^{1,d}

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0003-3391-0185; ^b0000-0002-7292-7193; ^c0000-0002-1170-8632; ^d0000-0002-9997-9209

Sorumlu yazar: Harun HIZLISOY; E-posta: hizlisoy@erciyes.edu.tr

Atfı yapmak için: Hızlısoy H, Taşlı Ö, Barel M, Köşkeröğlu K, Tavuk etlerinde *Arcobacterspp.* varlığı, izolatların antibiyotik duyarlılıkları ve moleküler tiplendirilmesi. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2023; 20(3):162-168

Öz: Bu çalışmada; Kayseri ilinde satışa sunulan tavuk eti örneklerinden *Arcobacter* spp'nin izolasyonu, identifikasyonu ve elde edilen izolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi ve moleküler tiplendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, tavuk eti satış noktalarından toplanan toplam 100 adet tavuk eti örneği materyal olarak kullanıldı. *Arcobacter* spp.'lerin izolasyonu amacıyla ön zenginleştirme ve membran filtrasyonu metodundan yararlanıldı. Elde edilen *Arcobacter* spp. izolatlarının identifikasyonu fenotipik testler ve Multiplex Polimeraz Zincir Reaksiyonu (mPZR) ile gerçekleştirildi. *Arcobacter* spp. izolatların eritromisin azitromisin, enrofloksasin, tetrasiklin, ampisilin, trimetoprim-sulfametoksazol, amoksisilin-klavulanik asit, gentamisin, streptomisin, neomisin antibiyotiklerine karşı duyarlılıklarının saptanması amacıyla disk difüzyon testi yönteminden yararlanıldı. *Arcobacter* spp. izolatlarının genotiplendirilmesi Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR) ile gerçekleştirildi. Bu çalışmada, izolasyon işlemi sonucunda toplanan 100 adet tavuk eti örneğinin 23'ü (%23) *Arcobacter* spp. yönünden pozitif bulundu. Moleküler identifikasyon sonucunda, elde edilen, 23 *Arcobacter* spp. izolatının 3'ü *Arcobacter cryaerophilus*, 20'si ise *Arcobacter butzleri* olarak tanımlandı. Antibiyotik duyarlılık testi sonucunda, *Arcobacter* spp. izolatlarının sırasıyla 12'sinin (% 52.17) eritromisine, 13'ünün (%56.52) amoksisilin-klavulanik asite, 20'sinin (%86.95) trimetoprim/sulfametaksazole, 20'sinin (%86.95) ampisiline, 8'inin (%34.78) enrofloksasine, 2'sinin (%8.69) tetrasikline, 5'inin (%21.73) streptomisine, 16'sinin (%69.56) azitromisine ve 21'inin (%91.3) de neomisine dirençli olduğu tespit edildi. Ayrıca tüm izolatların gentamisine duyarlı olduğu belirlendi. Sonuç olarak, çoklu antibiyotik dirençli olduğu belirlenen *Arcobacter* spp.'nin yaygın olarak tüketilen kanatlı etinde bulunması, insanlarda gastroenterit ve bağırsak dışı hastalıklara neden olan bu etkenlerin halk sağlığı açısından risk oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle kanatlı karkaslarının etken ile kontaminasyonun önlenmesi ve gıdaların üretimi, işlenmesi, depolanması ve satışı hakkında personelin eğitilmesinin, kanatlı etlerinden kaynaklanan hastalıkları engellemekte önemli rol oynayacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotik duyarlılık, *Arcobacter* spp., moleküler tiplendirme, tavuk eti

***Arcobacter* spp. in Chicken Meat: Isolation, Identification, Antibiotic Susceptibility and Molecular Typing**

Abstract: In this study; the isolation and identification of *Arcobacter* spp from chicken meat samples sold in Kayseri province and to determine the antibiotic susceptibility and molecular typing of the obtained isolates were aimed. For this purpose, a total of 100 chicken meat samples collected from chicken meat sales points were used as material. Pre-enrichment and membrane filtration methods were used for the isolation of *Arcobacter* spp. For the identification of the obtained *Arcobacter* spp, isolates were performed by means of phenotype tests and multiplex Polymerase Chain Reaction (m PCR). The disk diffusion test method was used to determine the susceptibility of *Arcobacter* spp. isolates to erythromycin, azithromycin, enrofloxacin, tetracycline, ampicillin, trimethoprim-sulfamethoxazole, amoxicillin-clavulanic acid, gentamicin, streptomycin, neomycin antibiotics. For genotyping *Arcobacter* spp. Isolates were performed with Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR). In this study, 23 (23%) of 100 chicken meat samples collected as a result of the isolation process were found to be positive for *Arcobacter* spp. As a result of the molecular identification tests, 3 of 23 *Arcobacter* spp. isolates were identified as *Arcobacter cryaerophilus* and 20 isolates were as *Arcobacter butzleri*. Antibiotic susceptibility test revealed that 12 (52.17%) of *Arcobacter* spp isolates were resistant to erythromycin, 13 (56.52%) to amoxicillin-clavulanic acid, 20 (86.95%) to trimethoprim/sulfamethoxazole and ampicillin, 8 (86.95%) to enrofloxacin, 2 (8.69%) to tetracycline, 5 (21.73%) to streptomycin, 16 (69.56%) to azithromycin, and 21 (91.3%) to neomycin. In addition, it was determined that all isolates were susceptible to gentamicin. As a result, the presence of *Arcobacter* spp, which has been determined to be multi-antibiotic resistant, in widely consumed poultry meat, indicates that these agents, which cause gastro enteritis and extra intestinal diseases in humans, may pose a risk to public health. For this reason, it is thought that preventing contamination of poultry carcasses with the agent and training the food handlers pre venting diseases caused by poultry meat.

Keywords: Antibiotic susceptibility, *Arcobacters* pp, chicken meat, molecular typing

Geliş Tarihi/Submission Date : 05.01.2023

Kabul Tarihi/Accepted Date :29.05.2023

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2018-8137 kod ile desteklenen yüksek lisans tezinden türetilmiştir.

Giriş

Tavuk eti kısa zamanda pişmesi ve hazır tüketim için uygun ürün çeşitliliğine sahip olması açısından, ülkemizde fazlaca tüketilen gıdalar arasında ilk sıralar da yer almaktadır (Parlakay ve ark., 2022). Bununla birlikte tavuk eti, sağlıklı hayvanlardan elde edilmez veya uygun koşullarda muhafaza edilmez ise insan sağlığı için tehdit oluşturabilir (Ertaş, 2009). Tavuk karkaslarına *Arcobacter* spp. ile bulaşma kesim esnasında, kesimhanedeki ekipman ve dışkı içeriği gibi birçok nedenlerle olabilmektedir (Anadut ve Gümüşsoy, 2005). Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü tarafından 250'den fazla gıda kaynaklı hastalık tanımlanmıştır. Gıda kaynaklı hastalıkların yarısından fazlasının bakteriyel orijinli olduğu bilinmektedir. Son yıllarda, *Arcobacter* spp. enfeksiyonları gittikçe önem kazanmaya başlamıştır (Gürel ve Aslan, 2019).

Arkobakterler, kanatlı eti ve ürünleri başta olmak üzere çeşitli hayvansal gıdalar ve su kaynaklarını kontamine edebilen gıda kaynaklı zoonotik enteropatojenlerdir (Jribi ve ark., 2020). Bu türler, insan enfeksiyonlarının potansiyel kaynağını oluşturmaları nedeni ile halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadırlar (Merga ve ark., 2011; Ramees ve ark., 2017). *A. butzleri* başta olmak üzere *A. cryaerophilus* ve *A. skirrowii* insanlarda gastroenterit (Kayman ve ark., 2012; Jasim ve Al-Abodi, 2021) ve bakteriyemi, çiftlik hayvanlarında üreme bozuklukları, mastitis ve mide ülserine yol açmaktadır (Collado ve Figueras, 2011). *Arcobacter*'ler ilk defa 1970'lerde domuzlarda abort olgularından izole edilmiş (Ellis ve ark., 1977) ve ilk kez 1991'de tanımlanmıştır (Vandamme ve ark., 1991). Daha önceleri *Campylobacteraceae* familyası içerisinde *Arcobacter* generisi içinde yer alan bakteriler son yıllarda yapılan genomik taksonomik çalışmalar neticesinde (Chieffi ve ark., 2020) ayrı bir aile olarak *Arcobacteraceae* familyasına yerleştirilmiştir. Böylece Arkobakterler, *Aliarcobacter*, *Halarcobacter*, *Malacobacter*, *Poseidonibacter* ve *Pseudarcobacter*'i içeren altı farklı genusa ayrılmıştır (Müller ve ark., 2020).

Bu çalışmada; Kayseri'de çeşitli market ve satış yerlerinde satışa sunulan tavuk eti örneklerinden *Arcobacter* spp.'nin izolasyonu ve identifikasyonu ile elde edilen izolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi ve moleküler tiplendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Tavuk eti örnekleri

Çalışmada, 2018-2019 yılları arasında Kayseri ilindeki farklı market ve tavuk eti satış yerlerinden toplanan toplam 100 adet tavuk eti örneği (bütün tavuk n=25, but n=25, kanat n=25, göğüs eti n=25) kullanıldı.

Arcobacter spp. izolasyonu

Arcobacter spp. izolasyonu amacıyla ön zenginleştirme ve membran filtrasyon metodundan yararlanıldı. Bu amaçla ön zenginleştirme işleminde öncelikle tavuk eti örnekleri steril distile su bulunan bir stomacher poşeti içinde iyice çalkalanarak yıkandı. Yıkama sıvısından 1 ml alınarak 9 ml cefoperazone-amphotericin-teicoplanin (CAT) supplement içeren *Arcobacter* Enrichment Broth (AEB) içerisine ilave edildi ve tüpler mikroaerobik koşullarda 37°C'de 48 saat inkübasyona tabi tutuldu. Takiben elde edilen zenginleştirme kültüründen 100 µl alınarak membran filtrasyon tekniği ile kanlı agar üzerine inoküle edildi ve petriyerler aerobik koşullarda 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda petriyerlerde üreyen *Arcobacter* spp. şüpheli kolonilere Gram boyama, hareket muayenesi, katalaz ve oksidaz testleri, indoksil asetat hidrolizi ve hippurat hidrolizi testleri ile aerobik koşullar altında ve 30°C'de üreme gibi fenotipik testler uygulandı.

Standart suş

Çalışmada *Arcobacter* spp. izolasyonu, identifikasyonu ve elde edilen izolatların antibakteriyel duyarlılıklarının belirlenmesi aşamalarında standart suş olarak, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Campylobacter jejuni* ATCC 700919 ve *Arcobacter butzleri* LMG 10828 kullanıldı.

Arcobacter spp. izolatlarının moleküler identifikasyonu

Elde edilen *Arcobacter* spp. izolatlarının moleküler identifikasyonu amacıyla mPCR testinden yararlanıldı. Bu amaçla ilk olarak *Arcobacter* spp. izolatlarından DNA ekstraksiyonu, Ultraclean DNA ekstraksiyon kiti (Mobio 12224-50, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. DNA ekstraksiyon işlemi üretici firmanın talimatları doğrultusunda yapıldı. Elde edilen DNA'lar kullanılmaya kadar -20°C'de muhafaza edildi. İdentifikasyon amacıyla kullanılan mPCR'da *Arcobacter* spp.'lerin 16S rRNA gen bölgesinden, büyüklüğü 257 ile 654 bp (basepair=baz çifti) arasında değişen kısımları çoğaltan türe özgü primerler kullanıldı. Reaksiyon miksi son konsantrasyonu 50 µl hacimde olacak şekilde hazırlandı. Reaksiyon karışımı; 2 µl DNA, 5 µl 10X PCR Buffer, 1.25 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 50 pmol ARCO, BUTZ, CRY1, ve CRY2 primerleri, 25 pmol SKIR primeri (Tablo 1), 1.5 U Taq polimerase şeklinde hazırlandı. DNA amplifikasyonu, toplam 32 siklusta 94°C'de 2 dk ön denatürasyon işlemi uygulamadan sonra 94°C'de 45 s, 61°C'de 45 s ve 72°C'de 30 s şeklinde gerçekleştirildi (Houf ve ark., 2000). Amplifikasyon sonucu elde edilen ürünler elektroforetik ortamda agaroz jel içerisinde separe edildi. Süre sonunda ortaya çıkan bandlar jel görüntüleme sisteminde (Vilber-Lourmat, Fransa), UV ışığında incelendi.

Antibakteriyel duyarlılık testi

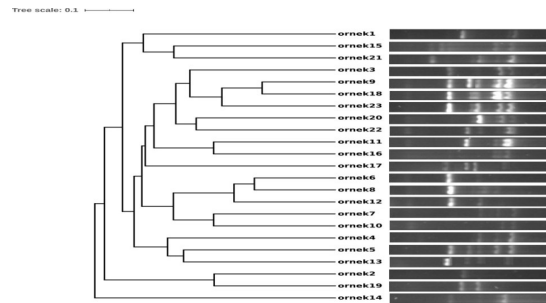
Arcobacter spp. izolatlarının antibiyotik duyarlılıklarını tespit etmek amacıyla disk difüzyon tekniği kullanıldı (Bauer ve ark., 1966). Bu kapsamda eritromisin (E, 15 µg), azitromisin (AZM, 15 µg), enrofloksasin (ENR, 5 µg), tetrasiklin (TE, 30 µg), ampisilin (AMP, 10 µg), trimetoprim-sulfametoksazol (SXT, 1.25/23.75 µg), amoksisilin-klavulanik asit (AMC, 30 µg), gentamisin (CN, 10 µg), streptomisin (S, 10 µg), ve neomisin (N, 10 µg), antibiyotik disklerinden yararlanıldı (Oxoid, İngiltere).

Moleküler tiplendirme

Arcobacter türlerinin klonal yakınlıklarının belirlenmesi amacıyla Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR)'den yararlanıldı (Houf ve ark., 2002). Çalışmada ERIC-1 ve ERIC-2 primerleri kullanıldı (Tablo 1). Amplifikasyon için PCR karışımı, 5 µl 10xPCR buffer A, 4 mM MgCl₂, 5 U Taq DNA polymerase, final konsantrasyonu 0.2 mM olacak şekilde dNTP karışımı, 25 pmol primerler ve 1 µl template DNA içeren toplam 50 µl hacimden oluşturuldu. Amplifikasyon koşulları ilk denatürasyon (94°C'de 5 dk) basamağını takiben 40 amplifikasyon siklusundan ve her bir siklus, 94°C'de 1 dk, 25°C'de 1 dk ve 72°C'de 2 dk aşamalarından oluşurularak, elde edilen PCR ürünleri, %2'lik agaroz jel daha önce belirtilen prosedüre göre hazırlanarak yürütüldü. Oluşan bantlar jel dökümantasyon sisteminde incelendi.

misin 16 (%69.56) ve neomisin 21 (%91.3)' ine dirençli olduğu tespit edilirken gentamisine tüm izolatların duyarlı olduğu saptanmıştır (Tablo 3). Bu izolatların 2'si 3 (%9.09), 3'ü 4 (%13.63), 6'sı 5 (%27.27), 8'i 6 (%36.36), 3'ü ise 7 (%13.63) antibiyotiğe karşı çoklu direnç göstermiştir (Tablo 4).

İzolatların genetik yakınlıklarının belirlenmesi ERIC-PCR ile belirlenmesi sonucunda, her bir izolatın ERIC bant profillerinin birbirinden farklılık gösterdiği saptandı. Bant sayılarının 1 ila 9 arasında değiştiği ortaya kondu. Çalışmamızda küme analizi yapılmadı ve izolatların bant profilleri ile benzerlik durumlarına göre klonal yakınlıkları filogenetik ağaçta gösterildi (Şekil 1).



Şekil 1. *A. butzleri* ve *A. cryaerophilus* izolatlarının filogenetik ağaç görüntüsü.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan primerler ve primer dizileri

Primer	Primer Dizilimi	Kaynak
ARCO	5'-CGT ATT CAC CGT AGC ATA GC-3'	Houf ve ark. (2000)
BUTZ	5'-CCT GGA CTT GAC ATA GTA AGA ATGA-3'	
CRY1	5'-TGC TGG AGC GGA TAG AAG TA-3'	
CRY2	5'-AAC AAC CTA CGT CCT TCG AC-3'	
SKIR	5'-GGC GAT TTA CTG GAA CAC A-3'	
ERIC1	5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3'	
ERIC2	5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'	

Bulgular

Bu çalışmada izolasyon işlemi sonucunda 100 adet tavuk eti örneğinin 23'ü (%23) *Arcobacter* spp. yönünden pozitif bulundu. Fenotipik testler sonucunda izolatların tamamı *Arcobacter* spp. olarak tanımlandı. Moleküler identifikasyon (mPCR) sonucunda 23 izolatın 3'ü *A. cryaerophilus* ve 20'si *A. butzleri* olarak tanımlandı (Tablo 2).

Antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre sırasıyla eritromisin 12 (%52.17), amoksisilin-klavulanik asit 13 (%56.52), trimetoprim/sulfametoksazol 20 (%86.95), ampisilin 20 (%86.95), enrofloksasin 8 (%34.78), tetrasiklin 2 (%8.69), streptomisin 5 (%21.73), azitro-

Tablo 2. Moleküler identifikasyon sonuçları

Tür	Pozitif örnek sayısı (%)
<i>A. cryaerophilus</i>	3 (%13.05)
<i>A. butzleri</i>	20 (%86.95)
<i>A. skirrowi</i>	-
Toplam	23 (%100)

Tablo 3. *Arcobacter* spp. izolatlarının antibiyotik duyarlılık test sonuçları

Antibiyotik	S	I	R
Eritromisin (E)	4(%17.39)	7(%30.4)	12(%52.17)
Amoksisilin-Klavulanik Asit (AMC)	10(%43.4)	-	13(%56.52)
Trimetoprim/Sulfametaksazol (SXT)	2(%8.69)	1(%4.34)	20(%86.95)
Ampisilin (AMP)	3(%13.04)	-	20(%86.95)
Enrofloksasin (ENR)	15(%65.2)	-	8(%34.78)
Tetrasiklin (TE)	21(%91.3)	-	2(%8.69)
Streptomisin (S)	7(%30.43)	11(%47.)	5(%21.73)
Gentamisin (CN)	9(%39.13)	4(%17.3)	-
Azitromisin (AZM)	7(%30.43)	-	16(%69.56)
Neomisin (N)	1(%4.34)	1(%4.34)	21(%91.3)

Tablo 4. *Arcobacter* spp. izolatlarının çoklu antibiyotik direnç profilleri

İzolat sayısı	Antibiyotik sayısı	Antibiyotik	%
1	3	N, AMP, SXT	9.09
1	3	N, AMP, AZM	
1	4	AMC, AMP, SXT, ENR	13.63
1	4	N, AMC, AMP, SXT	
1	4	N, AMP, AZM, SXT	27.27
3	5	N, AMC, AMP, SXT, ENR	
3	5	N, AMP, AZM, E, SXT	36.36
1	6	S, TE, N, AZM, E, ENR	
4	6	N, AMC, AMP, AZM, E, SXT,	13.63
1	6	N, AMC, AMP, AZM, SXT, ENR	
1	6	S, N, AMC, AMP, AZM, SXT	13.63
1	6	N, AMP, AZM, E, SXT, ENR	
2	7	S, N, AMC, AMP, AZM, E, SXT	13.63
1	7	S, TE, N, AZM, E, SXT, ENR	

Tartışma ve Sonuç

Arcobacter türleri önemli zoonotik patojen bakteri genusları arasında kabul edilmektedir (Cardoen ve ark., 2009; Çelik, 2016). *Arcobacter* spp. için en önemli bulaşma kaynakları su ve kanatlı etleri, kırmızı etler, süt gibi hayvansal gıdalardır (Ertaş, 2007). Fenotipik olarak benzerlik gösterdiği *Campylobacter* türleri gibi insanlarda gastroenterite ve buna bağlı ishale sebep olmaktadır (Phillips, 2001; Rivas ve ark., 2004; Çelik, 2016). Hayvanlarda ise, ishal dışında mastitis ve abortus olgularının, *Arcobacter* türleri ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir (Lerner ve ark., 1994; Wybo ve ark., 2004; Bucker ve ark., 2009; Dizdaroglu, 2016).

Yaptığımız çalışmada 100 tavuk eti örneğinin 23'ü *Arcobacter* spp. yönünden pozitif bulundu. Moleküler izolasyon sonucunda *Arcobacter* spp. izolatın 3'ü *A. cryaerophilus*, 20'si ise *A. butzleri* olarak tespit edilmiş, fakat *A. skirrowii* saptanamamıştır.

Kayseri ilinde yapılan bir çalışmada 50 tavuk örneğinin 20'sinde (%40) *Arcobacter* spp. pozitifliği saptadıklarını rapor etmişlerdir (Anadut ve Gümüşsoy, 2005). Araştırmacıların elde ettiği sonuçların bu çalışmadan daha yüksek olmasının sebebi, örnekleme ve izolasyon metodunun farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Doksanüçoğlu, 2006).

Kars ilinde yapılan bir çalışmada; araştırmacılar farklı marketlerden topladıkları tavuk karkaslarında *Arcobacter* spp. prevalansını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 44 adet tavuk karkasının 42'sinden (%95) *A. butzleri* saptamışlardır (Atabay ve ark., 2002). Doksanüçoğlu (2006) tarafından Ankara'da satışı sunulan tavuk eti örneklerinden yapılan çalışmada, toplam 90 tavuk örneğini *Arcobacter* spp. varlığı açısından incelenmiştir. Çalışılan örneklerin 56'sında (%62.3) *Arcobacter* spp. saptanmıştır. Bu izolatların 49'u (%87.5) *A. butzleri* ve 7'si (%12.5) *A. cryaerophilus* olarak tanımlanmıştır. Tavuk eti örneklerinin

hiçbirinden *A. skirrowii* izole edilememiştir (Doksanüçoğlu, 2006). Kütahya'da yapılan bir diğer çalışmada; incelenen 35 tavuk numunesinin 5'inde (%14.3) *A. butzleri* ve 1'inde (%2.8) *A. cryaerophilus* olmak üzere toplam 6 (%17.1) izolatta *Arcobacter* spp. saptanmıştır (Dizdaroğlu İnce, 2016). İzmir'de yapılan bir araştırmada 100 tavuk karkası örneğinden toplam 55 (%55) *Arcobacter* spp. izole edilmiştir. Bu izolatların 45'i (%80) *A. butzleri*, 2'si (%3.6) *A. cryaerophilus*, 1'i (%1.8) *A. skirrowii* olarak tespit edilmiş ve 17 (%30.9) örnek identifiye edilememiştir (Molva ve Atabay, 2016). Sonuçlarımız karşılaştırıldığında bu çalışmalarda, çalışmamızdan daha yüksek oranlarda *Arcobacter* spp. izole edilmiştir. Bunun nedenleri; araştırma bölgelerinin iklim ve coğrafi farklılıkları, kanatlı kesimhanelerinin hijyen koşulları, depolama ve market şartları ve bunlara bağlı kontaminasyon oranının yüksek olması ile açıklanabilir (Dizdaroğlu, 2016). Ayrıca yapılan çalışmalarda *A. skirrowii*'nin izole edilememesi ya da düşük oranlarda saptanması çalışmamızla paralellik göstermektedir.

İran'da beş farklı bölgeden 400 tavuk karkası örneği toplanmış, 185 (46.3%) örneğin *Arcobacter* spp. ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Bunların % 82.7'sinin *A. butzleri*, %12.4'nün *A. cryaerophilus* ve %4.9'nun *A. skirrowii* olduğu tespit edilmiştir (Rahimi ve ark., 2012). Fernandez ve ark. (2015) Güney Şili'de yapmış oldukları çalışmada toplam 125 tavuk etinde, 90 (%72.0) *A. butzleri*, 2 (%1.6) *A. cryaerophilus* ve 3 (%2.4) *A. butzleri* ve *A. cryaerophilus* birlikte etmişlerdir (Fernandez ve ark., 2015). Bu çalışmalarda ki, arkobakter türlerinin tavuk karkas örneklerindeki dağılımı çalışmamızla paralellik göstermektedir. Brezilya'daki kanatlı kesimhanelerinden 300 tavuk kesimi analiz edilmiş, %18.3 oranında *Arcobacter* spp. izole edilmiştir. İzolatların %63.6'sı *A. butzleri* ve %36.3'ü *A. cryaerophilus* olarak tanımlanmıştır (de Oliveira ve ark., 1997). Elde ettiğimiz sonuçların bu çalışmadan daha yüksek olmasında ülkemizde bulunan işletmelerdeki kullanılan alet ve ekipmanların hijyenik durumu, çalışan personel ve diğer hijyenik koşulların farklılıkları etkilidir. Ayrıca yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçların değişkenlik göstermesinde izolasyon aşamasında uygulanan ön zenginleştirme yöntemleri, izolasyon prosedürleri ve identifikasyon için uygulanan yöntemler etkilidir. Bunun nedeni olarak *Arcobacter* spp. izolasyonu için kullanılan farklı besiyerlerinin içerdikleri selektif maddelere karşı bazı arkobakter türlerinin duyarlı olduğu bir çok çalışmada bildirilmiştir (Doksanüçoğlu, 2006).

Dünyanın çeşitli ülkelerinde *Arcobacter* türlerinin, antibiyotik dirençlilik profilleri incelenmiştir (Kabeya ve ark., 2004). Bu çalışmada *Arcobacter* spp. yönünden pozitif olan izolatlara disk difüzyon testi uygulanmıştır ve sırasıyla neomisin 21 (%91.3), trimetoprim/sülfametaksazol 20 (%86.95), ampisilin 20 (%86.95), azitromisin 16 (%69.56), amoksisilin-clavulanik asit 13 (%56.52), eritromisin 12 (% 52.17), enrofloksasin

8 (%34.78), streptomisin 5 (%21.73) ve tetrasiklin 2'e (%8.69) dirençli olduğu tespit edilirken gentamisine tüm izolatların duyarlı olduğu saptanmıştır.

Test edilen 39 izolatın 26'sının amoksisiline, amoksisilin/klavulanik asite ve ampisiline dirençli olduğu bulunmuştur. Bir izolatneritromisine dirençli olduğu ve dördünün eritromisine karşı orta düzeyde direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Tüm izolatlarınamikasin, klo-ramfenikol, danofloksasin, enrofloksasin, nitrofurantoin, nalidiksik asit, tetrasiklin ve tobramisine duyarlı olduğu bildirilmiştir (Atabay ve Aydın, 2001). Sonuçların farklılık göstermesinin nedeni olarak çalışmalarda kullanılan antibiyotiklerin etkin olmaya başladığı değerlerin farklı olmasından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir (Kabeya ve ark., 2004). Kütahya' da yapılan çalışma sonucunda izolatların tamamı streptomisin, gentamisin ve tetrasikline karşı duyarlı, eritromisine ise orta derecede duyarlı bulunmuştur. İzolatlardan beş tanesinin siproflaksasine, beş tanesinin sefalotine, iki tanesinin de ampisiline dirençli olduğu tespit edilmiştir (Dizdaroğlu, 2016). Araştırmamızdaki sonuçlar ile bu çalışma sonuçları paralellik göstermektedir.

Son ve ark. (2007), etlik tavuk karkaslarından izole edilen *Arcobacter* izolatlarının antibiyotik duyarlılıkları üzerine yaptıkları çalışmada 174 *Arcobacter* izolatının çoğunun (%93.7; n=163) bir veya daha fazla antimikrobiyal maddeye karşı dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Tüm *Arcobacter* izolatları arasında en yüksek direnç prevalansının klindamisine (%88.5; n=154), ardından azitromisine (%69.5; n=121) ve nalidiksik aside (%20.7; n=36) ait olduğu saptanmıştır. Siproflaksasin ile eritromisine dirençli *Arcobacter* spp. izolatlarının yüzdesinin çok düşük olduğu, tüm *Arcobacter* spp. izolatlarının gentamisin ve tetrasikline duyarlı olduğu bildirilmiştir. Shah ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *A. butzleri*'nin en yüksek direnci ampisilin ve siproflaksasine karşı geliştirdiği belirtilirken, en az direncin gentamisine karşı olduğu saptanmıştır. Sonuçlar, çalışmamızdaki antibiyotik direnç sonuçları ile benzerlik göstermektedir (Shah ve ark., 2013).

Daha önce yapılan çalışmalarda *Arcobacter* türlerini ayırt etmek için ERIC-PCR'nin iyi bir teknik olduğu bildirilmiştir (Atabay ve ark. 2002; Houf ve ark. 2002a; Van Driessche ve ark., 2005). Bu çalışmada elde edilen *Arcobacter* spp. izolatlarının ERIC PCR profillerinin birbirinden farklılık gösterdiği saptandı. Aydın ve ark. (2007) yapmış olduğu bir çalışmada, tavuklardan ve sığırlardan izole edilen *Arcobacter* suşları arasında yüksek heterojenlik bildirmişlerdir. Atabay ve ark. (2002) ise, tavuk karkaslarından izole edilen 35 *A. butzleri* suşunda 11 alt tip saptamışlardır. Bu çalışmada ve daha önce bildirilen çalışmalarda *Arcobacter* izolatları arasındaki yüksek heterojenliğin nedeninin, bu bakterinin çevrede birden fazla kontaminasyon kaynağı ile bulaştığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, tüketimi fazla olan tavuk etlerinde, oldukça sık rastlanan ve gıda patojeni olarak kabul edilen *Arcobacter* spp.'ler bu çalışmada izole edilmiştir. Kayseri ilinde tüketime sunulan 100 adet tavuk karkası örneğinden 23 tanesinin *Arcobacter* spp. ile kontamine olduğu ve bu örneklerin PCR yöntemi ile tür düzeyinde tanısı yapılarak 20 adet *A. butzleri* ve üç adet *A. cryaerophilus* saptanmıştır. *Arcobacter*'lerin insanlarda gastroenterit ve ekstra intestinal hastalıklardan izole edilmeleri sebebiyle halk sağlığı açısından önemli bir risk faktörü olduğu saptanmıştır. Bu nedenle kanatlı karkaslarının etken ile kontaminasyonun önlenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. *Arcobacter*'ler kanatlı karkaslarına kesim esnasında, kesimhanedeki ekipman ve dışkı içeriği gibi birçok nedenlerle bulaşabilmektedir. Kontaminasyon kaynağının tespiti ve ortadan kaldırılması hastalık olgularının önlenmesinde oldukça önemlidir. Bunun için hayvanların kesim aşamasından tüketiciye sunumuna kadar olan bütün aşamalarda hijyenik şartların sağlanmasına dikkat edilmelidir.

Kaynaklar

- Anadut OF, Gümüşsoy SK. Isolation of *Arcobacter* spp. from poultry carcasses put on consumption in Kayseri. Sağlık Bilim Derg 2005; 14(2): 125-31
- Atabay HI, Aydın F. Susceptibility of *Arcobacter butzleri* isolates to 23 antimicrobial agents. Lett Appl Microbiol 2001; 33: 430-3.
- Atabay HI, Bang DD, Aydın F, Erdoğan HM, Madsen M. Discrimination of *Arcobacter butzleri* isolates by polymerase chain reaction-mediated DNA fingerprinting. Lett Appl Microbiol 2002; 35: 141-5.
- Aydın F, Gümüşsoy KS, Atabay HI, İca T, Abay S. Prevalence and distribution of *Arcobacter* species in various sources in Turkey and molecular analysis of isolated strains by ERIC-PCR. J Appl Microbiol 2007; 103(1):27-35.
- Bauer AW. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am J Clin Pathol 1966;45: 149-58.
- Bucker R, Troeger H, Kleer J, Fromm M, Schulzke JD. *Arcobacter butzleri* induces barrier dysfunction in intestinal HT-29/B6 cells. J Infect Dis 2009; 200: 756-64.
- Cardoen S, Van Huffel X, Berkvens D, Quoilin S, Ducoffre G, Saegerman C, Speybroeck N, Imberechts H, Herman L, Ducatelle R, Dierick, K. Evidence-based semiquantitative methodology for prioritization of foodborne zoonoses. Foodborne Pathog Dis 2009; 6(9): 1083-96.
- Chieffi D, Fanelli F, Fusco, V. *Arcobacter butzleri*: Up-to-date taxonomy, ecology, and pathogenicity of an emerging pathogen. Compr Rev Food Sc Food Saf 2020; 19(4): 2071-9.
- Collado L, Figueras MJ. Taxonomy, epidemiology, and clinical relevance of the genus *Arcobacter*. Clin Microbiol Rev 2011; 24(1):174-92.
- Çelik C. Koyun karkas ve dışkılarında *Arcobacter* türlerinin varlığı ve antibiyotik direnç profillerinin araştırılması. Doktora tezi, İstanbul Üniv Sağlık Bil Enst, İstanbul, 2016.
- De Oliveira SJ, Baetz AL, Wesley IV, Harmon KM. Classification of *Arcobacter* species isolated from aborted pig fetuses and sows with reproductive problems in Brazil. Vet Microbiol 1997; 57(4):347-54.
- Dizdaroğlu İnce, E. Kütahya ilinde ticari olarak tüketime sunulan çeşitli gıda ürünlerinde *Arcobacter* türlerinin m-PCR ile saptanması ve biyofilm özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Dumlupınar Üniv Fen Bil Enst, Kütahya 2016; s.51-62.
- Doksanüçoğlu Ç. Ankara'da satışa sunulan tavuk eti örneklerinden *arcobacter* türlerinin izolasyonu ve bu izolatların değişik antibiyotiklere karşı duyarlılıkları. Yüksek lisans tezi, Gazi Üniv Fen Bil Enst, Ankara; 2006.
- Ellis WA, Neill SD, O'brien JJ, Ferguson HW, Hanna J. Isolation of Spirillum/Vibrio-like organisms from bovine fetuses. Vet Rec Open 1977; 100(21): 451-2.
- Ertas N. Sığır ve koyun kıymalarında *arcobacter* türlerinin prevalansı ve multiplex PCR tekniği ile identifiye edilmesi. Doktora tezi, Selçuk Üniv Sağlık Bil Enst, Konya; 2007.
- Ertaş N, Doğruer Y. Prevalence of *Arcobacter* species in ground meat from cattle and sheep using multiplex PCR techniques. Fırat Üniv Sağlık Bil Vet Derg 2009; 23(2): 95-100.
- Fernandez H, Villanueva MP, Mansilla I, Gonzalez M, Latif F. *Arcobacter butzleri* and *A. cryaerophilus* in human, animals and food sources, in southern Chile. Brazilian J Microbiol 2015; 46(1): 145-7.
- Gürel Z, Aslan, D. Halk sağlığı bakış açısıyla gıda kaynaklı krizler ve önleme yaklaşımları. Turk Hij Den Biyol Derg 2019; 76(3): 361-76.
- Houf K, De Zutter L, Van Hoof J, Vandamme P. Assessment of the genetic diversity among *Arcobacter*'s isolated from poultry products by using two PCR-based typing methods. Appl Environ Microbiol 2002; 68(5): 2172-8.
- Houf K, Tutenel A, De Zutter L, Van Hoof J, Vandamme P. Development of a multiplex PCR assay for

- the simultaneous detection and identification of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*. FEMS Microbiol Lett 2000; 193(1): 89-94.
- Jasim SA, Al-Abodi HR. Resistance rate and novel virulence factor determinants of *Arcobacter* spp., from cattle fresh meat products from Iraq. Microb Pathog 2021; 152: 104649.
- Jribi H, Sellami H, Amor SB, Ducournau A, SifréE, Benejat L, Mégraud F, Gdoura R. Occurrence and antibiotic resistance of *Arcobacter* species isolates from poultry in Tunisia. J Food Prot 2020; 83(12): 2080-6.
- Kabeya H, Maruyama S, Morita Y, Ohsuga T, Ozawa S, Kobayashi Y, Abe M, Katsube Y, Mikami, T. Prevalence of *Arcobacter* species in retail meats and antimicrobial susceptibility of the isolates in Japan. Int J Food Microbiol 2004; 90(3): 303-8.
- Kayman T, Abay S, Hizlisoy H, Atabay HI, Diker KS, Aydin F. Emerging pathogen *Arcobacter* spp. in acute gastroenteritis: molecular identification, antibiotic susceptibilities and genotyping of the isolated arcobacters. J Med Microbiol 2012; 61(10): 1439-44.
- Lerner J, Brumberger V, Preac-Mursic V. Severe diarrhea associated with *Arcobacter butzleri*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13: 660-2.
- Merga JY, Leatherbarrow AJH, Winstanley C, Bennett M, Hart CA, Miller WG, Williams NJ. Comparison of *Arcobacter* isolation methods, and diversity of *Arcobacter* spp. in Cheshire, United Kingdom. Appl Environ Microbiol 2011; 77(5): 1646-50
- Molva C, Atabay HI. Prevalence and diversity of *Arcobacter* spp. in retail chicken meat in Turkey. Microbiol Res 2016; 7(1): 6578.
- Müller E, Abdel-Gil MY, Hotzel H, Hänel I, Tomaso H. *Aliarcobacter butzleri* from water poultry: Insights into antimicrobial resistance, virulence and heavy metal resistance. Genes 2020; 11(9): 1104.
- Phillips CA. *Arcobacter* spp in food: isolation, identification and control. Trends Food Sci Technol 2001; 12: 263-75.
- Parlakay O, Faris U, Merve A, Gönül E, Şukuf ME. Tüketicilerin tavuk eti satın alma ve tüketim tercihlerinin belirlenmesi: Hatay İli örneği. MKU Tar Bil Derg 2022; 27(3): 556-64.
- Rahimi E, Hormozipoor H, Ahangaran MG, Yazdi F. Prevalence of *Arcobacter* species on chicken carcasses during processing in Iran. J Appl Poultry Res 2012; 21(2): 407-12.
- Ramees TP, Dhama K, Karthik K, Rathore RS, Kumar A, Saminathan M, Tiwari R, Malik YS, Sing RK. *Arcobacter*: An emerging food-borne zoonotic pathogen, its public health concerns and advances in diagnosis and control-a comprehensive review. Vet Q 2017; 37: 136-61.
- Ramees TP, Rathore RS, Bagalkot PS, Ravi Kumar GVPPS, Mohan HV, Anoopraj R, Kumar A, Dhama K. Real-time PCR detection of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus* in chicken meat samples. J Pure Appl Microbiol 2014; 8: 3165-9.
- Rivas L, Fegan N, Vanderline P. Isolation and characterisation of *Arcobacter butzleri* from meat. Int J Food Microbiol 2004; 91: 31-44.
- Son I, Englen, MD, Berrang ME, Fedorka-Cray PJ, Harrison MA. Prevalence of *Arcobacter* and *Campylobacter* on broiler carcasses during processing. Int J Food Microbiol 2007; 113(1): 16-22.
- Shah AH, Saleha AA, Zunita Z, Murugaiyah M, Aliyu AB, Jafri N. Prevalence, distribution and antibiotic resistance of emergent *Arcobacter* spp. from clinically healthy cattle and goats. Transbound Emerg Dis 2013; 60(1): 9-16.
- Van Driessche E, Houf K, Vangroenweghe F, De Zutter L, Van Hoof J. Prevalence, enumeration and strain variation of *Arcobacter* species in the faeces of healthy cattle in Belgium. Vet Microbiol 2005; 105: 149-54.
- Vandamme P, Falsen E, Rossau R, Hoste B, Segers P, Tytgat R, De Ley J. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. Int J Syst Evol Microbiol 1991; 41(1): 88-103.
- Wybo I, Breynaert J, Lauwers S, Lindenburg F, Houf K. Isolation of *Arcobacter skirrowii* from a patient with chronic diarrhea. J Clin Microbiol 2004; 42(4): 1851-2.



The Effectiveness of DL-Malic Acid on Fattening Performance and Rumen Parameters in Beef Cattle Rations Containing High Concentrated Feed and Dry Forage*

Osman KIYICI^{1,a}, Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ^{2,b}, Kanber KARA^{2,c}, Serkan ÖZKAYA^{3,d},
Jale METİN KIYICI^{4,e}

¹Kayseri Feed Factory, Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases,
Kayseri-TÜRKİYE

³Isparta Applied Sciences University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Isparta-TÜRKİYE

⁴Erciyes University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0002-0317-5231; ^b0000-0003-0341-4594; ^c0000-0001-9867-1344; ^d0000-0003-3389-0188;
^e0000-0002-5030-5748

Corresponding author: Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ; E-mail: bguclu@erciyes.edu.tr

Atıf Yapmak için: Kıyıcı O, Kocaoğlu Güçlü B, Kara K, Özkaya S, Kıyıcı JM. The effectiveness of dl-malic acid on fattening performance and rumen parameters in beef cattle rations containing high concentrated feed and dry forage. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2023; 20(3):169-177

Abstract: This study aimed to determine the effects of DL-malic acid supplementation in beef cattle rations containing high concentrated feed and dry forage (alfalfa hay and wheat straw) on fattening performance, carcass traits and rumen parameters. In present study, 47 male beef cattle (19 Simmental, 28 Limousine) at the age of 14-16 months were used. Cattle breeds were divided into two groups (0 and 30 g/day of DL-malic acid). In the present study, the differences in live weights, daily live weight gains and carcass weights of the control and DL-malic acid groups were found to be significant in Simmental breed ($P<0.05$), but insignificant in Limousine breed. The beef cattle body measurements (withers height, chest girth, rump height, body length) did not change with malic acid supplementation ($P>0.05$). The malic acid addition increased the molarities of acetic, butyric, propionic and total volatile fatty acids (TVFA) and acetic acid/ propionic acid ratio in the rumen fluid ($P<0.05$). The addition of malic acid had no significant effect on the number of ciliated protozoa (*Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha* and *Dasytricha*) and total bacteria count in the rumen fluid ($P>0.05$). As a result, DL-malic acid supplementation to beef cattle ration varied with cattle breeds in terms of fattening performance, while such supplementations had positive effect on fattening in Simmental breed. Besides, the increase in TVFA and acetic, propionic and butyric acids, which are indicators of fiber and carbohydrate fermentation efficiency in the rumen, shows that malic acid has a positive effect on feed digestion in the rumen.

Keywords: DL-malic acid, Limousine, fattening performance, rumen parameters, Simmental

Yüksek Düzeyde Konsantre Yem ve Kuru Kaba Yem İçeren Besi Sığırı Rasyonlarında DL-Malik Asitin Besi Performansı ve Rumen Parametreleri Üzerine Etkinliği

Öz: Bu çalışmada, yüksek konsantre yem ve kuru kaba yem (yonca otu ve buğday samanı) içeren besi sığırı rasyonlarına DL-malik asit ilavesinin besi performansı, karkas özellikleri ve rumen parametreleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada 14-16 aylık yaştaki 47 erkek besi sığırı (19 Simental, 28 Limousine) kullanıldı. Sığır ırkları iki gruba ayrıldı (0 ve 30 g/gün DL-malik asit). Kontrol ve DL-malik asit gruplarının canlı ağırlıkları, günlük canlı ağırlık artışları ve karkas ağırlıkları arasındaki farklılık Simmental ırkında önemli ($P<0.05$), Limousine ırkında ise önemsiz bulundu. Besi sığırlarının vücut ölçüleri (cidago yüksekliği, göğüs çevresi, sağrı yüksekliği, vücut uzunluğu) malik asit takviyesi ile değişmedi ($P>0.05$). Malik asit ilavesi rumen sıvısındaki asetik, bütirik, propiyonik ve toplam uçucu yağ asitlerinin (TVFA) molaritelerini ve asetik asit/propiyonik asit oranını arttırdı ($P<0.05$). Malik asit ilavesinin rumen sıvısındaki siliatlı protozoa (*Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha* ve *Dasytricha*) sayısı ve toplam bakteri sayısı üzerinde önemli bir etkisi olmadı ($P>0.05$). Sonuç olarak, besi sığırı rasyonlarına DL-malik asit takviyesinin besi performansı açısından sığır ırklarına göre farklılık gösterdiği ve Simental ırkında besiye olumlu etkisinin olduğu belirlendi. Ayrıca rumende lif ve karbonhidrat fermentasyon etkinliğinin göstergesi olan TVFA ile asetik, propiyonik ve bütirik asitlerdeki artış dikkate alındığında, malik asidin rumende yem sindirimine etkisinin olumlu olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Besi performansı, DL-malik asit, Limuzin, rumen parametreleri, Simental

Geliş Tarihi/Submission Date : 12.12.2022

Kabul Tarihi/Accepted Date : 29.05.2023

*This study was supported by Erciyes University - Scientific Research Projects Coordination Unit under grant number of TYL-2017-7636 and a summarized the master's thesis named "Investigation of the Effects of DL-Malic Acid Supplementation on Beef Cattle Diets on Cattle Performance and Some Rumen Parameters" of Osman KIYICI. Authors also indebted to the Özsoy Farm Beef Operations Co. (Kayseri, Turkey) for their supports during phenotyping.

Introduction

Organic acids are either naturally encountered in various plant and animal substrates or generated through biochemical metabolism of these substrates and they have recently been used as alternative feed additives in animal rations (Ricke, 2003; Dittoe et al., 2018). Organic acids have long been used as food additives and preservatives, but they don't have much history for use in animal nutrition (Sahoo and Jena, 2014). It was reported that organic acid supplementations to animal diets reduced feed pH, brought in a positive aroma to animal feeds, increased feed consumption, increased secretion of digestive enzymes secreted from pancreas, preserved electrolyte balance in gastro-intestinal system and increased digestion and absorption of the minerals (Dibner and Buttin, 2002). Naturally occurring or fermentation-induced organic acids, like lactic acid, citric acid, malic acid, are the compounds generally composed of fatty acids included in carboxyl group (-COOH) and salt forms like Ca-formate, Ca-propionate. In compound feed industry, to prevent heat-induced destruction of organic acids especially during the pelletizing phase and to improve efficiency of organic acids, less odorous and less volatile salt forms are supplemented into compounds instead of natural organic acids. Strong or weak effects of organic acids may vary based on acid chain length, degree of saturation, ambient microflora (rumen or intestine), type of bacteria-like chemical and environmental factors (Mirza et al., 2016; Dittoe et al., 2018). High doses of organic acids can have a negative effect on rumen fermentation. Kara et al. (2015) determined that high doses formic acid increased in vitro enteric methane production and low doses decreased in vitro total gas production, metabolic energy and organic matter digestion and high doses have increased all these parameters of alfalfa herbage.

Malic acid is used as nutrient by the bacteria group converting lactic acid into propionic acid, a primary material of glucose production, through stimulating lactate use by *Selenomonas ruminantium*. Malic acid supplementation into ruminant rations reduces rate of decrease in post-feeding rumen pH. Additionally, malic acid-containing diets reduce number of protozoa and methane release (Kara, 2015). Therefore, it is significant to determine whether malic acid was effective on growth and development of beef, dairy or combined-yield ruminant breeds and yield parameters of these ruminants (Toprak and Yilmaz, 2014). When the animal feeding studies about these natural preservatives were evaluated, it was observed that further in vivo studies were needed for them to be used as feed additives. The hypothesis of this study is that the use of malic acid, which is one of the organic acids used as a rumen modulator, in the rations of beef cattle (Limousine and Simmental) will have a

significant effect on fattening performance, rumen bacteria and ciliate protozoa, and rumen fluid volatile fatty acids. This study was conducted to determine the effects of DL-malic acid supplementations into beef cattle rations of fattening performance, carcass traits and rumen parameters.

Material and Method

Throughout the experiments, animals were housed in a commercial farm (Ozsoy Fattening Farm in Bünyan town of Kayseri province) [with 10.05.2017 dated and 17/047 numbered decision of Animal Experiments Local Ethics Committee (HADYEK)].

A commercial dietary DL-malic acid produced for ruminant nutrition was used in this study. This commercial supplement was included 65% of DL-malic acid, and 20% sodium-calcium salts. The product was powder form.

In present experiments, 47 male feeder cattle (19 Simmental (SIM) breed and 28 Limousine (LIM) breed) at the age of 14-16 months were used. Live weights of animal materials were determined at the beginning of the experiments and animal breeds were grouped as SIM control (n=9) and SIM DL-malic acid (n=10), LIM control (n=16) and LIM DL-malic acid (n=12). Animals were subjected to a 15-day adaptation period to adapt each other and their groups and then 120-day fattening program was applied to experimental groups.

The beef cattle were concentrated mix feed and high dry forage (alfalfa hay and wheat straw). The concentrated mix feed was the fattening finishing, which produced for beef cattle from a commercial company. The concentrated mix feed was in powder form and forages were chopped and mixed in feeding wagon.

In DL-malic acid group diets, different from the control group diets (SIM and LIM), DL-malic acid were spilled over the feeders in morning feeding as to have 30 g per animal. Number of beef cattle was taken into consideration in feeding and two meals were provided daily (at 08:00 and 18:00) as total mixed ration (TMR). Feed quantities were determined in accordance with NRC (1996) standards by taking dry matter, energy and the other nutrient requirements into consideration. Percentages of feedstuffs into total mixed ration and DM intake of beef cattle were given Table 1. Water was provided ad libitum to all animals.

Table 1. Percentages of feedstuffs into total mixed ration and DM intake of beef cattle

	Days of fattening study	
	0-70 th days	71-120 th days
	%, as DM in TMR	
Concentrate feed mixture	69.56	76.92
Alfalfa hay	8.65	5.76
Wheat straw	21.73	17.30
	DM intake, kg/day	
Wheat straw	2.00	2.00
Alfalfa hay	1.00	0.75
Concentrate feed mixture	9.00	10.00
Total TMR intake	12.00	12.75
	Nutrient matter intake	
CP	1309 g/day	1400 g/day
NDF	3270 g/day	3162 g/day
ME	31.2 Mcal/day	32.7 Mcal/day

DM: Dry Matter, CP: Crude Protein, NDF: Neutral Detergent Fiber

Chemical compositions of the feedstuffs used in study were analysed in accordance with the method specified in AOAC (2003). The contents of neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) form structural fiber substances in feedstuffs were conducted in accordance with the method specified by Goering and Van Soest (1970) (Table 2).

measuring stick, rump height was measured with the use of a measuring compass and chest girth was measured with the use of a measuring tape. Withers height (WH) is the vertical distance from the ground to the highest point of withers; rump height (RH) is the distance between the outer sides of Tuber ichiies; body length (BL) is the horizontal distance from atric-

Table 2. Chemical compositions of concentrated mix feed and forages used in study

Chemical compositions, %	Feeds		
	Concentrated mix feed	Alfalfa hay	Wheat straw
DM	91.16	93.35	92.85
CP	12.40	14.83	2.22
EE	3.27	1.08	0.94
CA	5.99	9.39	5.43
CC	5.75	31.09	42.79
ADF	6.07	36.51	49.81
NDF	15.14	44.48	72.11
ME, kcal/kg	2770	2104	2034

DM: Dry Matter; CP: Crude Protein; EE: Diethyl Ether Extract; CA: Crude Ash; CC: Crude Cellulose; ADF: Acid Detergent Fiber; NDF: Neutral Detergent Fiber; ADL: Acid Detergent Lignin; ME: Metabolic Energy.

Live weights of beef cattle were determined individually before morning feeding at the beginning, 30, 60, 90 and 120th (end) days of the experiments. Difference between weighing was expressed as live weight gain and dividing by the number of days was expressed as daily live weight gain. Following the slaughter and blood removal, head, skin, feet and entire internal organs were separated to get carcass weight. Carcass weight was then divided by slaughter weight to get hot carcass dressing percentage.

Body measurements [withers height (WH), chest girth (CG), rump height (RH) and body length (BL)] of beef cattle were taken at the beginning and end (120th day) of the experiments. Withers height and body length measurements were made with the use of

ulus huneri to tuber ichii and chest girth (CG) is the circumference measured from back of forelegs to the level of forth rib (Brown et al., 1973).

For rumen fluid analyses, the rumen fluids were taken from 12 beef cattle (6 of each breed and 3 of each group) via stomach tube after 3 hours from feeding at the end of the experiments. The rumen fluid samples were preserved -20°C until the laboratory analyses.

The frozen samples were thawed at 4°C and centrifuged at 15000 g for 15 min using a micro-centrifuge (Gyrozen 1524, Daejeon, South Korea). After, the supernatants were transferred into the vials (Chromacol, Thermo Fisher Scientific, Orlando, FL, USA). Analysis of the VFAs was carried out using a

gas chromatograph (TRACE™ 1300, Thermo Fisher Scientific, Orlando, FL, USA) equipped with an auto sampler (AI 1310, Thermo Scientific, Orlando, FL, USA), a polyethylene glycol column (length: 60 m, i.d: 0.25 mm, film thickness: 0.25 µm) (TG-WAXMS, Thermo Scientific, Orlando, FL, USA) and a flame ionization detector (FID). The carrier gas was helium at a constant flow rate of 1.5 ml/min. The injection volume was 0.5 µl. The samples were injected with split mode. The injection port temperature was 280°C. Oven temperature was programmed to increase from 160°C to 180°C at a rate 20°C/min. Air flow was 350 ml/min, and hydrogen flow was 35 ml/min. The temperature of FID detector was 300°C. Oven run time was 10 min. The concentrations of VFAs expressed as mmol/l were identified using a Xcalibur software programme (Thermo Scientific, Orlando, FL, USA). The concentrations of VFA [VA: valeric acid, IBA: iso-butyric acid, IVA: iso-valeric acid, PA: Propionic acid, BA: Butyric acid, AA: Acetic acid, TVFA: total volatile fatty acids] were given as mmol/L (Ersahince and Kara, 2017).

Total number of ciliated protozoan and generic composition were determined in accordance with the procedures specified in Dehority (1084). Fermentation liquid (0.1 ml) was fixed with 0.9 mL methyl green-formal-saline solution [100 ml formaldehyde (35 %), 900 ml distilled water, 0.6 g methyl green and 8.0 g NaCl]. Total number of ciliated protozoan and generic composition of diluted samples were determined with the use of large-bore pipette, Sedgewick Rafter lam and a microscope (Nikon Eclipse E-100, Holland). The following equation was used to calculate the number of protozoa in the rumen fluid: the numbers of cells in cm³ (ml): 1000 x counted cells/counted

and the percentage of protozoa was calculated. Total number of bacteria was analysed with the use of a spectrophotometry (T80+UV/VIS Spectrophotometer, PG Instruments Ltd UK) (Kara et al., 2017).

Experimental data were subjected to variance analysis in accordance with repeated measures design. The difference between the control and experimental groups was analysed by one-way ANOVA test. Analyses were conducted in accordance with General Linear Model (GLM) procedure of SPSS (22.0) software by taking the Least Square Means (LSM) into consideration. Significance of number of bacteria, protozoa and volatile fatty acids were assessed through the use of Mann-Whitney U test. Since number of bacteria did not exhibit a normal distribution, relevant data were subjected to Log₁₀ transformation. Summary data are presented as mean±standard error.

Results

Live weights (kg) and daily live weight gains (kg) of each breed for different periods are provided in Table 3. The differences in live weights of the groups were found to be significant on 30, 60 and 90th days of SIM breed (P<0.05), but insignificant in LIM breed (P>0.05). In SIM breed, live weights in on 30, 60 and 90th days were respectively measured as 540.33 kg, 574.11 kg and 606.22 kg in control group and as 579.40 kg, 623.90 kg and 660.50 kg in DL-malic acid group (Table3). In SIM breed, live weights on 120th day of experimental groups were not found to be significant, but DL-malic acid group had a greater value than the control group (691.10 kg vs 635.44 kg) (Table3).

Table 3. Live weights and daily live weight gains of beef cattle fed with ration including malic acid

Live weight, kg	Breeds					
	Simmental			Limousine		
	Control (n=9)	DL-Malic Acid (n=10)	P	Control (n=16)	DL-Malic Acid (n=12)	P
Initial (0)	488.56±12.48	529.40±15.77	0.181	529.38±12.24	505.67±11.87	0.913
30th day	540.33±11.13	579.40±16.93	0.031	579.40±12.64	550.92±11.40	0.905
60th day	574.11±10.87	623.90±18.40	0.021	611.38±11.92	594.25±14.12	0.544
90th day	606.22±11.23	660.50±19.47	0.031	641.13±11.38	620.33±14.59	0.460
120th day	635.44±12.98	691.10±18.30	0.075	669.31±10.13	652.25±15.80	0.296
Daily live weight gain, kg						
0-30th days	1.724±0.124	1.667±0.133	0.436	1.644±0.109	1.508±0.098	0.373
30-60th days	0.992±0.103	1.309±0.144	0.302	0.961±0.059	1.273±0.110	0.112
60-90th days	0.893±0.078	1.017±0.089	0.314	0.827±0.090	0.725±0.085	0.177
90-120th days	0.712±0.150	0.745±0.072	0.029	0.687±0.082	0.779±0.077	0.917
0-120th days	1.041±0.073	1.147±0.051	0.313	0.992±0.046	1.039±0.049	0.911

total square x dilution x volume (Yıldız, 2001). Protozoa identification was made using figures determined by Ogimoto and Imai (1981). Protozoa species were counted up to 100 in the rumen fluid taken on the lam

The differences in daily live weight gains (kg) of the groups were found to be significant on 90-120th day of SIM breed (P<0.05), but insignificant in all periods of LIM breed (P>0.05) (Table3). In SIM breed, daily

live weight gains between 90-120th days was measured as 0.712 kg in control group and as 0.745 kg in DL-malic acid group. Animal body measurements (cm) at the beginning and end of the experiments are provided in Table 4. The differences in body measurements of the groups were not found to be significant in both breeds (P>0.05). The values for carcass traits of the groups are provided in Table 5. The differences in carcass weights of the groups at the end of fattening period were found to be significant in SIM breed (P<0.05) and the values in control and DL-malic acid groups were respectively measured as

374.27 kg and 417.20 kg. The differences in slaughter weight and carcass dressing percentage of the groups were not found to be significant in both breeds (P>0.05).

The count of bacteria in rumen fluids of the animals are provided in Table 8 and number of protozoa are provided in Table 6. The differences in number of bacteria and protozoa in rumen fluids of the groups were not found to be significant in both SIM and LIM breeds (P>0.05).

Table 4. Body measurements at the beginning and end of the experiments of beef cattle fed with ration including malic acid

	Initial (1) and final (2) body measurements (cm)					
	Simmental			Limousine		
	Control (n=9)	DL-Malic Acid (n=10)	P	Control (n=16)	DL-Malic Acid (n=10)	P
WH-1	128.56±1.51	127.50±1.27	0.840	127.94±1.85	127.25±1.80	0.873
WH-2	137.33±0.79	138.50±1.04	0.607	137.88±1.30	1350.5±2.02	0.205
CG-1	185.44±1.86	189.10±2.46	0.205	194.62±2.36	187.25±1.93	0.710
CG-2	197.67±1.42	203.90±1.98	0.695	201.75±1.03	194.67±5.62	0.065
RH-1	61.89±1.34	57.10±1.61	0.710	63.31±1.07	55.00±1.57	0.397
RH-2	65.89±1.73	75.20±1.22	0.147	67.31±1.17	71.67±1.40	0.944
BL-1	106.89±1.73	112.80±2.20	0.132	108.44±1.13	111.08±1.66	0.166
BL-2	138.44±2.32	140.70±1.53	0.084	137.31±1.03	141.75±1.24	0.952

WH: Withers Height; CG: Chest Girth; RH: Rump Height; BL: Body Length.

Table 5. Carcass traits of beef cattle fed with ration including malic acid

Carcass performance	Simmental			Limousine		
	Control (n=9)	DL-Malic Acid (n=10)	P	Control (n=16)	DL-Malic Acid (n=10)	P
CW (kg)	374.27±8.91	417.20±13.13	0.049	398.29±7.19	390.10±10.41	0.449
SW (kg)	582.57±12.31	633.97±17.01	0.062	615.20±9.40	600.07±14.54	0.315
CDP (%)	64.22±0.20	65.74±0.32	0.083	64.71±0.30	64.97±0.21	0.271

CW: Carcass weight; SW: Slaughter Weight, DP: Carcass Dressing Percentage.

Table 6. Number of ciliated protozoa and total bacteria in rumen fluids of beef cattle fed with ration including malic acid

	Simmental			Limousine		
	DL-Malic Acid		P value	DL-Malic Acid		P value
	0 g/day	30 g/day		0 g/day	30 g/day	
Number of protozoa						
Total ruminal bacteria count	9.57±0.02	9.55±0.05	0.886	9.52±0.03	9.51±0.02	0.798
Percentages of individual ciliated protozoa in total ciliated protozoa in rumen fluid						
Entodinium (%)	0.44±0.01	0.40±0.00	0.057	0.42±0.01	0.45±0.03	0.505
Isotricha (%)	0.29±0.02	0.31±0.01	0.486	0.30±0.01	0.28±0.02	0.328
Dasytricha (%)	0.26±0.01	0.27±0.01	0.686	0.26±0.01	0.26±0.01	1.000
Diplodinium (%)	0.02±0.00	0.02±0.00	1.000	0.02±0.00	0.02±0.00	0.574
Number of ciliated protozoa in rumen fluid						
Entodinium (10 ⁵ /ml)	2.08±0.13	2.25±0.21	0.686	2.35±0.18	1.98±0.28	0.574
Isotricha (10 ⁵ /ml)	1.35±0.10	1.75±0.15	0.114	1.68±0.17	1.29±0.21	0.328
Dasytricha (10 ⁴ /ml)	1.25±0.10	1.50±0.17	0.486	1.43±0.10	1.19±0.21	0.195
Diplodinium (10 ⁵ /ml)	0.85±0.10	1.00±0.08	0.343	0.96±0.11	0.80±0.14	0.382
Total ciliated protozoa	4.76±0.23	5.60±0.53	0.343	5.55±0.44	4.53±0.70	0.328

It was determined that the addition of malic acid did not make any difference on the organic acid profile (valeric acid, iso-valeric acid, iso-butyric acid, propionic acid, butyric acid, acetic acid, total volatile fatty acids) in the rumen fluid of LIM and SIM beef cattle ($P>0.05$). On the other hand, when the effect of adding malic acid to the total of fattening cattle is compared; the addition of malic acid increased the molarities of acetic, butyric, propionic and total volatile fatty acids and AA/PA ratio in the rumen fluid ($P<0.05$). Molarities of valeric, iso-valeric and iso-butyric acids in the rumen fluid did not change with the addition of malic acid to beef cattle rations ($P>0.05$) (Tables 7 and 8). When comparing the percentage ratios of individual volatile fatty acids in TVFA in the rumen fluid, it was found that the percentage of acetic acid increased with the addition of malic acid; However, it was determined that the percentages of iso-butyric, iso-valeric and propionic acid in TVFA were decreased ($P<0.05$) (Table 8).

Discussion and Conclusion

In present study, effects of DL-malic acid supplementations (30 g/day per animal) into beef cattle diets on fattening performance, dressing percentage and rumen parameters were investigated. Previous researchers experimented different daily malic acid supplementation ratios (Alferez et al., 1978; Stullcup, 1979; Wang et al., 2009). The effects of DL-malic acid supplementation on live weights of LIM breed (combined yield breed) were found to be significant on 30, 60 and 90th days and effects on daily live weight gains were found to be significant on 90-120th days period. However, such effects were not found to be significant in LIM breed (meat yield breed) in SIM breed, average live weights on 30, 60 and 90th days were greater in DL-malic acid group than the control group. Live weight values on 30, 60 and 90th days were respectively measured as 540.33±11.13 kg, 574.11±10.87 kg and 606.22±11.23 kg in the control group and as 579.40±16.93 kg, 623.90±18.40 and

Table 7. Molarities of volatile fatty acids in rumen fluid of beef cattle

Volatile fatty acids as mmol/L in rumen fluid								
MA	Breed	VA	IBA	IVA	BA	PA	AA	TVFA
0	Simmental	0.77±0.11	0.68±0.02	1.03±0.04	6.86±0.17	26.28±0.36	62.94±0.56	98.57±3.26
	Limousine	0.89±0.08	0.70±0.02	1.09±0.03	7.06±0.12	26.71±0.25	64.21±0.39	100.52±2.59
30	Simmental	0.88±0.11	0.68±0.02	1.04±0.03	8.13±0.14	29.51±0.27	76.28±0.51	116.53±3.26
	Limousine	0.90±0.09	0.67±0.01	1.01±0.05	7.53±0.11	27.57±0.29	73.62±0.42	111.32±2.59
Breed	Simmental	0.82±0.07	0.68±0.01	1.03±0.04	7.50±0.13	27.89±0.31	69.61±0.49	107.55±2.59
	Limousine	0.89±0.06	0.69±0.02	1.05±0.03	7.30±0.14	27.14±0.32	68.92±0.51	105.92±1.83
MA	0	0.85±0.07	0.69±0.02	1.08±0.03	6.99±0.15	26.57±0.31	63.79±0.48	99.87±2.43
	30	0.89±0.07	0.67±0.02	1.02±0.04	7.73±0.14	28.21±0.32	74.51±0.47	113.06±2.24
	SD	0.23	0.05	0.10	0.95	2.52	8.32	11.03
P values	MA	0.497	0.519	0.254	0.010	0.022	<0.001	<0.001
	Breed	0.395	0.685	0.598	0.537	0.383	0.764	0.610
	MA*Breed	0.559	0.422	0.156	0.215	0.171	0.401	0.267

MA: DL-Malic Acid, VA: Valeric Acid, IBA: Iso-butyric Acid, IVA: Iso-valeric Acid, PA: Propionic Acid, BA: Butyric Acid, AA: Acetic Acid, TVFA: Total Volatile Fatty Acids.

Table 8. Molarities of volatile fatty acids in rumen fluid of beef cattle

Volatile fatty acids as % in TVFA								
MA	Breed	VA	IBA	IVA	BA	PA	AA	AA/PA
0	Simmental	0.78±0.12	0.69±0.02	1.05±0.03	6.96±0.16	26.70±0.31	63.80±0.48	2.39±0.04
	Limousine	0.90±0.08	0.71±0.01	1.11±0.04	6.99±0.14	26.61±0.28	63.86±0.45	2.41±0.05
30	Simmental	0.76±0.11	0.59±0.02	0.89±0.03	7.00±0.15	25.37±0.29	65.38±0.50	2.58±0.04
	Limousine	0.82±0.12	0.60±0.02	0.90±0.04	6.77±0.11	24.74±0.30	66.14±0.49	2.68±0.05
Breed	Simmental	0.77±0.10	0.64±0.01	0.97±0.03	6.98±0.14	26.03±0.30	64.59±0.50	2.48±0.06
	Limousine	0.86±0.11	0.65±0.02	1.00±0.04	6.88±0.14	25.68±0.32	65.00±0.55	2.54±0.05
MA	0	0.86±0.12	0.70±0.02	1.09±0.04	6.98±0.15	26.64±0.30	63.84±0.52	2.40±0.05
	30	0.80±0.12	0.60±0.02	0.90±0.04	6.85±0.14	24.95±0.31	65.89±0.53	2.65±0.06
	SD	0.26	0.08	0.16	0.57	1.48	2.13	0.22
P values	MA	0.567	<0.001	0.001	0.652	0.001	0.008	0.002
	Breed	0.340	0.554	0.481	0.641	0.427	0.549	0.399
	MA*Breed	0.743	0.925	0.601	0.549	0.541	0.608	0.563

MA: DL-Malic Acid, VA: Valeric Acid, IBA: Iso-Butyric Acid, IVA: Iso-Valeric Acid, PA: Propionic Acid, BA: Butyric Acid, AA: Acetic Acid, TVFA: Total Volatile Fatty Acids

660.50±19.47 kg in DL-malic acid group. In SIM breed, daily live weight gains on 30-60, 60-90, 90-120 and 0-120th days periods were greater in DL-malic acid group than in the control group, but the differences only in daily live weight gain of 90-120th day period were found to be significant. Relevant value was measured as 0.712±0.150 kg in the control group and as 0.745±0.072 kg in DL-malic acid group. Present findings for SIM breed comply with the findings of previous studies (Rossi and Vandoni, 2009). Contrary to present findings, Foley et al. (2009) working on feed consumption and performance traits of beef cattle indicated that malic acid supplementations into beef cattle diets negatively influenced feed consumptions and fattening performance. It was reported in similar previous studies conducted on calves (Seanson and Skullcap, 1984; Castillo et al., 2004) that malic acid supplementations into rations increased daily live weight gains and feed conversion ratios. It was reported in another study conducted on beef cattle (Martin et al., 1999) that malate supplementations into animal diets increased daily live weight gains and feed conversion ratios and improved fattening performance. Hackett et al. (1995) investigated the effects of post-partum 70 g per animal malic acid supplementations and reported that malic acid supplementations did not influence condition scores and live weights of the cows and birth weight and live weight gains of the calves. It was reported in previous studies conducted on lambs (Carro and Ranilla, 2003) that malic acid supplementation into high concentrate feed-containing lamb diets did not have significant effects on feed consumption, feed conversion and digestibility (CP, OM, ADF, NDF digestibility). Montaña et al. (1999) supplemented high concentration fattening finishing feeds with 80 g/day per animal and reported that malic acid supplementation balance rumen pH without any negative effects on digestion of ruminal nutrients (starch, fiber or protein) or microbial growth. Sniffen et al. (2006) indicated that malate supplementation into rumen through a cannula increased milk yield, but did not have significant effects on nutrient digestibility. Wang et al. (2009) supplemented Holstein dairy cows with 70, 140 and 210 g per animal malic acid and indicated that malic acid supplementations did not influence milk composition and nutrient consumption. It was also reported that malic acid supplemented groups had lower non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyrate and urea ketone contents and malic acid supplementations had positive effects on nutrient digestibility and energy use.

In present study, for SIM breed, DL-malic acid group had greater carcass weight, pre-slaughter live weight and dressing percentage (warm) values than the control group. However, differences only in carcass weights were found to be significant. On the other hand, for LIM breed, differences in these carcass

traits were not found to be significant. It was reported in previous studies conducted on lambs (Süer and Kocabağlı, 2018) that malic acid supplementations did not have significant effects on animal performance and dressing percentages.

The differences in number of bacteria and protozoa in rumen fluids of the control and DL-malic acid groups were not found to be significant in both SIM and LIM breeds. Martin (1998) indicated that organic acids (malate and fumarate) increased lactic acid utilization capability of *S. ruminantium* as source of carbon and energy, in other words, removed lactic acid from the ambient through metabolization and thus prevented oxidase formation. Malic acid was indicated as the most efficient organic acid. It was reported that formic acid supplementation (0.7%) into rations reduced number of lactobacillus bacteria, coliform bacteria and yeasts (Canibe et al., 2001); potassium diformate salts (1.8%) and formic acid supplementations into the rations did not have significant effects on lactobacillus bacteria, but had significant effects on the other bacteria (Dibner and Buttin, 2002).

In the study, the molarity of TVFA in the rumen fluid of fattening cattle was at a level similar to the reference values (Kara, 2021). One of the volatile fatty acids, which are the end products of carbohydrate fermentation in the rumen, acetic acid rises with the increase of fermentation of structural carbohydrates (neutral detergent fiber, acid detergent fiber and other dietary fiber components) (NRC, 1996). In the presented study, the increase in acetic acid molarity with the addition of malic acid to the ration shows that malic acid has a positive effect on rumen fermentation. In addition, propionic acid and butyric acid increase in correlation with the increase in the fermentation level of starch and other digested nutrients in the rumen (NRC, 1996). The increase in the propionic and butyric acid molarity of malic acid with dietary malic acid shows that malic acid has a positive effect on the ruminal fermentation of the feed. In the study, the ratios of *iso*-valeric and *iso* butyric acid in rumen fluid decreased with the addition of malic acid to the ration. Kara (2015) stated that *iso*-valeric acid concentration in the organic acids of the silage was decreased with maleic acid addition to silage. Cong et al. (2009) stated that malic acid supplementation (70 g, 140 g and 210 g) to SIM rations beef ration increased TVFA concentration and decreasing ruminal pH, acetate, propionate in rumen fluid. It was reported by the same researchers in an in vitro study on ruminants that 100 g malic acid supplementation into the ration and additional 50 g malic acid supplementation at the middle of the day did not influence VFAs, but 50 g malic acid increased microbial N production and efficiency, thus indicated that daily supplementation of 50 g malic acid positively influenced rumen fermentation and microbial population. In another study, Nisbet and Martin (1990) indicated that malic

acid activated in vitro DL-lactic acid utilization and increased pH, total VFA and propionate percentage in rumen fluid. Mohammed et al. (2004) reported that malate supplementation into the ruminant diets increased ratios of propionic acid and total VFA. It was indicated in a previous study conducted on lambs (Kung et al., 1982) that malic acid supplementations influenced acetic and butyric acid quantities produced in rumen. In the study, the positive effect of malic acid on rumen fermentation is similar to previous studies.

Consequently, DL-malic acid supplementation (30 g/day) to beef cattle ration varied with the cattle breeds in terms of fattening performance, while such supplementations had positive effect on fattening in Simmental breed. Besides, the increase in molarities of TVFA and acetic, propionic and butyric acids, which are indicators of fiber and carbohydrate fermentation efficiency in the rumen, shows that malic acid has a positive effect on feed digestion in the rumen.

References

- Alferez JCM. Production and intake response of dairy cows fed for levels of malic acid. M.S. thesis, Utah State Univ, Graduate Theses and Dissertations 1978; Logan, Utah.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists Official Methods of Analysis. Seventeenth Edition, Second Revision. Gaithersburg, MD, USA, 2003.
- Brown JE, Brown CJ, Butts WT. Evaluating relationship among immature measures of size, shape and performance on beef bulls. I. Principle component as measure of size and shape in young Hereford and Angus bulls. *J Anim Sci* 1973; 36: 1010-20.
- Canibe N, Engberg RM, Jensen BB. An overview of the effect of organic acids on gut flora and gut health. *J Anim Sci* 2001; 79: 2123-33.
- Carro MD, Ranilla MJ, Giraldez FJ, Mantecon AR. Effects of malate on diet digestibility, microbial protein synthesis, plasma metabolites, and performance of growing lambs fed a high-concentrate diet. *J Anim Sci* 2006; 84: 405-10.
- Carro MD, Ranilla MJ. Effect of the addition of malate on in vitro rumen fermentation of cereal grains. *British J Nutr* 2003; 89: 181-8.
- Castillo C, Benedito JL, Mendez J, Pereira V, Lopez Alonso M, Miranda M, Hernandez J. Organic acids as a substitute for monensin in diets for beef cattle. *Anim Feed Sci Technol* 2004; 115: 101-16.
- Cong W, Qiang L, Qun D, Xiao-min Y, Dongchang HE, Kuan-hu D. Effects of malic acid supplementation on rumen fermentation, nutrient digestion and metabolism in Simmental steer. *Acta Prataculturae Sin* 2009; 18: 224-31.
- Dehority BA. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. *Appl Environ Microbiol* 1984; 48: 182-5.
- Dibner JJ, Buttin P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *J Appl Poult Res* 2002; 11: 453-63.
- Dittoe DK, Ricke SC, Kiess AS. Organic acids and potential for modifying the avian gastrointestinal tract and reducing pathogens and disease. *Front Vet Sci* 2018; 5: 216.
- Ersahince AC, Kara K. Nutrient composition and in vitro digestion parameters of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) herbage at different maturity stages in horse and ruminant. *J Anim Feed Sci* 2017; 26: 213-25.
- Foley PA, Kenny DA, Callani JJ, Boland TM, O'Mara FP. Effect of DL-malic acid supplementation on feed intake, methane emission and rumen fermentation in beef cattle. *J Anim Sci* 2009; 87: 1048-57.
- Goering HK, Van Soest PJ. Forage fiber analysis. *Agriculture Handbook* 1970; Washington D.C., 829-35.
- Hackett H, Kreider DL, Hardesty D, Hornsby P. Effects of malic acid supplementation in postpartum cows. *J Anim Sci* 1995; 73: 254.
- Kara K. In vitro methane production and quality of corn silage treated with maleic acid. *Ital J Anim Sci* 2015; 14: 3994.
- Kara K, Aktug, Cagri A, Guclu BK, Baytok E. Effect of formic acid on in vitro ruminal fermentation and methane emission. *Turk J Food Agric Sci* 2015; 3: 856-60.
- Kara K, Özkaya S, Erbas S, Baytok E. Effect of dietary formic acid on the in vitro ruminal fermentation parameters of barley-based concentrated mix feed of beef cattle. *J App Anim Res* 2017; 46: 178-83.
- Kung L, Huber JT, Krummmrey JD, Allison L, Cook RM. Influence of adding malic acid to dairy cattle rations on milk production, rumen volatile acids, digestibility and nitrogen utilization. *J Dairy Sci* 1982; 65: 1170-4.
- Martin S, Marshall NS, Nisbet DJ, Hill GM, Williams SE. Effects of DL-malate on ruminal metabolism and performance of cattle fed a high-concentrate diet. *J Anim Sci* 1999; 77: 1008-15.

- Martin SA. Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: A review. *J Anim Sci* 1998; 76: 3123-32.
- Mirza MW, Rehman ZU, Mukhtar N. Use of organic acids as potential feed additives in poultry production. *J World's Poult Res* 2016; 6(3): 105-16.
- Mohammed N, Lila ZA, Ajisaka N, Hara K, Mikuni K, Hara K, Kanda S, Itabashi H. Inhibition of ruminal microbial methane production by β -cyclodextrin iodopropane, malate and their combination *in vitro*. *J Anim Physiol Anim Nutr* 2004; 88:188-95.
- Montano MF, Chai W, Zinn-Ware TE, Zinn RA. Influence of malic acid supplementation on ruminal pH, lactic acid utilization, and digestive function in steers fed high-concentrate finishing diets. *J Anim Sci* 1999; 77: 780-4.
- Nisbet DJ, Martin SA. Effect of dicarboxylic acids and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. *Appl Environ Microbiol* 1990; 56(11): 3515.
- NRC. National Research Council, Nutrient requirements of beef cattle. Seven Edition. Washington DC: National Academy Press, 1996.
- Ogimoto I. Atlas of rumen microbiology. Japan Scientific Societies Press, VIII, 231, Tokyo.1981.
- Ricke SC. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poult Sci* 2003; 82: 632-9.
- Rossi CAS, Vandoni S. Malate supplementation to beef cattle: effects on growth performance and rumen fermentation products. *Ital J Anim Sci* 2009; 8: 543-5
- Sahoo A, Jena B. Organic acids as rumen modifiers. *Int J Sci Res*2014; 3: 2262-6.
- Seanson DV, Stullcup OT. Growth response and serum constituents of Holstein bulls fed malic acid. *Nutr Rep Inter*1984; 30: 1261-7.
- Sniffen CJ, Ballard CS, Carter MP, Cotanch KW, Dann HM, Grant RJ, Mandebvu P, Suekawa M, Martin SA. Effects of malic acid on microbial efficiency and metabolism in continuous culture of rumen contents and on performance of mid-lactation dairy cows. *Anim Feed Sci Technol* 2006; 127: 13-31.
- Stullcup OT. Influence of addition of DL-malic acid to diets of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1979; 62: 225-6.
- Süer İNE, Kocabağlı N. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) or malic acid salts on fattening performance of lambs fed a high concentrate diet. *Int J Vet Anim Res* 2018; 1: 1-4.
- Toprak MN, Yılmaz A. The effects of malic acid and its salts on rumen fermentation, lactation and fattening performance of cattle. *Sci Pap* 2014; 4: 197-202.
- Wang C, Qiang L, Yang W, Dong Q, Yang XM, He DC, Dong KH, Huang YX. Effects of malic acid on feed intake, milk yield, milk components and metabolites in early lactation Holstein dairy cows. *Livest Sci* 2009; 124; 182-8.
- Yıldız G. The effects of different rations on some rumen metabolites and rumen protozoa of sheep. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2001; 48:153-8.



Yumurta Tavuğu Karma Yemlerine İlav e Edilen Karahindiba Ekstresinin Performans ve Yumurta Kalitesine Etkisi *

Satı Bilge KAYA^{1,a}, Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ^{2,b}

¹Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE
ORCID: ^a 0000-0002-6609-9846; ^b 0000-0003-0341-4594

Sorumlu yazar: Satı Bilge KAYA; E-posta: bilgekolsuz@gmail.com

Atıf yapmak için: Kaya SB, Güçlü BK. Yumurta tavuğu karma yemlerine ilave edilen karahindiba ekstresinin performans ve yumurta kalitesine etkisi. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2023; 20(3):178-185

Öz: Bu çalışma, yumurtacı tavuk rasyonlarına farklı oranlarda karahindiba (*Taraxacum officinale*) ekstresi (KHE) ilavesinin performans ve yumurta iç-dış kalite parametrelerine etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada 22 haftalık yaşta, 96 adet yumurtacı Atak-S tavuk kullanılmıştır. Tavuklar, her biri altı alt gruptan oluşan dört gruba ayrılmış ve her alt grupta dört tavuk olacak şekilde düzenlenmiştir. Çalışma 90 günlük periyotta yürütülmüştür. Çalışma süresince kontrol grubu bazal yem, deneme grupları ise bazal yeme sırasıyla, %0.30, %0.60 ve %0.90 oranında KHE eklenen yemlerle beslenmiştir. Yumurta verimi bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamakla birlikte (P>0.05), KHE içeren yemlerle beslenen gruplarda çalışma sonu ortalama yumurta veriminin kontrol grubuna göre rakamsal olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, canlı ağırlık ve yumurta sarı rengi ortalamaları bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (P>0.05). Çalışmada %0.90 KHE içeren grupta yumurta ağırlığının kontrol grubuna göre önemli oranda yüksek olduğu saptanmıştır (P<0.05). Yumurta kabuk kalınlığı da %0.30 ve %0.60 KHE içeren gruplarda önemli oranda artmıştır (P<0.05). Sonuç olarak; yumurta tavuklarında KHE'sinin yumurta kalitesi üzerine olumlu etkiye sahip olabileceği ve bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Karahindiba, performans, yumurta kalitesi, yumurtacı tavuk

Effect of Dandelion Extracts Supplementation to Laying Hen Diet on Performance and Egg Quality

Abstract: This study was carried out to determine the effect of adding different ratios of dandelion (*Taraxacum officinale*) extract (KHE) to layer hen rations on performance and egg internal-external quality parameters. In the study, 96 layer Atak-S hens at the age of 22 weeks were used. Chickens were divided into 4 groups, each consisting of six subgroups, and arranged in a way to have four chickens in each subgroup. The study was conducted over a period of 90 days. During the study, the control group was fed with basal feed, and the experimental groups were fed with feeds with 0.30%, 0.60% and 0.90% KHE added to the basal feed, respectively. Although there was no significant difference between the groups in terms of egg production (P>0.05), it was determined that the average egg production at the end of the study was numerically higher in the groups fed with KHE-containing feeds compared to the control group. There was no significant difference between the groups in terms of feed consumption, feed conversion ratio, live weight, egg yolk colour averages (P>0.05). In the study, it was determined that egg weight in the groups containing 0.90% KHE was significantly higher than the control group (P<0.05). Egg shell thickness were also significantly increased in 0.30% and 0.60% KHE containing groups (P<0.05). It was concluded that dandelion extract has a positive effect on egg quality in laying hens and more studies should be done on this subject.

Keywords: Dandelion, egg quality, laying hens, performance

Giriş

Sağlıklı ve kaliteli bir hayat için yeterli oranda hayvansal protein kaynaklarının tüketilmesi gereklidir. Önemli hayvansal protein kaynaklarından biri olan yumurta, insanların özellikle de düşük gelirli toplumların sağlıklı ve dengeli beslenmesinde vazgeçilmez bir konumuna sahiptir. Bu bağlamda Dünyada önemli bir hayvansal üretim kaynağı olarak yerini alan yumurta-

cı tavuk yetiştiriciliğinde, hayvan sağlığını korumak, performansı arttırmak ve hayvansal ürünlerin kalitesini olumlu yönde etkilemek adına yapılan çalışmaların önemi de tartışılmazdır. Son yıllarda alternatif yem katkı maddesi olarak bitki ekstratları ve aromatik bitkiler de probiyotik, prebiyotik, organik asitler gibi doğal ve güvenli yem katkı maddeleri olarak değerlendirilmektedir (Kahraman, 2009). Fitobiyotikler veya aromatik bitkiler olarak da adlandırılan fitojenik yem katkı maddeleri (PFA'lar), bitkilerden elde edilen ve verimliliği artırmak için hayvan yemlerine dahil edilen doğal biyoaktif bileşiklerdir. Çok sayıda bitki ve ürünleri bu kategoriye girmektedir. Kökenlerine (bitkinin bir par-

Geliş Tarihi/Submission Date : 22.11.2022

Kabul Tarihi/Accepted Date : 15.08.2023

* Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen TYL-2021-11109 kodlu ve Satı Bilge KAYA'nın aynı isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiştir

çası) göre otlar (yaprak ve çiçeklerin kullanıldığı çiçekli, odunsu olmayan, kalıcı olmayan bitkiler) veya baharatlar (yoğun tat veya kokuya sahip tohumlar, meyveler, kabuk veya kök dahil bitkilerin yaprak olmayan kısımları) olarak sınıflandırılmaktadırlar. Katı, kurutulmuş ve öğütülmüş formda veya ekstrakt olarak kullanılabilirler. Karahindiba (*Taraxacum officinale*) bitkisi de çeşitli hastalıkların tedavisi için eski ve güncel tıpta yaygın olarak kullanılan bitkilerden biridir (Hu, 2018; Li ve ark., 2020). Karahindibanın terapötik kullanımına ilişkin ilk bilgiler 10. ve 11. yüzyıllarda Arap doktorların karaciğer ve dalak hastalıkları için kullanmalarıyla ortaya çıkmıştır (Kroeber, 1950; Faber, 1958; Sweeney ve ark., 2005). Yabani bir ot olarak bilinen yetiştiriciliği yapılmayan ancak eskiden beri kök ve taze yaprakları değişik amaçlarla kullanılan, canlı metabolizması için önemli bir bitkidir. Kök kısımları; fenolik asit, glikozit, tanen, tripten, inülin, potasyum, yaprakları; lif, demir, magnezyum, fosfor, kalsiyum, çiçekleri ise lavulin, saponin ve ksantofil ihtiva eder (Gallaher ve ark., 2006; Karakuş ve ark., 2017). Karahindiba, %1.5 lipid içermektedir. Mineral içeriği zengin olup, demir (Fe), sodyum (Na), magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca), çinko (Zn), bakır (Cu) ve yüksek oranda potasyum (K) içermektedir. Özellikle kuru yapraklardaki K oranının kuru madde de (KM) %45'i aştığı tespit edilmiştir (Bruneton, 1995; ESCOP Monographs, 2003; Schütz ve ark., 2006; Harrington ve ark., 2006; WHO Monographs, 2001; Jassim ve ark., 2012; Khan ve ark., 2012). Turan (2014) karahindibanın kök kısımlarının yazın yüksek oranda inülin içerirken; kışın lavulin içerdiğini bildirmesine karşın bazı çalışmalarda sonbaharda köklerin %40, ilkbaharda %2 inülin içerdiğini bildirilmektedir (ESCOP Monographs, 2003; Schütz ve ark., 2006). Broiler karma yemlerine %0.5 oranında karahindiba yaprağı veya %1 oranında çemen tohumunun tek başına veya kombine ilave edilmesinin, etlik piliçlerin canlı ağırlığında ve yemden yararlanma oranında iyileşme sağladığı kaydedilmiştir (Qureshi ve ark., 2015). Öte yandan Oh ve ark. (2007), broiler yemlerine %1 karahindiba veya %0.5 karahindiba ve %1 fermente probiyotiklerin katkısının canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma gibi performans parametrelerini önemli oranda etkilemediğini, kan kolesterolünü düşürdüğünü ve etin oleik asit miktarını arttırdığını saptamışlardır. Noor ve ark. (2021) broiler yemlerine farklı seviyelerde (%1, %1.5 ve %2) karahindiba yaprağı tozu katılmasının canlı ağırlık artışında iyileşme ve yem tüketiminde azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu çalışmanın amacı, yumurta tavuğu karma yemlerine %0.30, %0.60 ve %0.90 oranlarında katılan karahindiba ekstresinin canlı ağırlık, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı gibi performans parametreleri ile yumurta ağırlığı, Haugh birimi, kabuk kalınlığı, sarı rengi, yumurta özgül ağırlığı gibi yumurta kalitesi parametrelerine etkisini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi, Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezinde (ERUTAM) Haziran-Eylül aylarında yürütüldü. Araştırma başlamadan önce Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulundan gerekli izin alındı (Karar No: 20/148; Tarih: 04/11/2020).

Çalışmada hayvan materyali olarak, piyasadan temin edilen, 22 haftalık yaşta 96 adet, Atak-S yumurtacı genotipleri kullanıldı. Tavuklar iki haftalık adaptasyon döneminden sonra denemeye alındı. Çalışmanın iki hafta süren adaptasyon döneminde tavukların günlük yumurta verimleri kaydedilerek hayvanlar benzer yumurta verimi ve benzer canlı ağırlığa sahip olacak şekilde deneme gruplarına tesadüfi olarak dağıtıldı. Tavuklar, her alt grupta dört tavuk bulunan altı tekrarlı dört gruba ayrılarak, ısı, ışık gibi çevre koşullarından ileri gelebilecek etkileşimleri ortadan kaldıracak şekilde kafeslere yerleştirildi. Denemede yaklaşık 50x50x60 cm ebatlarındaki bölmelerden oluşan yumurtacı tavuk kafesleri kullanıldı. Kümeste ortam sıcaklığı (ortalama 23-25 °C'de) ve aydınlığı (16 saat aydınlık + 8 saat karanlık) için standart şartlar sağlandı. Çalışmada, kontrol grubu 1. dönem kafes yumurtacı tavuk yemi [%17 Ham protein (HP), ve 2795 kcal/kg metabolik enerji (ME)], ile deneme grupları ise kontrol grubu yemine %0.30, %0.60 ve %0.90 oranında karahindiba ekstraktı eklenen yemlerle beslendi. Çalışmanın başında ve sonunda tüm tavuklar tek tek tartılarak canlı ağırlıkları ve aralarındaki fark hesaplanarak canlı ağırlık değişimleri kaydedildi. Çalışma süresince her iki haftada bir aynı saatte kafes önlerindeki kalan yemler toplanarak tartıldı ve kaydedildi. Verilen yem miktarından kalan yem miktarı çıkarılarak tüketilen yem miktarı ve günlük ortalama yem tüketimleri belirlendi. Çalışmada iki haftada bir iki gün üst üste aynı saatte toplanan yumurtalar tartılarak ortalama yumurta ağırlığı belirlendi. Her bir kg yumurta üretimi için tüketilen yem miktarından yemden yararlanma oranı hesaplandı. Çalışmada ayda bir her grubun alt gruplarından eşit sayıda alınan yumurtalarda; yumurta analiz cihazı (Egg Analyzer: Orka technology Ltd., info@orkatech.com, ABD) ile yumurta ağırlığı, Haugh birimi ve renk skalası, Arşimet metodu ile yumurta özgül ağırlıkları (g/cm³) (Hempe ve ark., 1988; Thompson ve Hamilton, 1982) ve mikrometre (Mitutoyo corp, Japan) ile yumurta kabuk kalınlıkları (µm) belirlendi.

Deneme yemlerinin HP, ham yağ (HY), ham selüloz (HS) ve ham kül (HK) analizleri Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında AOAC'de (1997) bildirilen metotlara göre saptandı.

Denemede kullanılan karma yem, KHE'si ve gruplara verilen KHE'li yemlerin besin madde bileşimi Tablo 1 verildi.

Tablo 1. Denemede kullanılan karma yem, KHE'si ve gruplara verilen KHE'li yemlerin besin madde bileşenleri

Yem	HP %	HY %	HK %	HS %
Bazal yem	17.00	4.00	12.5	4.00
KHE	10.06	0.07	11.30	0.20
KHE %0.30	17.02	4.09	12.70	4.45
KHE %0.60	17.03	4.11	12.90	5.10
KHE %0.90	17.05	4.22	13.10	5.20

HK: Ham Kül. HP: Ham Protein. HS: Ham Selüloz. HY: Ham Yağ. KHE: Karahindiba ekstresi

Karahindiba ekstresinin inülin (HPLC-RID) (Hadjikinova ve ark., 2017), toplam fenol tayini (gallik asit cinsinden) (Folin-ciocalteau metodu) (Schaich ve X-Wu, 2005), antioksidan kapasitesi (trokoloks eşdeğeri cinsinden) (DPPH) (Ayaz Seyhan, 2019) toplam flavanoid madde (epikateşin eşdeğeri cinsinden) (Zhishen ve ark., 1999), gallik asit, kateşin hidrat, kafeik asit, siringik asit, p-kumarit asit, ferulik asit, rutin hidrat, kuarsetin (UPLC) (Swartz, 2005) analizleri TÜBİTAK Bursa Test ve Analiz Laboratuvarı (BUTAL)'nda yapıldı.

İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizlerde, verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi, histogram grafiği ve q-q grafikleri ile belirlendi. Varyansların homojenliğinin değerlendirilmesinde Levene testi kullanıldı. Bağımlı iki grup arasındaki farkın ortalamasının önem kontrolünde eşleştirilmiş t-testi kullanıldı. İki grup arasında bağımsız grup arasındaki farkın önem kontrollerinde parametrik test varsayımlarını sağlayan değişkenler için Tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA); parametrik test varsayımlarını sağlamayan değişkenler için ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Çoklu karşılaştırmalar için Tukey, Tamhane's T2 ve Bonferroni testleri kullanıldı. Veriler Ortalama \pm Standart Hata ($\bar{x} \pm S\bar{x}$) olarak gösterildi. İstatistiksel analizlerde R-project (R 4.2.2) kullanıldı. Anlamlılık seviyesi $P < 0.05$ olarak kabul edildi.

Bulgular

Çalışmada kullanılan KHE'nin içerdiği besin madde bileşenleri Tablo 1'de, biyoaktif bileşenleri ise Tablo 2'de verildi. Çalışmada kullanılan KHE'sinin 39.7

g/100 g inülin, 10.2 mg/g toplam flavonoid madde (epikateşin eşdeğeri cinsinden); 48.4 mg/g toplam fenol (gallik asit cinsinden), 59.1 mg/100 g kafeik asit; 11.4 mg/100 g kateşin hidrat; 9.8 mg/100 g şiringik asit; 9.2 mg/100g p-kumarik asit; 5.6 mg/100 g ferulik asit içerdiği tespit edildi.

Çalışma sonu genel ortalamalar değerlendirildiğinde; canlı ağırlık, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı ve yumurta veriminin gruplar arasında anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edildi ($P > 0.05$). Öte yandan KHE içeren yemlerle beslenen gruplarda yumurta ağırlığı önemli oranda arttı ($P < 0.05$). En yüksek yumurta ağırlığı ve en yüksek yemden yararlanma % 0.90 oranında karahindiba katılan grupta belirlendi. Yeme katılan KHE miktarının artmasına paralel olarak yumurta ağırlığı ve yemden yararlanma oranı da artış gösterdi. Ayrıca KHE içeren yemlerle beslenen gruplarda çalışma sonu ortalama yumurta verimlerinin kontrol grubuna göre rakamsal olarak daha yüksek, yem tüketimlerinin ise daha düşük olduğu belirlendi.

Yumurta kalitesi parametrelerinden; yumurta kabuk kalınlığı, Haugh birimi ve yumurta özgül ağırlığı bakımından gruplar arasında farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu. Yumurta kabuk kalınlığı, %0.30 ve % 0.60 KHE içeren gruplarda kontrol grubuna göre önemli oranda artış gösterdi ($P < 0.05$). Öte yandan Haugh birimi bakımından KHE içeren gruplar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, %0.30 KHE içeren grupta Haugh biriminin %0.60 ve %0.90 KHE gruplarına göre önemli oranda düşük olduğu tespit edildi ($P < 0.01$). Yumurta özgül ağırlığı ise %0.60 KHE içeren grupta %0.90 KHE içeren gruba göre önemli oranda yüksek bulundu ($P < 0.05$).

Tablo 2. Çalışmada kullanılan karahindiba ekstresinin biyoaktif madde bileşenleri

Analiz Adı/Birimi	Miktarı
Antioksidan kapasitesi (Troloks eşdeğeri cinsinden)	58.7 /14.7
Kafeik asit (mg/100g)	59.1
Toplam fenol (Gallik asit eşdeğeri cinsinden) mg/g	48.4
İnülin (g/100g)	39.7
Rutin hidrat (mg/100g)	28.7
Kateşin hidrat (mg/100g)	11.4
Toplam flavonoid madde (Epikateşin eşdeğeri cinsinden)(mg/g)	10.2
Şiringik asit (mg/100g)	9.8
p-Kumarik asit(mg/100g)	9.2
Ferulik asit (mg/100g)	5.6
Kuarsetin (mg/100g)	2.4
Gallik asit (mg/100g)	1.0

Çalışma sonu genel ortalamalara göre en yüksek Haugh birimi, kabuk kalınlığı ve yumurta özgül ağırlığı %0.60 oranında KHE içeren grupta belirlendi (Tablo 3).

ca sindirime ve emilime katkıları yanında bağışıklık sistemini de uyarmaktadırlar (Kolida ve ark., 2002; Üstündağ ve Özdoğan, 2017).

Literatürde, hindiba kökünün 35.7-47.6 g/100 g, çiğ

Tablo 3.Karahindiba ekstresinin performans ve yumurta kalitesine etkisi

	Kontrol Grubu ($\bar{x} \pm S\bar{X}$)	%0.30 KHE ($\bar{x} \pm S\bar{X}$)	%0.60 KHE ($\bar{x} \pm S\bar{X}$)	%0.90 KHE ($\bar{x} \pm S\bar{X}$)	P değeri
Deneme sonu canlı ağırlık	1854.00±32.64	1778.92±31.09	1829.96±32.34	1794.42±32.52	0.346
Yumurta verimi (%)	87.55 ±3.53	90.82±2.08	91.02±0.90	89.04±1.3	0.593
Yem tüketimi (g)	121.24±1.73	120.7±2.2	119.5±1.14	120.78±1.1	0.886
Yemden yararlanma oranı	2.15±0.04	2.11±0.05	2.07±0.03	2.05±0.03	0.294
Yumurta ağırlığı(g)	56.78±0.44 ^a	57.52±0.49 ^{ab}	58.27±0.72 ^{ab}	59.24±0.44 ^b	0.025
Yumurta kabuk kalınlığı(µm)	34.86±0.31 ^a	36.00±0.28 ^b	36.05±0.25 ^b	35.30±0.31 ^{ab}	0.010
Haugh birimi	65.3±1.47 ^{ab}	62.38±1.44 ^a	69.56±1.4 ^b	68.68±1.42 ^b	0.003
Özgül ağırlık	1.0821±0.00 ^{ab}	1.0817±0.00 ^{ab}	1.0843±0.00 ^b	1.0797±0.00 ^a	0.001
Sarı rengi	8.57±0.14	8.58±0.18	8.41±0.19	8.82±0.12	0.217

KHE: Karahindiba ekstresi. \bar{x} :Ortalama. $S\bar{X}$:Standart hata. (P>0.05). ^{a,b}: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklılık önemlidir.

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada kullanılan karahindiba (*Taraxacum officinale*) bitkisinin çiçek salkımları, yaprakları ve kökleri gıda amaçlı olarak da kullanılabilir gibi gerek besin madde içeriği gerekse içerdiği fitokimyasallar nedeni ile farmasötik amaçlı olarak da kullanılmaktadır. Karahindiba bitkisinin içerdiği flavanoid ve fenolik bileşikler dolayısı ile antioksidan, infertilite, hepatoprotektif, antiinflamatuvar, antitümöral, koleretik, diüretik ve antiromatizmal etkilerinin olduğu bildirilmektedir. Öte yandan karahindiba köklerinin bol miktarda inülin içermesi bitkiye prebiyotik özellik kazandırmaktadır. Kanatlı sektörde kullanılan en yaygın prebiyotikler; inülin, frukto oligosakkaritler (FOS), mannan oligosakkaritler (MOS), galakto oligosakkaritler (GOS), soya-oligosakkaritleri (SOS), ksilo oligosakkaritler (KOS), pirodekstrinler, iso-malto oligosakkaritler (IMO), stakiyoz ve oligokitosandır. İnülin ticari olarak da hindiba köklerinden elde edilmektedir (Yabancı, 2010). Kolonda bulunan *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp.'nin oligofruktoz ya da inülini diğer prebiyotiklere göre daha kolay fermente edebildiği bildirilmektedir. Bu fermentasyon sonucu oluşan kısa zincirli yağ asitleri ve laktat ortam pH'sının asidik olmasını sağlamaktadır. Asidik ortam patojen mikroorganizmaların üremesini engelleyerek (Aşan ve Özcan, 2006; Sezen, 2013) prebiyotik bakterilerin devamlılığını sağlamakta ve B vitamini gibi vitaminlerin sentezini sitülmüle etmektedir (Çetinkaya, 2019). Ayırı-

taze karahindiba (yenilebilir tüm kısımları) ise 12.0-15.0 g/100g arasında inülin içerdiği bildirilmekte olup bu çalışmada kullanılan KHE'sinin 39.7 g/100 g inülin içerdiği saptanmıştır (Yabancı, 2010). Sunulan çalışmada kullanılan KHE'sinin 10.2 mg/g toplam flavonoid (epikateşin eşdeğeri cinsinden); 48.4 mg/g toplam fenol (gallik asit cinsinden), 59.1 mg/100g kafeik asit; 11.4 mg/100 g kateşin hidrat; 9.8 mg/100 g sirinjik asit; 9.2 mg/100 g p-kumarik asit; 5.6 mg/100 g ferulik asit içerdiği tespit edilmiştir. Yıldırım (2018) Türkiye'de yetiştirilen hindiba çeşitlerinin (*Cichorium* spp.) (kırmızı, yeşil, beyaz) toplam fenolik madde, antosiyanin, antioksidan kapasite özelliklerini incelediği bir çalışmada; karahindiba türlerinde en yoğun fenolik asitlerin sırasıyla şiringik asit (2.54 mg/kg) ve trans-ferulik asit (1.85 mg/kg) olduğunu ayrıca kateşinin de ana flavanol bileşik olduğunu saptamıştır. Bir diğer çalışmada ise Xue ve ark. (2017) karahindiba ekstresinin toplam fenolik madde içeriğini yaprak kısmında 35.03 mg/g, kök kısmında 10.88 mg/g, çiçek kısmında 16.62 mg/g ve sap kısmında 20.36 mg/g, toplam flavonoid madde içeriğini ise sırasıyla 17.13 mg/g, 1.58 mg/g, 16.40 mg/g ve 5.87 mg/g olarak bildirmişlerdir. Pflingstgraf ve ark. (2021) yaptıkları bir çalışmada karahindiba kökünün etanol ekstresinde 3.65 mg/g hidroksibenzoik asit, 1.09 mg/g kafeik asit, 1.95 mg/g sikorikasit, 0.6 mg/g feruloilkinik asit, 0.53 mg/g dikaffeoilkinik asit, 0.4 mg/g dikaffeoilkinik asit izomeri bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonuçla-

rı ile bazı literatür bulguları arasındaki farklılıklar karahindiba bitkisinin flavonoid ve fenolik madde içeriğinin ve kompozisyonunun bitki türüne ve bitkinin kısımlarına (örneğin, kök, gövde, iç ve dış yapraklar) göre farklılık göstermesine bağlanmıştır.

Oh ve ark. (2007) tarafından yapılan broylerlerde %1 karahindiba ve %0.5 ve %1 karahindiba fermente probiyotiklerin canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı ve yem tüketimini önemli oranda etkilemediğini bildiren çalışmada bulguları ile benzer olarak KHE katılan gruplarla kontrol grubu arasında canlı ağırlık ve yem tüketimleri bakımından önemli bir farklılık saptanmamıştır. Qureshi ve ark. (2015) tarafından broyler yemlerine % 0.5 düzeyinde karahindiba katılmasının yem tüketimini etkilemediğini bildirilmiştir.

Yemden yararlanma oranları bakımından kontrol ve deneme grupları arasında önemli bir değişiklik tespit edilmemiş olsa da; en iyi yemden yararlanma oranı % 0.9 karahindiba ekstresi içeren grupta tespit edilmiştir. Yemlere katılan karahindiba ekstresinin dozu arttıkça yemden yararlanmanın da paralel bir artış göstermesi umut verici bulunmuştur. Karahindiba ekstresinin etlik piliçlerde yemden yararlanmayı iyileştirdiğini bildiren çalışmalar da bu görüşü desteklemektedir (Al-Kassie ve ark., 2010; Qureshi ve ark., 2015). Sadeq ve ark. (2020) bildiricilerde yaptıkları çalışmada %1 karahindiba yaprağı içeren gruplarda yemden yararlanma oranının önemli ölçüde iyileştiğini bildirmişlerdir. Chen ve ark. (2005) oligofruktoz tipi (%1 oligofruktoz tipi ticari prebiyotik) veya ile inülin tipi (% 1.3 yarı saflaştırılmış hindiba kökü ekstresinden gelen %1 inülinin) prebiyotik takviyesinin yemden yararlanma oranını iyileştirdiğini tespit etmişlerdir. Öte yandan Kop-Bozbay ve ark. (2021) yumurta tavuklarında hindiba, beyaz üçgül ve hindiba-beyaz üçgül karışımı bulunduran alanlarda otlama imkânı sunulan tavuklarda hindiba veya hindiba + beyaz üçgül otlayan tavuklarla kontrol grubu arasında yemden yararlanma bakımından önemli bir fark olmadığını bildirmişlerdir.

Yumurta verimi bakımından kontrol ve KHE içeren gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık belirlenmemekle birlikte KHE içeren tüm gruplarda rakamsal düzeyde artış tespit edildi. En yüksek artış da %0.60 oranında KHE içeren grupta bulundu. Saenz ve ark. (2021) yumurta tavuklarının yemlerine eklenen karahindiba ununun (%1, %2, %3, %4) yumurta verimini arttırdığını bildirmişlerdir.

Çalışmada, KHE katılan gruplarda yumurta ağırlığının kontrol grubuna göre arttığı saptandı. Çalışma sonu ortalama değerleri bakımından en düşük yumurta ağırlığı kontrol grubunda iken, en yüksek yumurta ağırlığı %0.90 KHE içeren grupta belirlendi. Bu bulgu en iyi yemden yararlanmanın da %0.90 oranında KHE içeren grupta tespit edilmiş olması ile paralellik göstermektedir. KHE'sinin yumurta ağırlığı üzerine

etkisi inülin içermesine ve inülinin prebiyotik etkisine bağlanmıştır. Bu bulgu, Shang ve ark (2020)'nın 5, 10, 15, ve 20 g/kg inülin içeren yemlerle beslenen gruplardan 10 ve 15 g/kg inülin içeren grupların diğer gruplara göre önemli oranda yüksek yumurta ağırlığına sahip olduğunu bildirdiği çalışma sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Öte yandan Sadeq ve ark. (2020) fesleğen tohumu tozu ile %0.5 ve %1 yabancı karahindiba yaprak tozunun, Chen ve ark. (2005) %1 oligofruktoz tipi ticari prebiyotik takviyesi ile %1.3 yarı saflaştırılmış hindiba kökü ekstresinden gelen %1 inülinin yumurta ağırlığını etkilemediğini tespit etmişlerdir.

Yumurta kabuğu kalsifikasyonu için yeterli miktarda kalsiyum sağlanmasında kalsiyumun bağırsaklardan emilimi kritik bir rol oynamaktadır. Bu bakımdan inülin ve diğer prebiyotiklerin mineral metabolizmasında, özellikle de kalsiyum emiliminin artırılmasında rol oynaması nedeni ile kabuk kalitesini olumlu etkilediği kaydedilmiştir. Pek çok prebiyotik lifin (çözünür mısır lifi veya lif dekstrin, inülin, FOS, fruktanlar vb) bağırsaklarda fermentasyonu sonucu kısa zincirli yağ asitleri içeriğini arttırdığı gösterilmiştir. Kısa zincirli yağ asitleri kalsiyum emilimini arttırmak için epitelyumu doğrudan etkileyebileceği gibi paraselüler kalsiyum taşınması ve kalsiyum bağlayıcı protein ekspresyonunu da artırabilir. Ayrıca inülin tipi fruktanların fermentasyon ürünü olarak oluşan bütirik asidin sekum ağırlığı ve villus yüksekliğini artırması (Le Blay ve ark., 1999) dolayısı ile emilim yüzeyindeki genişlemenin Ca emiliminin artmasında rol oynadığı belirtilmektedir. Öte yandan inülin gibi prebiyotik kaynaklarının bağırsak florası tarafından fermentasyonu sonucu oluşan kısa zincirli yağ asitlerinin barsak içeriğinin asitliğini arttırması ile mineral çözünürlüğünün artmasına yardımcı olarak kalsiyumun emilimini arttırdığı ve Hidrojen iyonu (H) / Ca değişiminin aktivasyonunu etkilediği sonuçta kalsiyumun transselüler absorpsiyonunu ve kemik mineralizasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Keser ve Bilal, 2010). Yumurta kalitesi parametrelerinden yumurta özgül ağırlığı ile kabuk kalınlığı arasında pozitif bir korelasyon bulunmakta olup; yumurta özgül ağırlığı yumurta kalitesi bakımından önemli bir kriterdir. Çalışmada, yumurta kabuk kalınlığı bakımından gruplar arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Çalışma sonu genel ortalamalara göre en yüksek yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta özgül ağırlığı %0.60 oranında KHE içeren grupta belirlenmiştir. Güçlü (2011) bildiricilerde probiyotik ve prebiyotik (MOS) kullanarak yaptığı bir çalışmada hem probiyotik hem de prebiyotik ilavesinin yumurta kabuk kalınlığını arttırdığını bildirmiştir. Başka bir çalışmada Kahraman ve ark. (2009) rasyonlara prebiyotik ilavesinin kabuk kırılma mukavemeti, kabuk kalınlığı, ak yüksekliği ve Haugh birimi değerlerinde artışa neden olduğunu saptamışlardır. Ancak Kop-Bozbay ve ark. (2021) yumurta tavuklarında serbest erişim olanağı bulunan bitkisz (kontrol gru-

bu), hindiba, beyaz üçgül ve hindiba-beyaz üçgül karışımı olan alanlarda beslenen tavuklarla yaptıkları çalışmada hindiba ile beslenen gruplarda kabuk kalınlığının azaldığını ve bu azalmanın bitkisel kaynaklardan Ca alımının azalmasıyla ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Yumurtanın iç kalite göstergelerinden biri de yumurta ağırlığına ve ak yüksekliğine bağlı olan Haugh birimidir. Haugh birimi bakımından çalışma sonu genel ortalamalar değerlendirildiğinde; %0.60 oranında KHE içeren grupta %0.30 KHE içeren gruba göre önemli oranda ancak kontrol grubuna göre rakamsal düzeyde artış bulunmuştur. Bir prebiyotik olan inülin bakımından zengin olan KHE'nin bu etkisi prebiyotiklerin sindirim sistemi üzerine etkileri sonucu besin madde emilimini iyileştirmesine bağlanmıştır. Sheoran ve ark. (2018) prebiyotik ilavesinin yumurta iç kalite özelliklerini (ak indeksi ve Haugh birimi) artırdığını kaydetmişlerdir. Sadeq ve ark. (2020) yumurtacı bıldırcınlarda yeme farklı oranda fesleğen tohumu tozu ile karahindiba yabani yaprak tozu ilave ettikleri çalışmada yumurta Haugh birimi bakımından en yüksek değerlerin %1 karahindiba içeren grupta bulunduğunu tespit etmişlerdir. Kop-Bozbay ve ark. (2021) yumurta tavuklarında hindiba, beyaz üçgül ve hindiba-beyaz üçgül karışımı olan alanlarda beslemenin Haugh birimi bakımından önemli bir fark oluşturmadığını bildirmişlerdir.

Yumurta sarı rengi bakımından farklı oranlarda karahindiba içeren yem ile beslenen gruplarda kontrol grubuna göre önemli bir farklılık belirlenmedi. Çalışma bulgularına benzer olarak Sadeq ve ark. (2020) yumurtacı bıldırcınlarda fesleğen tohumu tozu ile karahindiba yabani yaprak tozunun yumurta sarı rengini etkilemediğini saptamışlardır. Kop-Bozbay ve ark. (2021) yumurta tavuklarında farklı bitkiler bulunan serbest erişim olanağı olan otlatma çalışmasında sarı rengi bakımından hindiba, beyaz üçgül ve hindiba-beyaz üçgül karışımı ile beslenen gruplar arasında bir fark olmadığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak; %0.30, %0.60 ve %0.90 oranında KHE içeren yemlerle beslenen yumurta tavuklarında canlı ağırlık, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, yumurta verimi, yumurta sarı rengi önemli oranda etkilenmemiştir. Ancak yumurta tavuğu yemlerine KHE ilavesi yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta ağırlığını önemli oranda artırmıştır. Alternatif yem katkı maddesi olarak KHE kullanılmasının yumurta tavuklarında yumurta kalitesini olumlu etkilediği belirlenmiş olup; performans veya ürün kalitesine etkisinin daha net belirlenmesi için karahindibanın farklı doz ve formlarının da çalışılması gerekliliği kanısına varılmıştır.

Teşekkür

TYL-2021-11109 kodlu proje ile bu tez çalışmasının yapılmasındaki katkılarından dolayı Erciyes Üniversitesi

tesisi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Al-Kassi GAM, Witwit NM. A comparative study on diet supplementation with a mixture of herbal plants and Dandelion as a source of prebiotics on the performance of broilers. Pak J Nutr 2010; 9 (1): 67-71.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists International Official Methods of Analysis. 1111, Sixteenth Edition, AOAC, Arlington, 1997.

Aşan M, Özcan N. Kanatlı beslemede inülinin prebiyotik olarak önemi. Hayvansal Üretim, 2006; 47(2): 48-53.

Ayaz Seyhan S. DPPH Antioksidan analizinin yeniden değerlendirilmesi. Batman Üniv Yaşam Bilim Derg 2019; 9(2): 125-35.

Bruneton J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Lavoisier publishing, 1995.

Chen YC, Nakthong C, Chen TC. Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inülin. Int J Poult Sci 2005; 4 (2): 103-8.

Çetinkaya B. Etlik civciv rasyonlarında inülin kullanımının performans ve sindirim sistemi gelişimi üzerine etkileri, Yüksek lisans tezi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv Lisansüstü Eğitim Ens, Isparta 2019; s. 9.

Escop Monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. Second Edition. Exeter, UK, Stuttgart, Germany, Escop Thieme, 2003; pp. 499-504.

Faber K. Dandelion-Taraxacum Officinale Weber. Pharmazie 1958; 13: 423-36.

Gallaher RN, Gallaher K, Marshall AJ, Marshall AC. Mineral analysis of ten types of commercially available tea. J Food Compos Anal 2006; 19: 53-7.

Güçlü BK. Effects of probiotic and prebiotic (mannanooligosaccharide) supplementation on performance, egg quality and hatchability in quail breeders. Ankara Univ Vet Fak Derg 2011; 58(1): 27-32.

Hadjikinova R, Petkova N, Hadjikinov D, Denev P, Hrusavov D. Development and validation of HPLC-RID method for determination of sugars and polyols. J Pharm Sci Res 2017; 9(8): 1263.

Harrington KC, Thatcher A, Kemp PD. Mineral com-

- position and nutritive value of some common pasture weeds. *NZ Plant Prot* 2006; 59: 261-5.
- Hempe JM, Lauxen RC, Savage JE. Rapid determination of egg weight and specific gravity using a computerized data collection system. *Poult Sci* 1988; 67: 902-7.
- Hu C. *Taraxacum*: Phytochemistry and health benefits. *Chin Herb Med* 2018; 10(4): 353-61.
- Jassim AKM, Farhan SA, Noori OM. Identification of dandelion *Taraxacum officinale* leaves components and study its extracts effect on different microorganisms. *Al-Nahrain J Sci* 2012; 15(3): 7-14.
- Kahraman Z. Bitkisel yem katkı maddelerinin yumurta tavuğu yemlerinde kullanımı. *Tavukçuluk Araştırma Dergisi* 2009; 8(1): 34-41.
- Karakuş A, Değer Y, Yıldırım S. Protective effect of *Silybum marianum* and *Taraxacum officinale* extracts against oxidative kidney injuries induced by carbon tetrachloride in rats. *Renal Failure* 2017; 39(1): 1-6.
- Keser O, Bilal T. İnülinin kanatlı beslemede kullanılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2010; 16(4): 685-95.
- Khan RU, Naz S, Nikousefat Z, Tufarelli V, Laudadio V. *Thymus vulgaris*: alternative to antibiotics in poultry feed. *Worlds Poult Sci J* 2012; 68(3): 401-8.
- Kolida S, Tuohy K, Gibson GR. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *Br J Nutr* 2002; 87(2): 193-7.
- Kop-Bozbay C, Akdag A, Bozkurt-Kiraz A, Gore M, Kurt O, Ocak N. Laying performance, egg quality characteristics, and egg yolk fatty acids profile in layer hens housed with free access to chicory-and/or white clover-vegetated or non-vegetated areas. *Animals* 2021; 11(6): 1708-15.
- Kroeber L. Zur Pharmakologie der inülinrogen und ihre therapeutische verwendung. *Pharmazie*, 1950; 5: 122-7.
- Le Blay G, Michel C, Blottiere HM, Cherbut C: Prolonged intake of fructo-oligosaccharides induces a short-term elevation of lactic acid-producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats. *J Nutr* 1999; 129(12): 2231-5.
- Li Y, Lv M, Wang J, Tian Z, Yu B, Wang B, Li H. Dandelion (*Taraxacum Mongolicum* Hand.-Mazz.) supplementation-enhanced rumen fermentation through the interaction between ruminal microbiome and metabolome. *Microorganisms* 2020; 9(1): 83.
- Noor AS, Kadhim AH, Ali, MA. The effect of feeding different levels of dandelion leaf powder (*Taraxacum officinale*) in the diet on the productive and physiological performance of broiler chickens, strain ross-308, IOP Conf Ser: Earth Environ Sci 2021; 722.
- Oh JI, Kim GM, Ko SY, Bae IH, Lee SS, Yang CJ. Effect of dietary dandelion (*Taraxacum coreanum*) and dandelion fermented probiotics on productivity and meat quality of broilers. *Korean J Poult Sci* 2007; 34(4): 319-27.
- Pfingstgraf IO, Taulescu M, Pop RM, Orăsan R, Vlase L. Protective effects of *Taraxacum officinale* L. (dandelion) root extract in experimental acute on chronic liver failure. *Antioxidants* 2021; 10(4): 504.
- Qureshi S, Banday MT, Adil S, Shakeel I, Munshi ZH. Effect of dandelion leaves and fenugreek seeds with or without enzyme addition on performance and blood biochemistry of broiler chicken and evaluation of their in vitro antibacterial activity. *Indian J Anim Sci* 2015; 85(11): 1248-54.
- Sadeq MA, Mohammad IA, AL-Nuaimi AL-Hussaini. Effect of using different levels of powder basil seed and leaves of the dandelion (chicory) in improving the production performance and the quality and sensory traits egg of the adapted Japanese females quail. *J Kirkuk Uni Agric Sci* 2020; 11(2): 41-7.
- Saenz FMC, Saucedo-Uriarte JA, Sotelo-Mendez A, Zamora-Huamán SJA. Prebiotic diet based on dandelion (*taraxacum officinale*) improves the productive performance and intestinal morphology of laying hens. *Sci Agropecu* 2021; 12(3): 403-10.
- Schaich K, X-Wu PR. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in food and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 4290-302.
- Schütz K, Carle R, Schieber A. *Taraxacum*-a review on its phytochemical and pharmacological profile. *J Ethnopharmacol* 2006; 107(3): 313-23.
- Sezen A. Prebiyotik, probiyotik ve sinbiyotiklerin insan ve hayvan sağlığı üzerine etkileri, *Ataturk Univ Vet Bilim Derg* 2013; 8: 248-58.
- Shang H., Zhao J, Dong X, Guo Y, Zhang H, Cheng J, Zhou H. İnülin improves the egg production performance and affects the cecum microbiota of laying hens. *Int J Biol Macromol* 2020; 155: 1599-1609.
- Sheoran N, Sihag S, Maan NS. Assessment of ef-

- fects of prebiotics supplementation on feed intake, egg and serum cholesterol levels in white leghorn layers. IJA 2018; 35(1): 97-104.
- Swartz ME. UPLC™: An introduction and review. J Liq Chromatogr Relat 2005; 28(7-8): 1253-63.
- Sweeney B, Vora M, Ulbricht C, Basch E. Evidence-based systematic review of dandelion (*Taraxacum officinale*) by natural standard research collaboration. J Herb Pharmacother 2005; 5: 79-93.
- Thompson BK, Hamilton RMG. Comparison of the precision and accuracy of the flotation and Archimedes' methods for measuring the specific gravity of eggs. Poult Sci 1982; 61(8): 1599-605.
- Turan Ş. Ülkemizde yaygın olarak kullanılan bazı tıbbi bitkilerin yapraklarında ağır metal ve mineral besin element içeriklerinin tayini, Yüksek Lisans tezi, Marmara Üniv Fen Bil Ens, İstanbul 2014; s.125-6.
- Üstündağ AÖ, Özdoğan M. Kanatlı beslemede alterbiyotik kullanımı: Probiyotikler, prebiyotikler, organik asitler ve bakteriyosinler. Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Farmakoloji ve Toksikoloji Özel Dergisi 2017; 3(3):1-16.
- WHO. World Health Organization consultation on selected medicinal plants, Ottawa, Ontario, 2001; 3: 328-38.
- Xue Y, Zhang S, Du M, Zhu MJ. Dandelion extract suppresses reactive oxidative species and inflammation in intestinal epithelial cells. JFF 2017; 29: 10-8.
- Yabancı N. İnülin ve oligofruktozların insan sağlığı ve beslenmesi üzerine etkileri. Akademik Gıda 2010; 8(1): 49-54.
- Yıldırım A, Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan hindiba (*Cichorium* spp.) türlerinin fenolik bileşiklerinin, antioksidan kapasitelerinin ve antioksidan bileşenlerin biyoalınabilirliğinin araştırılması, Doktora tezi, Bursa Uludağ Üniv Fen Bil Ens, Bursa 2018.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem 1999; 64(4): 555-9.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Araştırma Makalesi / Research Article
20(3), 186-191, 2023
DOI: 10.32707/ercivet.1388920

Aydın İlindeki Kedilerde FeLV ve FIV Enfeksiyonlarının Belirlenmesi^{1***}

Mustafa ESEN^{1,a}, Öznur ASLAN^{2,b}

¹ Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veterinerlik İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

² Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0003-0848-9114; ^b0000-0001-5479-3737

Sorumlu yazar: Öznur ASLAN; E-posta: atalay@erciyes.edu.tr

Atıf yapmak için: Esen M, Aslan Ö. Aydın ilindeki kedilerde FELV ve FIV enfeksiyonlarının belirlenmesi. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2023; 20(3):186-191

Öz: Bu çalışmanın amacı, Aydın ilinde yaşayan kedilerde kedi lösemi virusu (FeLV) ve kedi immün yetmezlik virusu (FIV) varlığının belirlenmesidir. Çalışmanın materyalini; tedavi, kontrol, kastrasyon, kısırlaştırma, anti-paraziter uygulama ve aşı gibi çeşitli sebeplerle Aydın'daki özel bir kliniğe başvuran yaşları 6 aylık ve üzeri olan farklı ırk [Sfenks (2), British Shorthair (12), Scottish Fold (5), Tekir (68), İran kedisi (3), Himalayan (3), Siyam (3), Chincila (1), Bombay (1), Russian Blue (1), Van kedisi (1)] ve cinsiyetteki (E= 51, D= 49) rastgele seçilen 100 kediden toplanan kan örnekleri oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen kedilerin klinik muayeneleri yapılarak, alınan kan örneklerinde hemogram ölçümleri ile FIV antikor ve FeLV antijeni yönünden hızlı tanı testi [Bionote®, Anigen Rapid (FIV Ab/FeLV Ag), Güney Kore] yapıldı. Örnek alınan kedilerin üçünde (%3) FIV antikorunun pozitif, FeLV Ag (antijen) yönünden ise hepsinin negatif olduğu belirlendi. FIV pozitif bulunan üç kediden üçünün de (%100) dişi, ikisinin Scottish Fold (4 ve 1.5 yaş) ve birinin Tekir (3 yaş) olduğu kaydedildi. Scottish Fold kedilerde herhangi bir klinik semptom gözlenmezken, birinin dışarı çıktığı ve FeLV'ye karşı aşılanmış olduğu belirlendi. FIV pozitif belirlenen tekir kedinin klinik muayenesinde aralıklı kusmalarının olduğu ve dışarıya çıktığı kaydedildi. FIV pozitif kedilerin hematolojik değerleri incelendiğinde bir kedinin kan değerlerinin hafif dehidrasyon dışında referans değerlerde olduğu gözlenirken, birinde lökopeni ile hafif dehidrasyon ve birinde ise lökositosis, lenfositosis ve trombositozis belirlendi. Sonuç olarak, Aydın ilindeki kedilerde %3 oranında FIV pozitiflik belirlenirken FeLV antijen görülme oranı %0 olarak belirlendi. FIV pozitif kedilerin klinik ve hematoloji bulgularının değişkenlik gösterdiği kaydedildi.

Anahtar kelimeler: FeLV, FIV, kedi

Detection of FeLV and FIV Infections in Cats on Aydın Region

Abstract: The purpose of this work is to determine of FeLV and FIV infections in cats, living in the province of Aydın. The blood samples taken from cats, six months and older aged and different breeds [Sphynx (2) British Shorthair (12) Scottish Fold (5) Tabby (68) Persian (3) Himalayan Cat (3) Siamese (3) Chinchilla (1) Bombay Cat (1) Russian Blue (1) Van Cat (1)] and sexes (E= 51, D= 49), brought for the purpose treatment, control, castration, ovariohysterectomy, anti-paraziter treatment and vaccination to a special clinic in Aydın are used as the materials of this study. The hemogram examinations and rapid diagnostic test for FIV antibodies and FeLV antigens [Bionote®, Anigen Rapid (FIV Ab/FeLV Ag), South Korea] were performed in blood samples taken after clinical examinations of cats. It was determined that three (3%) of the cats tested positive for FIV antibodies, and all results to FeLV AG (antigen) were found to be negative. The three cats with FIV positive were female, two of them recorded as Scottish Folds (4 and 1.5 aged respectively) and the other as Tekir (3 years old). While no clinical symptoms were observed in as Scottish Fold cats, it was determined that one of them went outside and vaccinated against FeLV. In the clinical examination of the FIV positive Tekir cat were noted to intermittent vomiting and recored to went outside. When the hematological values of FIV-positive cats were examined, one of the cats showed signs of minor dehydration but was within the reference range in all other aspects, In another cat, minor dehydration and leukopenia were observed, and in yet another leukocytosis, lymphocyte and thrombocytosis were observed. In conclusion, while FIV positivity was determined at a rate od 3% in cats in Aydın province, the FeLV antigen rate was found to be 0%. The clinical and hematological findings of FIV positive cats were noted to variable.

Keywords: Cat, FeLV, FIV

Geliş Tarihi/Submission Date : 14.05.2023

Kabul Tarihi/Accepted Date : 17.08.2023

* Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TYL-2021-11318 kodlu proje ile desteklenmiştir.

** 23-25 Temmuz 2022 tarihlerinde X. Uluslararası İstanbul Bilimsel Araştırmalar Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Giriş

Kedi lösemi virusu (FeLV) ve kedi immün yetmezlik virusu (FIV), kedilerde dünyada yaygın olduğu bildirilen bulaşıcı hastalık etkenleridir (Lee ve ark., 2002; Norris ve ark., 2007; Hosie ve ark., 2009; Ravi ve ark., 2010; Jenkins ve ark., 2013). FIV ve FeLV en-

feksiyonları kedilerin immun sistemini baskılayan ve dolayısıyla kedilerde önemli hastalıklara neden olan enfeksiyonlardır. FeLV enfeksiyonu ile ilişkili klinik belirtiler, tümörler, immünosupresyon, hematolojik bozukluklar, immün aracılı hastalıklar ve diğer sendromlar (nöropati, üreme bozuklukları, solan yavru kedi sendromu dahil) olarak sınıflandırılabilir (Overbaugh ve ark., 1988). FIV enfeksiyonunda klinik bulgular fırsatçı enfeksiyonların oluşumuna bağlıdır. Hafif şiddetliden orta şiddetliye kadar değişen lenfoadenomegali görülebilir. Vakaların %25-50'sinde gingivitis, periodontit ve stomatit görülür. Üst solunum yolu enfeksiyonu genellikle feline herpesvirus ve calicivirus tarafından oluşturulur, rinit, konjunktivit ve keratit ile seyreder. Kalıcı ishal (vakaların %10-20'si); bakteri veya mantarın sayısının artması, parazit kaynaklı enteritis; FIV enfeksiyonunun gastrointestinal epitel üzerindeki doğrudan etkisinden kaynaklanmaktadır. Dış kulakta ve deride bakteriyel enfeksiyonlar veya dermatofitozdan kaynaklanan kronik, dirençli, nöks eden enfeksiyonlar görülür. Okuler semptomlar uveit, pars planit ve glokomdur. Hemogram normal olabileceği gibi anemi, lenfopeni, nötropeni veya ikincil enfeksiyonun varlığına göre nötrofil görülebilir (Tilley ve Smith, 2015). FeLV ve FIV enfeksiyonları kedilerde beraber bulunabildiği gibi ayrı olarak da bulunabilmekte ve genellikle sekonder enfeksiyonlar sonucu ölümcül bir tablo şekillenebilmektedir (Cotter, 1991). Günümüzde FeLV ve FIV için kesin bir tedavi mevcut olmamakla birlikte, tedavi denemeleri devam etmektedir (Addie, 2012; Bracklein ve ark., 2006; Gil ve ark., 2013; Hennes ve ark., 2011; Mochizuki ve ark., 1994; Ohe ve ark., 2008; Truyen ve ark., 2002). Enfeksiyonların teşhisi amacıyla FeLV antijen ve FIV antikorlarının belirlenebildiği pratik Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) ve immunokromatografik kitler mevcut olup, saha taramaları için önerilmektedir (Eto ve ark., 2003; Westman ve ark., 2019a, b).

Bu çalışmanın amacı, Aydın ilinde bulunan kedilerde FIV ve FeLV enfeksiyonlarının varlığının immunokromatografik olarak araştırılmasıdır. Elde edilen bulguların; kedilerin bu enfeksiyonlardan korunmasına ve yayılmalarının önüne geçilmesi için gereken önlemlerin alınmasına yardımcı olacağı düşünülmüştür.

Gereç ve Yöntem

Çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 21/122 sayılı ve 05.05.2021 tarihli kararıyla yürütülmüştür.

Hayvan materyali

Çalışmanın materyelini; tedavi, kontrol, kastrasyon, kısırlaştırma, anti-paraziter uygulama ve aşı gibi çeşitli sebeplerle Aydın Esen Veteriner Kliniğine başvuran 6 aylık ve üzeri yaşta, farklı ırk [Sfenks (2), British Shorthair (12), Scottish Fold (5), Tekir (68), İran kedi-

si (3), Himalayan (3), Siyam (3), Chincila (1), Bombay (1), Russian Blue (1), Van kedisi (1)] ve cinsiyetteki (E= 51, D= 49) rastgele seçilen 100 kediden toplanan kan örnekleri oluşturdu.

Kan alımı

Çalışmaya dahil edilen hayvanların *Vena cephalica antebrachii*'lerinden antikoagülanlı (etilendiamin tetraasetik asit, EDTA) tüplere 3 ml kan örnekleri alınarak hematolojik [MS4SE marka (Fransa) tam kan sayımı cihazı ile] ve hızlı test kiti analizleri [FIV antikor ve FeLV antijeni yönünden hızlı tanı kiti kullanılarak (BIONOTE, Anigen Rapid (FIV Ab/FeLV Ag), Güney Kore) yapıldı. Kedilerin kan örnekleri alınmadan önce genel klinik muayeneleri yapılarak bulgular kaydedildi.

İstatistiksel metot

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov testleri ile değerlendirildi. Hemogram sonuçlarının özetlenmesinde tanımlayıcı istatistiklerden medyan, 1. çeyreklik, 3. çeyreklik, minimum ve maksimum değerleri kullanıldı. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics v.25 for Windows paket programı (SPSS, 2017) ile yapıldı.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen kedilerin 56'sında (%56) herhangi bir semptomla rastlanmazken, 44'ünde (%44) çeşitli semptomlar kaydedildi. Hastalık şikayeti ile getirilen kedilerin ikisinde (%4.5) gingivitis, 10'unda (%22.7) dehidrasyon, 11'inde (%25) halsizlik, dokuzunda (%20.4) kusma, ikisinde (%4.5) inkordinasyon, sekizinde (%18) anoreksi, yedisinde (%15.9) diyare, ikisinde (%4.5) konjunktivit, 19'unda (%43.1) yüksek ateş, üçünde (%6.8) hipersalivasyon, üçünde (%6.8) ikterus, birinde (%2.2) konstipasyon, üçünde (%6.8) çeşitli derecelerde paraliz, birinde (%2.2) epilus, ikisinde (%4.5) ağızda koku, birinde (%2.2) hipotermi, birinde (%2.2) anemi, üçünde (%6.8) çeşitli derecelerde üst solunum problemleri olduğu belirlendi.

Çalışmada örnek alınan kedilerden 93'ünün evde ve yedisinin ise dışarıda bakıldığı öğrenildi. Evde bakılan kedilerden 24'ünün çeşitli zaman aralıkları ile ev dışına çıkmasına izin verildiği, evde bakılan 93 kedi- den 53'ünün tek başına bakılırken, 36'sının birden fazla kedi (22'si iki kedi, dokuzu üç kedi, dördü 4 kedi, biri 5 kedi) bakılan evde kaldığı tespit edildi.

Örnek alınan kedilerin üçünde (%3) FIV antikor pozitif belirlenirken ve FeLV Ag açısından hiçbiri (%0) pozitif değildi. FIV pozitif bulunan üç dişi (%100) kedi- den, ikisi 1.5 ve 4 yaşlarında Scottish Fold ırkı ve biri ise 3 yaşlı Tekir ırkı kedilerdi. Scottish Fold kedilerde herhangi bir klinik semptom belirlenmezken, birinin dışarı çıktığı ve FeLV'ye karşı aşılanmış olduğu belirlendi. FIV pozitif belirlenen Tekir kedinin klinik mua-

yenesinde aralıklı kusmalarının olduğu ve dışarıya çıktığı kaydedildi.

Hematolojik bulgular

Çalışmaya dahil edilen kedilerin hemogram bulguları istatistik analizleri yapılarak Tablo 1.'de verilmiştir. FIV pozitif kedilerin hematolojik değerleri incelendiğinde bir kedinin kan değerlerinin hafif dehidrasyon dışında referans değerlerde olduğu gözlenirken, birinde lökopeni ile hafif dehidrasyon ve birinde ise lökositosis, lenfositosis ve trombositosis belirlendi (Tablo 2).

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen kedilerin hematolojik bulguları

Değişken	N	Ortanca	1. ve 3. Çeyreklik	Min-Mak
WBC ($10^9/L$)	100	6.46	3.31 - 15.68	0.86 - 49.30
LYM ($10^9/L$)	100	3.04	1.10 - 7.33	0.24 - 39.00
MON ($10^9/L$)	100	0.23	0.10 - 0.50	0.01 - 2.19
GRAN ($10^9/L$)	100	2.64	1.50 - 6.03	0.38 - 23.65
RBC ($10^{12}/L$)	100	10.31	8.75 - 11.59	0.57 - 36.10
HGB (g/dl)	100	14.55	12.33 - 16.00	3.90 - 28.30
HCT (%)	100	44.25	39.40 - 49.68	9.68 - 99.90
PLT ($10^9/L$)	100	278.50	151.00 - 563.00	34.00 - 7834.00

N: Örneklem sayısı; **Min:** Minimum değer; **Mak:** Maksimum değer.

Tablo 2. FIV pozitif kedilerin hematolojik bulguları

FIV pozitif	WBC ($10^9/L$)	LYM ($10^9/L$)	MON ($10^9/L$)	GRAN ($10^9/L$)	RBC ($10^{12}/L$)	HGB (g/dl)	HCT (%)	PLT ($10^9/L$)
1 (Scottish Fold)	10.89	4.87	0.57	5.45	11.13	17.4	48.9	96
2 (Scottish Fold)	3.78	2.13	0.18	1.47	10.99	16.8	49.7	179
3 (Tekir)	21.8	16.9	1.73	3.21	9.31	14.1	41.6	1615

FIV: Feline immün yetmezlik virusu, **WBC:** Lökosit, **LYM:** Lenfosit, **MON:** Monosit, **GRAN:** Nötrofil, **RBC:** Eritrosit, **HGB:** Hemoglobin, **HCT:** Hematokrit, **PLT:** Trombosit

Tartışma ve Sonuç

Kedilerin lösemi virusu Retroviridae ailesine ait Gammaretrovirus genusundan zarflı tek zincirli RNA'lı bir virus olup, evcil kedileri de içeren kedigillerde yaygın olarak bulunan bir virustür. Persiste viremik kediler, virusun salya, nazal akıntılar, idrar ve dışkı ile oronasal olarak diğer kedilere bulaşması nedeniyle enfeksiyon kaynağıdır. Virus kedi topluluklarında aynı mama ve yem kabının kullanılması, birbirini yalama ya da ısırma yoluyla bulaşabileceği gibi, plasental ve laktasyon süresinde yavrulara da geçebilmektedir (Capozza ve ark., 2021). FeLV enfeksiyonunun varlığı ile ilgili dünyanın farklı ülkelerinde pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalara göre Amerika'da %2.3 ile %3.3, Avrupa'da %0.7 ile %15.6, Güney Amerika'da %3 ile %28.4 ve Aysa ile Avusturalya/Yeni Zellanda'da %0.5 ile %24.5 oranlarında değişen prevalanslar bildirilmiştir (Englert ve ark., 2012; Gleich ve ark., 2009; Hellard ve ark., 2011; Hofmann-Lehmann ve ark., 2018; Levy ve ark., 2006; Spada ve ark., 2012; Westman ve ark., 2019a). Studer ve ark. (2019) 32 Avrupa ülkesindeki kedilerin tükrük örneklerinde yaptığı PCR analizine göre FeLV görülme oranları Danimarka, Finlandiya, Norveç,

İsveç, Bulgaristan, Romanya, Hollanda ve Luksemburg'da %0, Almanya ve İngiltere'de %1, Belçika ve Fransa'da %3, Avusturya ve Letonya'da %4, Slovakya'da %5, İrlanda ve İsviçre'de %7, Çek Cumhuriyetinde %8, Hırvatistan ve İspanya'da %9, Macaristan'da %13, Polonya'da %17, İtalya'da %20 ve Portekiz'de %29 olarak bildirmiştir. İngiltere'de iki farklı kedi barınağında hızlı test kiti ile yapılan taramalarda barınaklardan birinde FeLV enfeksiyon oranı %3 diğerinde ise %0 bulunmuştur (Stavisky ve ark., 2017).

Türkiye'de daha önce yapılan çalışmalarda FeLV oranları; Ankara'da PCR ile %20.5 (Oğuzoğlu ve ark., 2013), Van'da hızlı test kiti ile %4.5 (Yüksek ve ark., 2005), İstanbul'da hızlı test kiti ile %5.8 (Yılmaz ve Ilgaz, 2000), antijen varlığına göre Aydın'da (%4.9) ve İzmir'de %11.4 (Erol ve Paşa, 2013) olarak bildirilmiştir. Sunulan çalışmada da Aydın ilinde 100 kediden alınan kan örneklerinde FeLV görülme oranı %0 olarak bulunmuştur. FeLV prevalansına etki eden risk faktörler, cinsiyet (erkek kedi), kısırlaştırma durumu, agresif davranış, aşılama, dışarı çıkma ya da aynı evde çok sayıda kedi varlığı ve coğrafi bölge vb. olarak bildirilmektedir (Hartmann ve Hofmann-Lehmann, 2020). Sunulan çalışmada örnek alınan kedilerden 51'inin erkek ve 49'unun dişi olduğu, 93'ünün evde bakıldığı ve yedisinin ise dışarıda bakıldığı belirlendi. Evde bakılan kedilerden 24'ünün çeşitli zaman aralıkları ile ev dışına çıkmasına izin verildiği, evde bakılan 93 kediden 53'ünün tek başına bakılırken, 36'sının birden fazla kedi (22'si iki kedi, dokuzu üç kedi, dördü 4 kedi, biri 5 kedi) bakılan evde kaldığı belirlenmiştir. Sunulan çalışmada FeLV oranının %0 olmasının daha önce Aydın ve İzmir bölgelerinde yapılan çalışmada materyal olarak

seçilen kedilerin büyük oranda sokak kedisi (150 sokak kedisi, 60 ev kedisi) olmasından ya da kullanılan metodun farklı olmasından (Erol ve Paşa, 2013) kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Kedilerin immün yetmezlik virusu, evcil ve vahşi kedigillerde enfeksiyona neden olan Retrovirus ailesinin Lentivirus genusuna ait bir virustür (Miyazawa ve ark., 1994). Kedilerde FIV enfeksiyonunun, Kanada (Ravi ve ark., 2010) ve Birleşik Krallık'ta %6 (Hosie ve ark., 1989), Avusturalya'da %8 (Norris ve ark., 2007), Yeni Zelanda'da %10 (Jenkins ve ark., 2013), Japonya'da %23 (Nakamura ve ark., 2010) oranında görüldüğü bildirilmektedir. İngiltere'de 2 farklı kedi barınağında hızlı test kiti ile yapılan taramalarda barınaklardan birinde FIV enfeksiyon oranı %11.4 diğ erinde ise %3 olarak bulunmuştur (Stavisky ve ark., 2017). Almanya'da 1993 ve 2002 yılları arasında toplanan 17 289 kedide yapılan bir çalışmada FIV oranı %3.2 olarak bildirilmiştir (Gleich ve ark., 2009). Türkiye'de ise Van ilinde FIV oranı %3 (Yüksek ve ark., 2005), İstanbul'da %22.3 (Yılmaz ve Ilgaz, 2000), Ankara'da %9.5 (Oğuzoğlu ve ark., 2013), Aydın'da %13.9 ve İzmir'de %27.3 (Erol ve Paşa, 2013) olduğu rapor edilmiştir. Sunulan çalışmada FIV oranının %3 bulunması daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur (Gleich ve ark., 2009; Levy ve ark., 2006; Stavisky ve ark., 2017; Yüksek ve ark., 2005). Enfeksiyon kediler arasında kavga ve ısırma ile kandan bulaşabileceği gibi çiftleşme ve vertikal yolla da bulaşabilmektedir. FIV enfeksiyonlu kediler ömür boyu enfekte olup günümüzde bilinen etkili bir tedavisi de yoktur. Hastalık oluşumunda risk faktörleri olarak yaş [üç yaşından büyük (ortalama altı yaş)], erkek cinsiyet, dışarı çıkma, saldırgan davranış ve kavga yaralanmaları sayılabilmektedir (Gleich ve ark., 2009). Erol ve Paşa (2013) yaptığı çalışmada FIV görülmesinde etkili risk faktörleri belirlenmiş, erkeklerde (%27.5) dişilerden (%13.4) ve evde yaşayan kedilerde (%33.3) sokak kedilerinden (%14) daha sık görüldüğünü bildirmişlerdir. Yılmaz ve Ilgaz (2000), yaptıkları çalışmada 3-7 yaşlı, erkek ve hastalık şikayeti olan kedilerde FIV görülme oranının yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca ev kedileri ve sokak kedileri arasında FIV görülme oranlarının birbirine çok yakın olduğunu, bunun sebebinin kedilerin FIV ile yaşamlarının erken dönemlerinde karşılaşmış olabileceklerinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Yüksek ve ark. (2005) Van'daki FIV pozitif kedilerin %3.8'inin erkek ve %2.5'inin dişi olduğunu belirtmişlerdir. Oğuzoğlu ve ark. (2013) ise 48 aylıktan büyük yaştaki (%25), Sarman (%25), dışarı çıkan (%16.3) ve herhangi bir hastalık öyküsü olan (%11.5) kedilerde daha yüksek oranda FIV enfeksiyonu belirlemişlerdir. Sunulan çalışmada, FIV pozitif kedilerden ikisinin dışarı çıktığı yaşlarının sırasıyla 1.5, 3, 4 ve dişi oldukları belirlenmiştir. Literatürlerin aksine enfekte kedilerin hepsinin dişi olmasının sebebinin; çiftleşme, dışarı çıkma ya da sahiplenilmeden önce enfeksiyona maruz kalma

olabileceği düşünülmüştür. Kedilerde FIV enfeksiyonunda, lökopeni, lökositoz, anemi, trombositopeni, kemik iliğinde ise myelopoetik ve eritropoetik hücre dizilerinde değişiklik gibi hematolojik bozukluklara rastlandığı bildirilmektedir (Deniz, 2001; Gleich ve Hartmann, 2009; Hart ve Nolte 1994; Shelton ve ark., 1991). Gleich ve Hartmann (2009), FIV ve FeLV pozitif kedilerle yaptıkları çalışmada FIV pozitif kedilerin %6'sında RBC değerinin düşük, %28'inde yüksek, PCV değerinin %16'sında düşük, %20'sinde yüksek, Platelet değerinin %10'unda düşük, %8'inde yüksek ve lenfosit değerinin %37'inde düşük, %10'unda düşük olduğunu bildirmişlerdir. Deniz (2001), Almanya'da 37 FIV pozitif kedide yaptığı çalışmada kedilerin %21.6'sında lökositosis belirlerken, %5.4'ünde lökopeni belirlemiştir. Klinik belirtili FIV pozitif kedilerde trombositopeni oranını %10.8 olarak bildirmişken, klinik belirtisiz FIV seropozitif kedilerden birinde trombositopeni ve ikisinde lökopeni belirlemiştir. Sunulan çalışmada ise, FIV pozitif kedilerin hematolojik değerleri incelendiğinde bir kedinin kan değerlerinin hafif dehidrasyon dışında referans değerlerde olduğu gözlenirken, birinde lökopeni ile hafif dehidrasyon ve birinde ise lökositosis, lenfositosis ve trompositosis belirlenmiştir. Lökopeni gözlenen kedide, FIV enfeksiyonunun kemik iliği ve immün sistemi etkilenmeye başlamış olabileceği ve bu nedenle lökopeni olabileceği düşünülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalardan anlaşılacağı üzere (Deniz, 2001; Gleich ve Hartmann, 2009), FIV enfeksiyonunun inkübasyon süresi, evresi ve sekonder enfeksiyon durumuna göre hematolojik tablonun değişebileceği, lökositosis, lenfositosis ve trompositosis gibi hematolojik bulguların da oluşabileceği düşünülebilir.

Sonuç olarak; Aydın ilinde kedilerde FeLV ve FIV enfeksiyonlarının görülme oranı sırasıyla %0 ve %3 olarak belirlenmiştir. FIV pozitif kedilerin dişi, farklı ırk ve yaşta oldukları, %2'sinin dışarı çıktığı, kedilerden biri dışında klinik belirtilerinin olmadığı ve hematolojik bulguların değişken olduğu görülmüştür.

Kaynaklar

- Addie D. Feline coronavirus infections. Green C. ed. In: Infectious Diseases of the Dog and Cat. Elsevier: Missouri, 2012; pp. 92-108.
- Bracklein T, Theise S, Metzler A, Spiess BM, Richter M. Activity of feline interferon-omega after ocular or oral administration in cats as indicated by Mx protein expression in conjunctival and white blood cells. Am J Vet Res 2006; 67 (6):1025-32.
- Capozza P, Lorusso E, Colella V, Thibault JC, Tan DY, Tronel JP, Halos L, Beugnet F, Elia G,

- Nguyen VL, Occhiogrosso L, Martella V, Otranto D, Decaro N. Feline leukemia virus in owned cats in Southeast Asia and Taiwan. *Vet Microbiol* 2021; 254:109008
- Cotter SM. Management of healthy feline leukemia virus-positive cats. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 199:1470-3.
- Deniz A. Evaluation of clinical findings, some hematological and biochemical findings, and age and sex status in feline immunodeficiency virus (FIV) seropositive cats with clinical symptoms and without clinical symptoms. *Turk J Vet Anim Sci* 2001; 25(4): 409-19.
- Englert T, Lutz H, Sauter-Louis C, Hartmann K. Survey of the feline leukemia virus infection status of cats in Southern Germany. *J Feline Med Surg* 2012; 14: 392-8.
- Erol N, Pasa S. An investigation of the feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukemia virus (FeLV) infections in cats in Western Turkey. *Acta Sci Vet* 2013; 41(1): 1-6.
- Eto N, Yazaki-Takayama N, Takayama Y, Yoshino-Nakamura T, Kobayashi Y. Immunochromatographic assay for diagnosis of feline leukemia virus infection. *Cytotechnology* 2003; 43(1-3): 65.
- Gil S, Leal RO, Duarte A, McGahie D, Sepúlveda N, Siborro I, Tavares LM. Relevance of feline interferon omega for clinical improvement and reduction of concurrent viral excretion in retrovirus infected cats from a rescue shelter. *Res Vet Sci* 2013; 94(3): 753-63.
- Gleich S, Hartmann K. Hematology and serum biochemistry of feline immunodeficiency virus-infected and feline leukemia virus-infected cats. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 552-8.
- Gleich SE, Krieger S, Hartmann K. Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. *J Feline Med Surg* 2009; 11(12): 985-92.
- Hart S, Nolte I. Hemostatic disorders in feline immunodeficiency virus seropositive cats. *J Vet Intern Med* 1994; 8: 355-62.
- Hartmann K, Hofmann-Lehmann R. What's new in feline leukemia virus infection. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2020; 50(5): 1013-36.
- Hellard E, Fouchet D, Santin-Janin H, Tarin B, Badol V, Coupier C, Leblanc G, Poulet H, Pontier D. When cats' ways of life interact with their viruses: A study in 15 natural populations of owned and unowned cats (*Felis silvestris catus*). *Prev Vet Med* 2011; 101: 250-64.
- Hennet PR, Camy GAL, McGahie DM, Albouy MV. Comparative efficacy of a recombinant feline interferon omega in refractory cases of calicivirus-positive cats with caudal stomatitis: A randomised, multi-centre, controlled, double-blind study in 39 cats. *J Feline Med Surg* 2011; 13(8): 577-87.
- Hofmann-Lehmann R, Gonczi E, Riond B, Meli M, Willi B, Howard J, Schaarschmidt-Kiener D, Regli W, Gilli U, Boretti F. Feline leukemia virus infection: importance and current situation in Switzerland. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2018; 160: 95-105.
- Hosie MJ, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, Hartmann K, Lloret A, Lutz H, Marsilio F, Pennisi MG, Radford AD, Thiry E, Truyen U, Horzinek MC. Feline immunodeficiency. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 2009; 11(7): 575-84.
- Hosie MJ, Robertson C, Jarrett O. Prevalence of feline leukaemia virus and antibodies to feline immunodeficiency virus in cats in the United Kingdom. *Vet Rec* 1989; 125: 293-7.
- Jenkins KS, Dittmer KE, Marshall JC, Tasker S. Prevalence and risk factor analysis of feline haemoplasma infection in New Zealand domestic cats using a real-time PCR assay. *J Feline Med Surg* 2013; 15(12): 1063-9.
- Lee IT, Levy JK, Gorman SP, Crawford PC, Slater MR. Prevalence of feline leukemia virus infection and serum antibodies against feline immunodeficiency virus in unowned free-roaming cats. *J Am Vet Med Assoc* 2002; 220(5): 620-2.
- Levy JK, Scott HM, Lachtara JL, Crawford PC. Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. *J Am Vet Med Assoc* 2006; 228: 371-6.
- Miyazawa T, Tomonaga K, Kawaguchi Y, Mikami T. The genome of feline immunodeficiency virus. *Arch Virol* 1994; 134(3-4): 221-34.
- Mochizuki M, Nakatani H, Yoshida M. Inhibitory effects of recombinant feline interferon on the replication of feline enteropathogenic viruses in vitro. *Vet Microbiol* 1994; 39: 145-52.
- Nakamura Y, Nakamura Y, Ura A, Hirata M, Sakuma M, Sakata Y, Nishigaki K, Tsujimoto H, Setoguchi A, Endo Y. An updated nation-wide epide-

- miological survey of feline immunodeficiency virus (FIV) infection in Japan. *J Vet Med Sci* 2010; 72(8): 1051-6.
- Norris JM, Bell ET, Hales L, Toribio JAL, White JD, Wigney DI, Malik R. Prevalence of feline immunodeficiency virus infection in domesticated and feral cats in eastern Australia. *J Feline Med Surg* 2007; 9(4): 300-8.
- Oğuzoğlu TÇ, Muz D, Timurkan MÖ, Maral N, Gürçan İS. Prevalences of feline coronavirus (FCoV), feline leukaemia virus (FeLV), feline immunodeficiency virus (FIV) and feline parvovirus (FPV) among domestic cats in Ankara, Turkey. *Rev Med Vet* 2013; 164(11): 511-6.
- Ohe K, Takahashi T, Hara D, Hara M. Sensitivity of FCV to recombinant feline interferon (rFeIFN). *Vet Res Commun* 2008; 32: 167-74.
- Overbaugh J, Donahue PR, Quackenbush SL, Hoover EA, Mullins JI. Molecular cloning of a feline leukemia virus that induces fatal immunodeficiency disease in cats. *Science* 1988; 239: 906-10.
- Ravi M, Wobeser GA, Taylor SM, Jackson ML. Naturally acquired feline immunodeficiency virus (FIV) infection in cats from western Canada: Prevalence, disease associations, and survival analysis. *Can Vet J* 2010; 51(3): 271-6.
- Shelton GH, Linenberger ML, Abkowitz JL. Hematologic abnormalities in cats seropositive for feline immunodeficiency virus. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 10: 1353-7.
- Spada E, Proverbio D, della Pepa A, Perego R, Baggiani L, DeGiorgi GB, Domenichini G, Ferro E, Cremonesi F. Seroprevalence of feline immunodeficiency virus, feline leukaemia virus and *Toxoplasma gondii* in stray cat colonies in northern Italy and correlation with clinical and laboratory data. *J Feline Med Surg* 2012; 14: 369-77.
- Stavisky J, Dean RS, Molloy MH. Prevalence of and risk factors for FIV and FeLV infection in two shelters in the United Kingdom (2011-2012). *Vet Rec* 2017; 181(17): 451.
- Studer N, Lutz H, Saegerman C, Gönczi E, Meli ML, Boo G, Hartmann K, Hosie MJ. Pan-European study on the prevalence of the feline leukaemia virus infection - Reported by the European Advisory Board on Cat Diseases (ABCD Europe). *Viruses* 2019; 11(11): 993.
- Tilley LP, Smith FWK. *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult Canine and Feline*. Sixth Edition. Iowa: Wiley-Blackwell, 2015; p. 500.
- Truyen U, Blewaska S, Schultheiss U. Antiviral potency of interferon-omega (IFN- ω) against selected canine and feline viruses. *Praktische Tierarzt* 2002; 83(10): 862-5.
- Westman M, Norris J, Malik R, Hofmann-Lehmann R, Harvey A, McLuckie A, Perkins M, Schofield D, Marcus A, McDonald M, Ward M, Hall E, Sheehy P, Hosie M. The diagnosis of feline leukaemia virus (FeLV) infection in owned and group-housed rescue cats in Australia. *Viruses* 2019a; 11(6): 503.
- Westman ME, Malik R, Norris JM. Diagnosing feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukaemia virus (FeLV) infection: an update for clinicians. *Aust Vet J* 2019b; 97(3): 47-55.
- Yılmaz H, Ilgaz A, Harbour DA. Prevalence of FIV and FeLV infections in cats in Istanbul. *J Feline Med Surg* 2000; 2(1): 69-70.
- Yüksek N, Kaya A, Altug N, Ozkan C, Agaoglu Z. Prevalence of feline retrovirus infections in Van cats. *Bull Vet Inst Pulawy* 2005; 49(4): 375-7.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Araştırma Makalesi / Research Article
20(3), 192-197, 2023
DOI: 10.32707/ercivet.1387999

Veteriner Hekimlik Eğitiminde Klinik Beceri Laboratuvarının Mesleki Eğitime Katkısının Araştırılması*

Elif ÇELİK GÜRBULAK^{1,a}, Aytaç AKÇAY^{2,b}, Murat KANBUR^{3,c}, Gencay EKİNCİ^{4,d},
Hazal Aysin YÜCEEL^{5,e}, Güven GÜNGÖR^{1,f}, Kutlay GÜRBULAK^{6,g}

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyometri Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE

³Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

⁴Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı., Kayseri-TÜRKİYE

⁵Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

⁶Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0002-5073-1907; ^b0000-0001-6263-5181; ^c0000-0002-5594-3984; ^d0000-0002-4551-8749;
^e0009-0008-0880-8334; ^f0000-0003-3695-9443; ^g0000-0002-1176-9881

Sorumlu yazar: Elif ÇELİK GÜRBULAK; E-posta: elifcelik149@gmail.com

Atıf yapmak için: Çelik Gürbulak E, Akçay A, Kanbur M, Ekinci G, Yüceel HA, Güngör G, Gürbulak K. Veteriner hekimlik eğitiminde klinik beceri laboratuvarının mesleki eğitime katkısının araştırılması. Erciyes UnivVet Fak Derg 2023; 20(3):192-197

Öz: İlk olarak on sekizinci yüzyılın başlarında kullanılmaya başlayan klinik beceri eğitimi, günümüzde modern tıp eğitiminde önemli bir yer edinmiştir. Klinik beceri laboratuvarları (KBL), öğrencilerin hastalarla karşılaşmadan önce klinik yeterlilik seviyesine ulaşmalarına yardımcı olmaktadır. Geleneksel tıp eğitiminin öğrencilerintemel klinik becerileri kazanmaları konusunda yetersiz kaldığı bilinmektedir. Benzer sorun Veteriner Hekimliği eğitiminde de öğrencilerin karşısına çıkmaktadır. Bu nedenle, klinik beceri eğitimi Veteriner Hekimliği eğitiminde öğrencilerin etkin bir şekilde faydalanacağı şekilde oluşturulmalıdır. Bu çalışmada Erciyes Üniversitesi Veteriner Hekimliği Fakültesi örneği kullanılarak Veteriner Hekimliği öğrencilerinin KBL ile ilgili görüşleri ve memnuniyet düzeyleri belirlenmiştir. KBL kullanımının Veteriner Hekimlik eğitimine yararlı olduğunu düşünen öğrencilerin oranı %44.1 olarak belirlenmiştir. Öğrencilerin %83.8'i KBL'yi Veteriner Hekimlik eğitimin önemli halkalarından biri olarak nitelendirmiş, %84.5'i ise veteriner fakültelerinde KBL'nin yaygınlaştırılması gerektiğini belirtmiştir.

Anahtar kelimeler: Eğitim, klinik beceri laboratuvarı, veteriner

Investigation of the Contribution of Clinical Skills Laboratory to Vocational Education in Veterinary Medicine Education

Abstract: Clinical skills training, which was first used in the early eighteenth century, has gained an important place in modern medical education today. Clinical skills labs (CSL) help students achieve clinical proficiency before encountering patients. It is known that traditional medicine education is insufficient for students to acquire basic clinical skills. A similar problem is faced by students in Veterinary Medicine education. Therefore, clinical skill training should be created in such a way that students can benefit effectively in Veterinary Medicine education. In this study, using the example of Erciyes University Faculty of Veterinary Medicine, the opinions and satisfaction levels of Veterinary Medicine students about CSL were determined. The rate of students who think that the use of CSL is beneficial for veterinary education was determined as 44.1%. 83.8% of the students described CSL as one of the important links of Veterinary Medicine education, and 84.5% of them stated that CSL should be widespread in Veterinary Faculties.

Keywords: Clinical skills laboratory, education, veterinary

Giriş

Klinik Beceri, bir hekimin mesleki yaşamında uygulayacağı işlem ve girişimlerin tümüne verilen isimdir (Çifçili ve ark., 2006). Klinik beceri laboratuvarları (KBL), hekim adaylarının hastalarla ilk temaslarından önce eğitilmesine yardımcı olmak için tasarlanmış, sayısız yararlar sağlayan öğrenci merkezli mekânlar olup mezuniyet sonrası eğitimde de kullanılan ve gün

geçtikçe yaygınlaşan laboratuvarlardır.

Klinik beceri eğitimi modern tıp eğitiminin önemli bir bileşeni olarak pek çok ülkede kabul görmektedir (Çifçili ve ark., 2006). On sekizinci yüzyılın başlarında klinik simülasyonun kullanım yeri ilk olarak İtalya idi. Yaygın kullanımı ise 19. yüzyılda Fransa, İngiltere sonrasında ise Almanya'ya taşınmıştır (Owen ve Harry, 2012). Günümüzde ise hekimlik eğitiminde çeşitli simülasyon ve modeller dünya genelinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır.

Geliş Tarihi/Submission Date : 01.05.2023

Kabul Tarihi/Accepted Date : 08.09.2023

*Bu çalışma, TSG-2020-10755 kodlu güdümlü proje ile Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Geleneksel tıp eğitimi alan öğrencilerin, temel klinik becerileri kazanma konusunda yetersiz kaldığı ve her öğrencinin benzer düzeyde eğitimden faydalanamadığı birçok çalışmada belirtilmiştir. Bu nedenle tıp eğitiminde tıbbi beceri eğitimi erken dönemlerden başlayarak iyi kurgulanmış ve her tıp öğrencisinin bu temel mesleki becerileri güvenilir bir ortamda edinme olanağı bulacağı şekilde oluşturulmalıdır (Çifçili ve ark., 2006). Klinik beceri eğitiminin laboratuvar koşullarında uygulanması, becerilerin, insancıl yaklaşım kavramı benimsenerek, mankenler, modeller, maketler, posterler, simülatörler, gerçek sarf malzemeleri, video ve bilgisayar programları, simüle hastalar yardımıyla kazanılmasına, her becerinin gerektiği kadar tekrar edilebilmesine, hataların düzeltilmesine, her beceri için öğrenciye geri bildirim verilebilmesine ve hastalıklar üzerinde pratik edilmesine olanak sağlar (Akaike ve ark., 2012).

Veteriner Hekimliği eğitimi almış veya almakta olan stajyer-intörn öğrenciler kliniklerde ve fakültelerin hayvan hastanelerinde belli uygulamaları tekrar ederek pekiştirmek için yeterli serbest çalışma zamanını bulamamaktadırlar. Gerek hastane yoğunluğu gerekse daralan bütçeler yanında kadavra malzemeleri tedarik etme zorluğu, canlı hayvanların kullanımına ilişkin refah ve etik kaygılar gibi birçok faktör eğitim sırasında beceri edinme fırsatlarını sınırlandırabilmektedir (Dilly ve ark., 2017).

Bu nedenle, tüm sağlık alanlarında olduğu gibi Veteriner Hekimliği eğitiminde de pratik becerilerin öğrencilere öncelikle cansız hayvan maketleri, modeller ve simülatörler gibi araçlar üzerinde simülasyon yoluyla kazandırılması, bu kazanımların sonrasında canlı hayvanlar üzerinde uygulama yapılması anlayışı yaygınlaşmıştır. Bu kabul gören eğitim modeliyle öğrencilerin cansız maketlerde sınırsız bir şekilde çeşitli girişimsel uygulamaları (kan alma, ilaç verme, hayvanı tutma ve sabitleme vb) yaparak korkunun azaltılması, uygulama tekniklerinde tecrübe kazanılması, böylece canlı hayvan uygulamalarında hayvanlara daha az girişimsel müdahalelerin yapılması hedeflenmektedir. Kullanılan modüllerle veteriner kliniklerinde yapılan bazı muayene, teşhis, tedavi vb. faaliyetler ile diğer klinik hizmetlerine yönelik laboratuvar analizlerinin simülasyonları yapılabilmektedir (Crowther ve ark., 2013; Dilly ve ark., 2014; Baillie ve ark., 2015).

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi bünyesinde kurulan KBL'de sığır ve atların zapturapt uygulamaları, sığır ve atların klinik muayene yöntemleri ve sığır ve atların operasyon bölgelerinin öğrencilere uygulamalı olarak gösteriminde kullanılan tam boyutlu klinik sığır ve at uygulama simülatörü, ineklerde güç doğum uygulamaları yavru ve pozisyonlarını göstermek amacıyla kullanılan inek güç doğum simülatörü ve ineklere meme muayenesi ve meme için uygulamalar için inek meme simülatörü ve cerrahi dikiş uygulamalarını göstermek için kullanılan dikiş peti bulunmaktadır.

Ayrıca simülatör çalışmalarını online sunmak amacıyla network klavye ve kontrol klavye ve dome klavye, network kamera, network video, kaydedici, güvenlik hard diski - data kurtarmalı, kamera uyumlu iç ortam ses ünitesi, 50 inç smart 4k ultra hd tv 50u9500, montaj sarf malzeme ve kablo edinilmiştir. Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Beceri Laboratuvarlarında eğitim alan öğrencilerin KBL'nin mesleki eğitime katkıları ve öğrencilerin memnuniyet durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma kesitsel tipte bir araştırma olup çalışmanın gereğini, Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde eğitim alan ve klinik bilimler bölümü derslerini almakta olan 137 öğrenci oluşturmuştur. Bu öğrencilerin 15'i (%11.2) 4. sınıf, 92'si (%68.7) 5. sınıf (intörn) ve 27'si (%20.1) yüksek lisans ve doktora öğrencileridir. 4. sınıf ve intörn öğrenciler rotasyon halinde KBL laboratuvarlarını ziyaret etmişlerdir. Öğrencilerin KBL üzerine düşüncelerini ve memnuniyetlerini belirlemek amacıyla 2021-2022 eğitim-öğretim döneminde öğrencilere anket uygulaması yapılmıştır. Öğrencilerin anket maddeleriyle ilgili KBL memnuniyet oranlarının belirlenmesinde 20 adet 5'li likert ölçeği şeklindeki şekilde hazırlanan sorular ve 2 adet KBL öncesi ve sonrası uygulama becerileri puanlama sorusu kullanılmıştır. KBL öncesi ve KBL sonrası beceri düzeyleri öğrencilerin kendilerini 1-10 arasında bir puanlamayla değerlendirmesiyle elde edilmiştir. Anket maddelerine göre 1., 3., 4., 6-14. ve 16-19. sorulara verilen yanıtların oranlarının ortalamalarından genel memnuniyet düzeyi hesaplanmıştır. "Çok" ve "Pek Çok" cevapları memnun olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 1). KBL öncesi ve KBL sonrası beceri düzeyleri ise öğrencilerin kendilerini 1-10 arasında bir puanlamayla değerlendirmesiyle elde edilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu q-q grafiği, histogram ve Kolmogorov Smirnov testi ile değerlendirildi. Sınıf düzeyleri arasında KBL öncesi ve sonrası uygulama becerileri puanı bakımından olan farklılığın istatistiksel önem kontrolü Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) ile değerlendirildi. KBL öncesi ve sonrası uygulama becerileri puanı farkının istatistiksel önem kontrolleri ise Eşleştirilmiş t-test ile yapıldı. Varyansların homojenliğinin belirlenmesinde Levene testi kullanıldı. Veriler Ortalama \pm Standart Sapma, N (%) ve Ortanca (1.Çeyreklik-3.Çeyreklik) ile gösterildi. İstatistiksel analizlerde R 4.2.1(<https://cran.r-project.org>) yazılımı kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık seviyesi $P < 0.05$ olarak belirlendi.

Bulgular

Çalışmada yapılan ankete katılan öğrencilerin % 35.3'ü kadın; %64.7'si ise erkek olarak belirlenmiştir. Ankete katılan öğrencilerin yaş ortalaması 23.95 \pm 0.19 olarak belirlenmiştir.

Tablo 1. Veteriner Hekimlik Fakültesi Öğrencilerinin Klinik Beceri Laboratuvarına yönelik cevapları

	Hiç N(%)	Az N(%)	Orta N(%)	Çok N(%)	Pek Çok N(%)	Toplam N(%)	Ortanca (1. Çeyreklik-3. Çeyreklik)
1- Fakültemizde mevcut KBL kullanımını Veteriner Hekimlik eğitimine yararlı oldu.	7(5.1)	22(16.2)	47(34.6)	34(25)	26(19.1)	136(100)	3(3-4)
2- KBL eğitimin önemli halkalarından birisidir	1(0.7)	6(4.4)	15(11)	51(37.5)	63(46.3)	136(100)	4(4-5)
3- Fakültedeki KBL araç gereçleri eğitimi için yeterlidir.	4(3)	24(18.2)	44(33.3)	39(29.5)	21(15.9)	132(100)	3(3-4)
4- KBL araç gereçleriyle yapılan pratikler gerçek vakalar ile benzerlik göstermiştir.	6(4.4)	25(18.4)	43(31.6)	37(27.2)	25(18.4)	136(100)	3(3-4)
5- KBL veteriner fakültelerinde yaygınlaştırılmalıdır.	2(1.5)	6(4.4)	13(9.6)	23(16.9)	92(67.6)	136(100)	5(4-5)
6- İnek güç doğum simülatörü, ineklerde güç doğum uygulamaları yavru ve pozisyonlarını göstermede faydalı oldu.	29(21.3)	21(15.4)	18(13.2)	35(25.7)	33(24.3)	136(100)	3.5(2-4)
7- İnek meme simülatörü, ineklerde meme muayenesi ve intra-mammal uygulamaları göstermede faydalı oldu.	25(18.4)	18(13.2)	21(15.4)	38(27.9)	34(25)	136(100)	4(2-4.75)
8- Rektal muayene simülasyonu beceri geliştirmek için yeteriydi.	22(16.3)	21(15.6)	28(20.7)	33(24.4)	31(23)	135(100)	3(2-4)
9- Kamera sistemi ile simülatör çalışması faydalı oldu.	41(30.8)	10(7.5)	26(19.5)	19(14.3)	37(27.8)	133(100)	3(1-5)
10- Suni tohumlama simülatörü suni tohumlama uygulamalarını kavramamda yeterli oldu	37(27.2)	17(12.5)	23(16.9)	30(22.1)	29(21.3)	136(100)	3(1-4)
11-Fftk, diaframtik operasyonlarında simülasyonlar yeterli değildi.	28(25.2)	21(18.9)	35(31.5)	20(18)	7(6.3)	111(100)	3(1-3)
12- Gastrotomi, enterotomi, enterektomi, sistotomi, ureteroneostomi, üreterostomi gibi operasyonlarda simülasyonlar yeterli değildi.	19(17.1)	26(23.4)	30(27)	21(18.9)	15(13.5)	111(100)	3(2-4)
13- Göğüs tüpü uygulamalarında simülasyonlar yeterli değildi.	21(18.9)	24(21.6)	32(28.8)	20(18)	14(12.6)	111(100)	3(2-4)
14- Dikiş pedi cerrahi dikiş uygulamalarını göstermede yeterli değildi.	19(17.3)	24(21.8)	36(32.7)	20(18.2)	11(10)	110(100)	3(2-4)
15- KBL eğitimi sonrasında cerrahi uygulamaları gerçek vakalarda yapabileceğimi düşünmüyorum.	23(20.7)	17(15.3)	38(34.2)	20(18)	13(11.7)	111(100)	3(2-4)
16- Gastroskopi, kolonoskopi, rektoskopi, bronkoskopi, video otoskopi, laren-goskopi, ultrasonografi, ekokardiyografi, elektrokardiyografi, holtermonitörizasyon gibi uygulamalar için KBL yeterli değildi.	21(17.2)	16(13.1)	47(38.5)	20(16.4)	18(14.8)	122(100)	3(2-4)
17- Veri ve görüntü yorumlama (biyokimya, hematoloji, idrar tahlili, EKG, radyografi, ultrason) yeterli değildi.	22(18)	20(16.4)	41(33.6)	28(23)	11(9)	122(100)	3(2-4)
18- Pratik beceri (tıyatro ve cerrahi beceriler, idrar incelemesi, mikroskopi, ince iğne aspirasyonu, laboratuvar teknikleri) kazanmak için KBL yeterli değildi.	21(17.1)	24(19.5)	47(38.2)	20(16.3)	11(8.9)	123(100)	3(2-4)
19- Klinik muayene, teknik, yorumlama (fotoğraflardan veya videodan) için KBL yeterli değildi.	23(18.9)	25(20.5)	45(36.9)	22(18)	7(5.7)	122(100)	3(2-4)
20- KBL eğitimi sonrasında edindiğim becerileri gerçek vakalarda uygulayabileceğimi düşünmüyorum.	21(17.2)	29(23.8)	45(36.9)	17(13.9)	10(8.2)	122(100)	3(2-4)

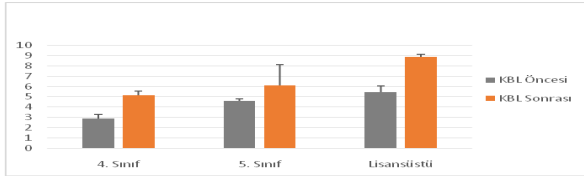
Klinik Beceri Laboratuvarı öncesi ve sonrası uygulama becerileri düzeyi arasındaki farklılık tüm sınıf düzeyleri için anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$) (Tablo 2).

eğitimi öncesi ve sonrasında sınıf düzeyine göre anlamlı farklılık gösterdiği ve yüksek lisans ve doktora öğrencilerinin KBL sonrasında edindiği beceri kazanı-

Tablo 2. Klinik Beceri Laboratuvarı (KBL) dersi öncesi ve sonrası uygulama becerileri düzeyi değişimi

Gruplar	Uygulama Becerileri Düzeyi		P Değeri
	KBL Öncesi	KBL Sonrası	
4. Sınıf	2.86±0.43 ^a	5.14±0.39 ^a	<0.001
5. Sınıf	4.58±0.23 ^b	6.12±2.00 ^a	<0.001
Yüksek Lisans ve Doktora	5.44±0.60 ^b	8.88±0.24 ^b	<0.001
P Değeri	0.004	<0.001	

Tablo 2'ye ilişkin grafikler Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1. Klinik Beceri Laboratuvarı dersi öncesi ve sonrası uygulama beceri düzeyinin sınıflara göre değişimi.

Öğrencilerin %67.6'sı KBL'lerin veteriner fakültelerinde yaygınlaştırılmaları gerektiğini düşünürken %1.5'i yaygınlaştırılmaları gerektiğini düşünmemektedir. Memnuniyet düzeyleri arasında oran bakımından en büyük fark "klinik muayene, teknik, yorumlama (fotoğraflardan veya videodan) için KBL yeterli değil" maddesinde bulunurken, en düşük fark "Rektal muayene simülasyonu beceri geliştirmek için yeterliydi." maddesinde bulundu.

Tartışma ve Sonuç

Son yıllarda Veteriner Hekimliği fakültelerinde teknik becerilerin hem öğretilmesi hem de değerlendirilmesi için artan sayıda klinik beceri laboratuvarları kurulmuştur. Simülasyon ve sonuç odaklı eğitim de aynı dönemde gelişmiş ve bu eğitimin mezunlarda yeterlilik ve güven sağlamaya yardımcı olduğu raporlanmıştır (Dilly ve ark., 2017).

Türkiye'de ilk defa, Veteriner Hekimliği alanında bir KBL kurma çalışmaları 2015 yılı itibarıyla Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde başlatılmıştır (ankara.edu.tr). Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde ise 20.07.2020 tarihinde kurulmuştur. Öğrenciler eğitime başladıklarında, klinik uygulama ve hayvan muayene ve tedavi yöntemleri üzerine birkaç ders almaktadırlar. Uygulamalı öğretimin esas alındığı klinik dersler Veteriner Hekimlik alanının son yıllarında Klinik Bilimleri Bölümü tarafından verilmektedir (Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi).

Klinik beceri uygulama düzeyi, vakada teşhis kabiliyetini artırma ve tedavide başarı oranı olarak değerlendirilmiş olup, klinik beceri uygulama düzeyinin KBL

mının lisans programında olan kazanım düzeyinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun, sahadaki yüksek lisans ve doktora öğrencilerinin veya Veteriner Hekimlerin mesleki becerilerini hızlı bir şekilde sahaya uygulamaları gerekliliğinin bilincinde olmalarından dolayı eğitim döneminde aldıkları klinik ve bununla ilişkili olan KBL laboratuvarlarındaki pratiklerin önemini bilmelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Mevcut çalışmada KBL eğitimi öncesi ve sonrası uygulama beceri düzeyi ortalamaları bakımından anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu konuda yapılmış olan başka bir çalışmada ise çalışmaya alınan sağlık hizmetleri öğrencilerinin simülatörler üzerinde gözlemleme ve deneyimleme imkânı buldukları bazı tıbbi işlemlerde işlem basamaklarını doğru yapma oranlarının eğitim sonrasında arttığı görülmüştür (Gürol ve ark., 2016). Hemşirelik öğrencileri ile yapılmış bir diğer çalışmada ise KBL eğitiminin kaygı seviyesinde anlamlı bir düşüş sağladığı belirtilmiştir (Sut ve Küçükkkaya, 2020). Megayanti ve Suantika (2022), yaptıkları çalışmada, KBL'den memnun olan öğrencilerin oranının memnun olmayan öğrencilere göre daha yüksek olduğu belirtmiştir (Megayanti ve Suantika, 2022). Lewis ve ark. (2020), hemşirelik öğrencilerinin KBL'nin stressiz bir ortamda tekrar yapma ve en iyisini seçme fırsatı vermesinden dolayı büyük fayda sağladıklarını belirtmiştir. Ayrıca bu çalışmada, videoların kaydedilerek yeniden izlenmesinin öğrencilere kendi kendilerini değerlendirme fırsatı verdiği, öğrenciyi nesnel bir görüşe kavuşturduğunu ve bunun mesleki gelişimlerine katkı sağladığı belirtilmiştir (Lewis ve ark., 2020). Grevemeyer ve Knight (2018), 177 öğrenciden 168'inin (%95) KBL seanslarının psikomotor becerilerini geliştirdiğini belirtmiştir. Öğrencilerin %15.2'si, modellerin yeterince gerçekçi olmadığını düşündüklerini; %9.6'sı daha fazla KBL laboratuvar oturumu süresi tahsis edilmesini tavsiye etmiş; %2.8'i ek model istediğini belirtmiştir (Grevemeyer ve Knight, 2018).

Çalışmamızda KBL kullanımının Veteriner Hekimlik eğitimine yararlı olduğunu düşünen öğrencilerin oranı %44.1 iken; yararlı olmadığını düşünenlerin oranı %5.1 olarak belirlenmiştir. Ortanca değerlerine bakıldığında genel olarak öğrencilerin orta düzeyde bir ya-

rarlılık sağladıkları görüşünde oldukları görülmektedir. Öğrencilerin %83.8'i KBL'nin eğitimin önemli hallerinden biri olduğunu, %84.5'i ise veteriner fakültelerinde yaygınlaştırılması gerektiğini düşünmektedir. Tıp fakültesinde yapılan bir çalışmada ise klinik beceri laboratuvarlarının fakültelerinde kurulmasını öğrencilerin eğitimi için faydalı bulan öğrencilerin oranı %96.8 olarak bulunmuştur (Akturan ve Sunar, 2018). Bu sonuç veteriner fakültesi öğrencilerinin KBL'lerin işlevselliği ile ilgili farkındalığının tıp fakültesi öğrencilerinden düşük olduğu anlamına gelebilir. Bunun sebebi olarak ise, KBL'nin Veteriner Fakültesinde yakın zamanda kullanım alanı bulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu amaçla, işlevselliğin artırılmasıyla ilgili düzenlemeler yapılmış olup şu anda 2. sınıf öğrencilerine KBL dersi pratik olarak zorunlu tutulmaktadır. Böylece klinik sınıfları (3., 4. ve intörn öğrenci grupları) derslerinde bununla ilgili memnuniyet derecelerinin artacağı ve tıp fakültesi öğrencilerinin düzeyine geleceği düşünülmektedir.

Yapılan bu çalışma sonunda, öğrencilerin %41.59'u KBL'de bulunan araç ve gereçlerin ilgili konuda yararlı olduğunu düşündükleri görülmüştür. Hemşirelik eğitiminde KBL ile ilgili yapılmış olan bir çalışmada ise öğrencilerin %76.2'si mevcut laboratuvardaki araç ve gereçlerin yeterli olduğunu belirtmiştir (Sarmasoğlu ve ark., 2016). Bunun sebebi olarak KBL eğitiminin Veteriner Hekimlik eğitimi alanına daha geç entegre olması gösterilebilir. Pratik ders olarak zorunlu olması ve daha sonraki yıllarda (3.,4. sınıf ve intörn gruplarında) içselleştirilmesi zaman alacağından mesleki deneyime katkısının zamanla artacağı düşünülmektedir. Ayrıca, memnuniyet oranlarının karşılaştırılacağı Veteriner Fakülteleriyle ilgili çalışma bulunmadığından hemşirelik eğitimi alındığında daha yüksek bir memnuniyet oranı bulunması gelişmiş simülasyon cihazlarının kullanılmasına bağlanmıştır.

Çalışmamızda, öğrencilerin %36'sı KBL eğitimi sonrasında cerrahi uygulamaları gerçek vakalarda yapabileceğini düşünürken; %41'i KBL eğitimi sonrasında edindikleri becerileri gerçek vakalarda uygulayabileceğini düşünmektedir. Sağlık ile ilgili yapılan başka bir çalışmada ise öğrencilerin pratik yaptıkları uygulamaları mezun olduktan sonra da kullanabileceklerini belirtenlerin oranı %73.1 olarak bulunmuştur. Kısaca beceri laboratuvarı kullandıkça hekimlerin kendine olan güveni artmaktadır (Hussein ve Taşlıdere, 2021). Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılan bir çalışmada ise KBL'de edindiği beceriyi meslek yaşantısında da kullanabileceğine inanan öğrencilerin oranı %95.2 olarak belirtilmiştir (Karaoğlu ve Şeker, 2011). Bu sonuç, Veteriner Fakültelerinde KBL'ye ilişkin olumlu algının Tıp Fakülteleri'ndeki kadar yüksek olmadığı ve KBL farkındalığının düşük olduğu yorumunu akla getirebilir.

Öğrencilerin KBL sonrasındaki yeterliliklerinde önceki

yeterliliklerine göre artış olduğu görülmüştür. Program bazında değerlendirme göz önüne alındığında lisansüstü eğitim alan öğrencilerin lisans öğrencilerine göre KBL'yi daha etkin kullandıkları görülmektedir. Bunun sebebi olarak, yüksek lisans ve doktora öğrencilerinin KBL'yi kullanım gerekliliğinin farkında olmalarından kaynaklandığı düşünülebilir. Sonuç olarak KBL'lerin öğrencilerin Veteriner Hekimlik eğitimi için önemli olduğu ve yaygınlaştırılmalarının öğrencilerin mesleki yeterliliklerini artırmada faydalı olabileceği düşünülmektedir. Böylece, Veteriner Hekimliği gibi doğru teknik ve uygulama becerileri gerektiren bir meslek grubunda dünyadaki gelişmelere paralel olarak kullanılan KBL'lerin daha donanımlı Veteriner Hekimlerin yetiştirilmesine olanak sağlayacağı öngörülmektedir.

Teşekkür

TSG-2020-10755 kodlu güdümlü proje ile bu çalışmanın yapılmasındaki katkılarından dolayı Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Akaike M, Fukutomi M, Nagamune M, Fujimoto A, Tsuji A, Ishida K, Iwata T. Simulation-based medical education in clinical skills laboratory. *J Med Invest* 2012; 59(1-2): 28-35.
- Akturan S, Sunar M. Erzincan Üniversitesi Tıp Fakültesi klinik eğitim dönemi öğrencilerinin staj kurulları ile ilgili görüşleri, öğrenci merkezli tıp eğitimi metotlarına ilişkin bilgi düzeyi ve yaklaşımları. *Konuralp Med J* 2018; 10(1): 112-9.
- Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi. <http://www.veterinary.ankara.edu.tr/klinik-beceri-laboratuvari/>. Erişim tarihi: 08.04.2023
- Baillie S, Crowther E, Dilly M. The veterinary clinical skills laboratory initiative. *Rev Docencia Univ* 2015; 13: 73-81.
- Crowther E, Booth N, Coombes N, Baillie S. Veterinary clinical skills labs: Online collaboration and moving forward. *Health Soc Care Educ* 2013; 2(1): 39-43.
- Çifçili S, Uzuner A, Ünal P, Akman M. Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi klinik beceri laboratuvarı uygulamaları. *TED* 2006; 21(21): 1-10.
- Dilly M, Tipold A, Schaper E, Ehlers, JP. Setting up a veterinary medicine skills lab in Germany. *GMS Z Med Ausbild* 2014; 31(2).
- Dilly M, Read EK, Baillie S. A survey of established veterinary clinical skills laboratories from Europe and North America: Present practices and recent developments. *JVME* 2017; 44(4): 8.

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi. <https://veteriner.erciyes.edu.tr/>. Erişim tarihi: 08.04.2023.

Grevenmeyer B, Knight A. The development of a clinical skills laboratory at Ross University School of Veterinary Medicine. *ATLA* 2018; 46(3): 177-83.

Gürol A, BalciAkpinar R, Ejder Apay S. Simulasyon uygulamalarının öğrencilerin beceri düzeylerine etkisi. *Kocatepe Tıp Derg* 2016; 17(3): 99-104.

Hussein Y, Taşlıdere B. Tıp fakültesi 5. ve 6. sınıf öğrencilerinin klinik beceri eğitiminin araştırılması. *Kocatepe Med J* 2021; 22(5): 381-6.

Karaoğlu N, Şeker M. Selçuk Üniversitesi'nde temel mesleki beceri eğitiminin öğrenci geri bildirimleri ile üç yıllık değerlendirmesi. *TED* 2011; 29: 48-55.

Owen H. Early use of simulation in medical education. *Simul Healthc* 2012; 7(2): 102-16.

Lewis P, Hunt L, Ramjan LM, Daly M, O'Reilly R, Salamonson Y. Factors contributing to undergraduate nursing students' satisfaction with a video assessment of clinical skills. *Nurse Educ Today* 2020; (84): 104244.

Megayanti SD, Suantika IR. The dimensions and student satisfaction in clinical skill laboratory (CSL) medical surgical nursing with online method. *Jurnal Kesehatan dr. Soebandi* 2022; 10(2): 106-13.

Sarmasoğlu Ş, Dinç L, Elçin M. Hemşirelik öğrencilerinin klinik beceri eğitimlerinde kullanılan standart hasta ve maketlere ilişkin görüşleri. *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi* 2016; 13(2): 107-15.

Sut H, Küçükkaya B. Kadın sağlığı ve hastalıkları hemşireliği dersi klinik uygulaması öncesi laboratuvarında verilen mesleki beceri uygulamaları eğitiminin öğrencilerin kaygı düzeyi üzerine etkisi. *EKUAD* 2020; 6(2): 166-73.



Kasap Dükkanları ve Şarküterilerde Gıda ile Temas Eden Yüzeylerden Elde Edilen *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Biyofilm Üretimini Fenotipik ve Genotipik Karakterizasyonu*

Nihat AKYOL^{1,a}, Dursun Alp GÜNDOĞ^{1,b}, Yasin ÖZKAYA^{1,c}, Candan GÜNGÖR^{2,d},
Nurhan ERTAŞ ONMAZ^{2,e}

¹Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Veteriner Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID: ^a0009-0005-4949-371X; ^b0000-0002-1581-1813; ^c0000-0002-4746-5492; ^d0000-0002-4321-2770;
^e0000-0002-4679-6548

Sorumlu yazar: Nurhan ERTAŞ ONMAZ; E-posta: nertas@erciyes.edu.tr

Atif yapmak için: Akyol N, Gündoğ DA, Özkaya Y, Güngör C, Ertaş Onmaz N. Kasap dükkanları ve şarküterilerde gıda ile temas eden yüzeylerden elde edilen *Staphylococcus aureus* izolatlarında biyofilm üretiminin fenotipik ve genotipik karakterizasyonu. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2023; 20(3):198-205

Öz: Bu çalışmada, Kayseri ilindeki kasap ve şarküteri ortamında *Staphylococcus aureus*'un (*S. aureus*) varlığı, elde edilen izolatların biyofilm üretim yeteneklerinin fenotipik ve genotipik yöntemlerle araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, Ağustos-Aralık 2022 tarihleri arasında rastgele seçilen 10 farklı işletmeden toplam 200 örnek elde edilmiştir. *S. aureus* varlığı EN/ISO 6888-1 (01/2004)'da belirtilen metoda ek olarak PCR'da *nuc* geninin belirlenmesiyle tespit edilmiş, biyofilm yeteneği ise Kongo kırmızısı agar (KKA) ve mikroplaka (MP) yöntemi ile araştırılmıştır. Ayrıca biyofilm yeteneğine sahip izolatlarda biyofilm ile ilişkili genlerin varlığı yine PCR yöntemi ile araştırılmıştır. Analiz edilen 200 örneğin 42'si (%21) *S. aureus* olarak tanımlanmıştır. *S. aureus* izolatlarının, beşi bıçak, yedisi kesme tahtası, sekizi kıyma, altısı kuşbaşı, ikisi sucuk, dördü köfte, altısı peynir ve dördü pastırma örneklerine aitti. Çalışmada elde edilen, izolatların tamamının hem KKA'da hem de MP testinde biyofilm pozitif olduğu belirlenirken, MP testine göre izolatların 18 (%43)'ünün güçlü, 13 (%31)'ünün orta derecede ve 11 (%26)'inin zayıf biyofilm ürettiği tespit edilmiştir. Biyofilm pozitif olarak belirlenen izolatların 18'i (%43) ve 16'sı (%38) analiz edilen genlerden sırasıyla *icaA* ve *icaD* geni taşırken hiçbir izolatın *fnbA* ve *fnbB* genlerini barındırmadığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, Kayseri ilindeki kasap ve şarküteri ortamından izole edilen *S. aureus*'ların biyofilm üretme yeteneği halk sağlığı açısından tehlike arz etmektedir. Bu nedenle, işletmelerde hijyen koşullarının iyileştirilmesi gıda güvenliği ve tüketiciler için önemlidir.

Anahtar kelimeler: Biyofilm, biyofilm ile ilgili genler, halk sağlığı, hayvansal gıdalar, *S. aureus*

Phenotypic and Genotypic Characterization of Biofilm Production in *Staphylococcus aureus* Isolates Obtained from Food Contact Surfaces in Butcher and Delicatessen

Abstract: In the present study, it was aimed to investigate the presence of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) in butcher and delicatessen environments in Kayseri province and analyze their biofilm abilities with phenotypic and genotypic methods. For this study, a total of 200 samples were collected from 10 different businesses, which were randomly selected between August and December 2022. The presence of *S. aureus* was investigated with EN/ISO 6888-1 (01/2004) standard, and the determination of the *nuc* gene in PCR, and its biofilm ability was investigated with Congo red agar (CRA) and microplate method (MP). In addition, the presence of biofilm-related genes in isolates with biofilm ability was also investigated with PCR method. Out of 200 samples, 42 (21%) were identified as *S. aureus*. Of these 42 isolates, 5 belonged to knives, 7 to cutting board, 8 to minced meat, 6 to cubed meat, 2 to sausage, 4 to meatballs, 6 to cheese, and 4 to pastrami. According to CRA and MP tests, all *S. aureus* isolates were detected as biofilm producers, and 18 (43%) of the isolates were strong, 13 (31%) were moderate, and 11 (26%) were weak in the MP test. Out of biofilm producer isolates, *icaA* and *icaD* genes were detected in 18 (43%) and 16 (38%), respectively, while none of the isolates contained *fnbA* and *fnbB* genes. As conclusion, the biofilm production ability of *S. aureus* isolates from the butcher and delicatessen environment in Kayseri are considered as public health risk. Therefore, improving hygienic conditions in food enterprises is essential for food safety and consumer health.

Keywords: Animal origin food, biofilm, biofilm related genes, public health, *S. aureus*

Giriş

Yüksek miktarda protein, yağ, mineral ve vitamin içeren hayvansal gıdalar (et ve et ürünleri, süt ve süt

ürünleri) sağlıklı ve dengeli beslenme açısından büyük önem arz etmektedir (Özlü ve Ercoşkun, 2021). Gıda üretimi amacıyla kullanılan çiftlik hayvanları *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* gibi pek çok gıda kaynaklı patojen için temel rezervuar durumundadır. Stafilkokoklar, üretimi veya

Geliş Tarihi/Submission Date : 13.06.2023
Kabul Tarihi/Accepted Date : 11.09.2023

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen TYL-2022-12054 kodlu projeden özetlenmiştir.

depolanması uygun koşullarda yapılmayan, protein açısından zengin besinlerden kaynaklanan, gastrointestinal hastalıkların yaklaşık üçte birinden sorumludur (Paparella ve ark., 2018; Pérez-Boto ve ark., 2023). Stafilokokal gıda zehirlenmeleri, *S. aureus* başta olmak üzere enterotoksijenik özelliğe sahip Stafilokokların gıdalarda veya ortamda 10^6 kob/g veya daha yüksek sayılara ulaşması ile Stafilokokal enterotoksinleri (SE) sentezlemesi sonucu şekillenir. Hastalık, enterotoksinlerin vücuda alınımından sonraki 4-6 saat içinde mide bulantısı, ani kusma, karın ağrısı ve ishal gibi semptomlar ile başlar, bu süreci takip eden 12-24 saat içerisinde kendini sınırlar (Paparella ve ark., 2018; Zeaki ve ark., 2019). Etkenin, gıda zehirlenmesinin yanı sıra, deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, pnömoni, endokardit, yara enfeksiyonları gibi nozokomiyal enfeksiyonlara ve bakteriyemiye neden olduğu bildirilmiştir (Kadkhoda ve ark., 2020).

İnsan ve hayvan biotasında doğal olarak bulunan *S. aureus*, düşük su aktivitesi (a_w), yüksek tuz konsantrasyonları ve nispeten düşük pH gibi olumsuz koşullara karşı direnci sayesinde çeşitli gıdalarda canlılığını koruyabilmektedir. Başta metisilin olmak üzere birçok antimikrobiyal ajana karşı kazandığı direnç, salgıladığı toksinler ve biyofilm oluşturma yeteneği

film oluşumunda önemli rol aldığı bilinmektedir (Cramton ve ark., 1999; Maira-Litran ve ark., 2002; Houston ve ark., 2011; Achek ve ark., 2020). Bu nedenle, bu çalışmada, Kayseri ili Talas ilçesi sınırları içerisinde faaliyet gösteren kasap ve şarküterilerde satışa sunulan et ve süt ürünleri ile alet ekipman yüzeylerinden alınan sıvap örneklerinde *S. aureus* kontaminasyon düzeylerinin belirlenmesi ve elde edilen izolatların biyofilm üretim kabiliyetlerinin fenotipik ve genotipik yöntemler ile araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, Kayseri ilinde faaliyet gösteren ve rastgele seçilen 10 farklı kasap ve şarküteride satışa sunulan hayvansal gıdalar ve gıda ile temas eden yüzeylerden alınan örnekler materyal olarak kullanıldı. Bu amaçla, Ağustos-Aralık 2022 tarihleri arasında işletmeler ziyaret edilerek 137 adet hayvansal gıda (30 adet kuşbaşı et, 25 adet kıyma, 19 adet sucuk, 5 adet köfte, 17 adet pastırma, 18 adet tavuk eti, 23 adet peynir) ve 63 adet alet ve ekipman yüzey sıvap (22 adet bıçak, 20 adet kıyma makinası ve 21 adet kesme tahtası) olmak üzere toplam 200 adet örnek analiz edildi. Çalışmada toplanan örneklerin işletmelere göre dağılımı Tablo 1'de detaylandırılmıştır.

Tablo 1. Çalışmada toplanan örneklerin işletmelere göre dağılımı

Örnekler	Ziyaret Edilen Aylar ve Ziyaret Edilen İşletme Kodları										Toplam Örnek Sayısı	
	Aralık		Şubat		Nisan		Haziran		Ağustos			
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	I		
Hayvansal Gıdalar	Kuşbaşı	2	3	3	2	3	5	3	4	3	2	30
	Kıyma	2	3	2	2	2	4	2	3	2	3	25
	Köfte	1	-	1	1	-	-	1	-	1	-	5
	Sucuk	2	2	2	2	3	2	1	-	2	3	19
	Pastırma	2	-	1	2	3	2	2	-	2	3	17
	Tavuk Eti	2	3	2	1	1	3	1	2	2	1	18
	Tulum Peyniri	3	2	2	3	2	2	3	2	2	2	23
Ekipman	Bıçak	3	2	3	1	3	1	2	3	2	2	22
	Kıyma Makinası	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	20
	Kesim Tahtası	3	2	2	3	2	3	2	1	2	1	21
	İşletme Bazında Toplam Örnek Sayısı	22	19	20	19	21	24	19	17	20	19	200

gibi patojenik özellikleri sebebiyle, hayvansal gıdalarda ve üretim tesislerinde *S. aureus* kontaminasyonu halk sağlığını tehdit etmektedir (Gungor ve ark., 2021). Bakteriler, biyofilm oluşturma yeteneği sayesinde, dezenfektanlardan, antibiyotiklerden, konakçı bağışıklık sistemi kapsamında salınan enzimlerden ve çevresel stres faktörlerinden korunabilmektedir (Ballah ve ark., 2022). Fibronektin bağlayıcı proteinlerinin (*fnbA* ve *fnbB*) bakterinin konakçı hücreye yapışmasını sağlayarak biyofilm oluşumunu kolaylaştırdığı, hücre içi adezyon (*icaACD*) gen ürünlerinin ise biyo-

Toplanan örneklerde koagülaz pozitif stafilokokların izolasyonu ISO 6888-1 standart prosedürüne (ISO, 1999) göre gerçekleştirildi. Bu amaçla, 10 g et ve peynir örnekleri 90 mL tamponlanmış peptonlu su (TPS) içeren filtrelili numune poşetine (Isolab, Türkiye) eklenecek 2 dk homojenize edildi. Sıvap örneklerinin bulunduğu sıvı besi yeri ise 2-3 dk vortekslemeden sonra besi yerindeki sıvının 1 mL' si 9 mL TPS içeren steril tüplere ilave edilerek 10^{-4} e kadar 10 kat dilüsyonları hazırlandı. Her bir dilüsyon egg yolk tellurit emulsion (Merck, Almanya) içeren Baird Parker Agar'a (Merck, Almanya) yayma plak tekniği ile ekil-

dikten sonra 37°C'de aerobik koşullarda 24-48 saat inkübasyona tabi tutuldu. İnkübasyon süresi sonunda besi yerinde tipik olarak üreyen gri-siyah renkte, parlak, konveks, etrafında berrak zon oluşturan koloniler seçildi ve ardından fenotipik identifikasyon testleri (Gram boyama, katalaz ve koagülaz testleri) yapılarak, moleküler identifikasyon amacıyla *nuc* geninin varlığı yönünden analiz edildi.

Konvansiyonel yöntemler ile *S. aureus* olarak izole edilen suşların DNA ekstraksiyon işlemi ticari kit (Instangen, Bio-Rad, ABD) kullanılarak üretici firmasının direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi. Elde edilen DNA örnekleri *S. aureus* için spesifik olan *nuc* geninin araştırılması amacıyla PCR'a tabii tutuldu.

Bu amaçla PCR reaksiyon karışımı, 1 x PCR buffer (Thermo, ABD), 2 mM dNTP miks, 1.5 mM MgCl₂ her bir primerden (Tablo 2) 20 pmol, 2U Taq DNA polimeraz, 2 µL hedef DNA ve 2.5 µL distile su içeren karışım total hacim 25 µL olacak şekilde hazırlandı. PCR reaksiyonu termal döngüleme cihazında (Thermo, ABD) 94°C'de 5 dk ön denatürasyonu takiben, 94°C'de 1 dk denatürasyon, 56°C'de 1 dk primer bağlanması, 68°C'de 1 dk primer uzaması aşamalarını kapsayan 30 siklus ve sonunda 72°C'de 7 dk ilave son uzama olacak şekilde gerçekleştirildi. PCR işlemi sonucunda elde edilen amplikonlar, % 1.5'lik agaroz jele yüklendikten sonra 120 V'ta 60 dk elektroferez (Thermo EC330) işlemine tabii tutuldu. Daha sonra jel UV jel görüntüleme sisteminde (Biorad Gel Doc XR, ABD) görüntülendi (Gungor ve ark., 2021).

Tablo 2. Çalışmada kullanılan primerler

Hedef Gen	Primer	Primer Sekansı (5'-3')	Baz büyüklüğü	Kaynak
<i>nuc</i>	nuc-F	AGTTCAGCAAATGCATCACA	400 bp	Cremonosi ve ark. (2007)
	nuc-R	TAGCCAAGCCTTGACGAACT		
<i>icaA</i>	<i>icaA</i> -F	TCTCTTGAGGAGCAATCAA	188 bp	Arciola ve ark. (2002)
	<i>icaA</i> -R	TCAGGCACTAACATCCAGCA		
<i>icaD</i>	<i>icaD</i> -1	ATGGTCAAGCCCAGACAGAG	198 bp	
	<i>icaD</i> -2	CGTGTTCATCAACATTTAATGCAA		
<i>fnbA</i>	<i>fnbA</i> -1	ACTTGATTTTGTGTAGCCTTTTT	185 bp	Ferreira ve ark. (2013)
	<i>fnbA</i> -2	GAAGAAGCACAAAAGCAGTA		
<i>fnbB</i>	<i>fnbB</i> -1	CGTTATTTGTAGTTGTTTGTGTT	118 bp	
	<i>fnbB</i> -2	TGGAATGGGACAAGAAAAAGAA		

S. aureus izolatlarının biyofilm oluşturma yetenekleri ise, koloni morfolojisinin renk değiştirmesi esasına dayanan Kongo kırmızısı agar (KKA) yöntemi (Freeman ve ark., 1989) ve kantitatif bir yöntem olan mikroplak (MP) yöntemi (Stepanović ve ark., 2000) ile araştırıldı.

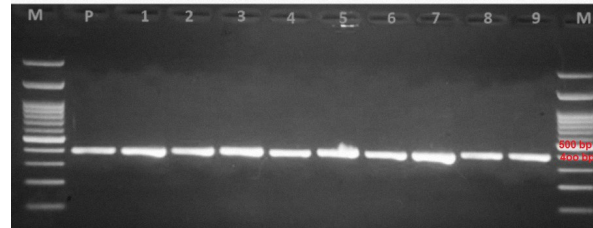
Biyofilm kabiliyetleri tespit edilen izolatların biyofilm ile ilişkili *icaA*, *icaD*, *fnbA* ve *fnbB* genlerinin varlığı daha önceki çalışmalarda tasarlanan oligonükleotid primerler kullanılarak PCR ile belirlendi (Arciola ve ark., 2002; Ferreira ve ark., 2013). Amplifikasyon işlemi 95°C'de 3 dk ön denatürasyonu takiben 95°

C'de 30 sn, 55°C'de 30 sn, 72°C'de 1 dk olmak üzere 35 siklus ve 72°C'de 7 dk son uzama şeklinde gerçekleştirildi.

Bulgular

Çalışmada analiz edilen 200 örneğin 45'i (%22.5) yapılan konvansiyonel analizler sonucunda koagülaz pozitif stafilokok (KPS) olarak belirlendi.

PCR analizi neticesinde ise konvansiyonel yöntem ile KPS olduğu belirlenen 45 örnekten 42'sinin (%93) *nuc* geni taşıdığı belirlendi (Şekil 1). Dolayısıyla çalışmadaki *S. aureus* prevalansı %21 (42/200) olarak tespit edildi.



Şekil 1. Çalışmada izole edilen *S. aureus* izolatlarında belirlenen *nuc* geninin PCR görüntüsü. M: Marker (100 bp), P: Pozitif kontrol (*S. aureus* ATCC 25923 *nuc* gen: 400 bp), 1-9: *S. aureus* pozitif örnekler.

Çalışma süresince analiz edilen kıyma, kuşbaşı et, sucuk, köfte, peynir ve pastırma, bıçak ve kesme tahtası örneklerini sırasıyla %32 (8/25), %20 (6/30),

%10.5 (2/19), %80 (4/5), %26 (6/23), %23.5 (4/17), %23 (5/22) ve %33 (7/21)'ü *S. aureus* ile kontamine bulundu (Tablo 3). Pozitif örneklerden gıdalarda toplam *S. aureus* sayısı 1×10^1 - 5×10^4 kob/g, alet ve ekipmanlarda ise 1×10^1 - 3×10^2 kob/cm² arasında değişen düzeylerde belirlendi.

Çalışmada, analiz edilen örneklerden elde edilen izolatların tamamı hem KKA besi yerinde hem de MP testinde biyofilm pozitif olarak belirlendi. MP testinde *S. aureus* izolatlarının 18 (%43)'ünün güçlü, 13 (%31)'ünün orta derecede ve 11 (%26)'inin zayıf biyofilm üreticisi olduğu tespit edildi (Tablo 4).

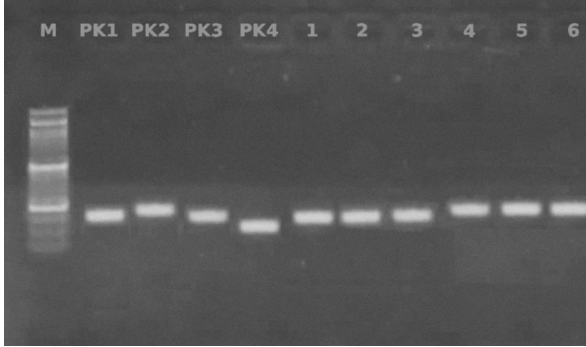
Tablo 3. Çalışmada analiz edilen örneklerde *S. aureus* dağılımı

Analiz Edilen Örnek (n)	S. aureus Pozitif Örnek sayısı / (%)										Toplam (%)	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	İ		
Kuşbaşı (n=30)	1	1	1	-	-	-	-	2	-	-	1	6 (%20)
Kıyma (n=25)	-	1	-	1	1	2	-	1	1	1	1	8 (%32)
Köfte (n=5)	-	-	1	1	-	-	1	-	-	1	-	4 (%80)
Sucuk (n=19)	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	2 (%11)
Pastırma (n=17)	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	1	4 (%24)
Tavuk Eti (n=18)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Peynir (n=23)	1	-	1	-	1	1	1	-	-	1	-	6 (%26)
Bıçak (n=22)	1	1	-	-	-	-	1	2	-	-	-	5 (%23)
Kıyma Mk. (n=20)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kesme Tahtası (n=21)	1	1	-	1	1	1	1	-	-	1	-	7 (%33)
Toplam (n=200)	5 (%2.5)	4 (%2)	3 (%1.5)	4 (%2)	4 (%2)	4 (%2)	5 (%2.5)	5 (%2.5)	4 (%2)	4 (%2)	4 (%2)	42 (%21)

Tablo 4. Çalışmada elde edilen biyofilm üretme yeteneğindeki *S. aureus* izolatlarının işletme ve örneklere göre dağılımı

<i>S. aureus</i> pozitif Örnek	<i>S. aureus</i> pozitif İşletme	<i>S. aureus</i> pozitif izolatların MP'da biyofilm oluşturma özelliği			Biyofilm ile ilişkili genler			
		Güçlü	Orta	Zayıf	<i>icaA</i>	<i>icaD</i>	<i>fnbA</i>	<i>fnbB</i>
Kuşbaşı	A	+	-	-	+	-	-	-
	B	-	+	-	-	-	-	-
	C	-	-	+	-	-	-	-
	H	+	+	-	+	+	-	-
	I	+	-	-	+	-	-	-
Kıyma	B	-	+	-	-	+	-	-
	D	+	-	-	+	-	-	-
	E	-	+	-	-	-	-	-
	F	+	-	+	+	+	-	-
	H	-	+	-	-	-	-	-
	I	+	-	-	-	-	-	-
	i	-	-	+	-	-	-	-
Köfte	C	-	+	-	+	-	-	-
	D	+	-	-	-	+	-	-
	G	-	+	-	-	+	-	-
	I	+	-	-	+	-	-	-
Sucuk	E	-	-	+	-	-	-	-
	i	+	-	-	+	-	-	-
Pastırma	A	+	-	-	+	-	-	-
	D	+	-	-	-	+	-	-
	G	-	+	-	-	+	-	-
	i	+	-	-	+	-	-	-
Peynir	A	-	-	+	-	-	-	-
	C	-	+	-	-	+	-	-
	E	+	-	-	-	+	-	-
	F	-	+	-	-	+	-	-
	I	+	-	-	+	-	-	-
Bıçak	A	+	-	-	+	-	-	-
	B	-	+	-	-	+	-	-
	G	-	-	+	-	+	-	-
	H	+	+	-	+	+	-	-
Kesme Tah-tası	A	+	-	-	+	-	-	-
	B	-	-	+	-	-	-	-
	D	-	-	+	-	+	-	-
	E	+	-	-	+	-	-	-
	F	-	-	+	-	-	-	-
	G	-	+	-	-	+	-	-
I	-	-	+	-	+	-	-	

PCR analizinde biyofilm pozitif izolatların 18 (%43)'i *icaA* ve 16 (%38)'si *icaD* geni için pozitif bulunurken izolatların hiç birisinde *fnbA* ya da *fnbB* geni tespit edilmedi (Tablo 4, Şekil 2).



Şekil 2. *S. aureus* izolatlarında tespit edilen biyofilm ilişkili genlerin PCR görüntüsü. M: Marker (100 bp), PK1: Pozitif kontrol (*icaA* geni: 188 bp), PK2: Pozitif kontrol (*icaD* geni: 198 bp), PK3: Pozitif kontrol (*fnbA* geni: 185 bp), PK4: Pozitif kontrol (*fnbB* geni: 118 bp), 1-3: *icaA* geni pozitif *S. aureus* izolatlar, 4-6: *icaD* geni pozitif *S. aureus* izolatlar.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma kapsamında analiz edilen 200 örneğin % 21'inin (42/200) *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlendi. Analiz edilen kuşbaşı et, kıyma, köfte, pastırma, sucuk ve peynir örneklerinde *S. aureus* sayısı sırasıyla, 1×10^1 - 3×10^2 , 1×10^1 - 5×10^4 , 2×10^3 - 8×10^3 , 1×10^1 - 8×10^1 , 5×10^1 - 2×10^4 ve 1×10^2 - 5×10^3 kob/g aralığında tespit edildi. Analiz edilen örneklerden peynir ve pastırmalardaki bakteri sayısının Türk Gıda Kodeksinde (TGGK 2011) belirtilen limitleri aşmadığı görüldü. Bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde Guven ve ark. (2010), Aydın ve ark. (2011), El-Azzouny ve ark. (2018) ve Koçak Kızanlık (2019), analiz ettikleri hayvansal orjinli gıda örneklerinin sırasıyla %33, %9.7, %12 ve %10'unun *S. aureus* ile kontamine olduğunu bildirmişlerdir. Çalışma sonuçlarımızın aksine, Tang ve ark. (2017) ve Seyoum ve ark. (2018), analiz ettikleri örneklerde sırasıyla %68 ve %47'sinden *S. aureus* izole etmişlerdir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların nedeni, örnekleme yapıldığı yer, örnek sayısı, coğrafi bölgeler arasındaki farklılıklar, örneklerin niteliği, örneklerin muhafaza koşulları, işlenme şekilleri ve uygulanan analiz metotları ile ilgili olabilir (Normanno ve ark., 2007; Guven ve ark., 2010; Borena ve ark., 2023). Çalışma kapsamında ziyaret edilen kasap ve şarküterilerde çalışan personelin önlük, maske, bone ve eldiven kullanımını göz ardı ettikleri gözlemlendi. Bu işletmelerde çalışan personel hijyen kurallarını yerine getirmediği taktirde tüketiciye sunulan ürünlerin çapraz kontaminasyonu riski kaçınılmaz hale gelecektir.

Çalışma kapsamında işletmelerdeki ekipmanlardan, bıçak örneklerinin %23'ünde 1×10^1 - 2×10^4 kob/cm² ve kesme tahtasının %33'ünün 7×10^1 - 4×10^2 kob/cm² düzeylerinde *S. aureus* ile kontamine olduğu belirlendi. Bu sonuçlar ziyaret edilen işletmelerde et ürünlerinin hazırlanmasında kullanılan ekipman yüzeylerinin

hijyeninin yetersiz olduğunu ve bu yüzeylerin çapraz kontaminasyon kaynağı olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, Güzel ve Onmaz (2022) toplu yemek tüketimi yapılan bir tesiste analiz ettikleri bıçak, kıyma makinası ve doğrama tezgâhı örneklerinde sırasıyla %43, %6 ve %18.5'inde çeşitli düzeylerde (ortalama 3.5×10^1 - 1.6×10^3 kob/cm²) *S. aureus* izole ederken, Tiryaki (2018) ise 190 adet ekipmandan alınan örneklerin hiçbirinde *S. aureus* belirlemediğini bildirmiştir.

Patojen mikroorganizmaların gıdalarda ve gıda ile temas eden yüzeylerde biyofilm oluşturma yeteneği, etkenin patogeneğinde oldukça önemli yere sahiptir. Biyofilm oluşturma yeteneğinde olan mikroorganizmalar, olumsuz çevresel koşullara karşı dirençli hale gelerek gıda ürünlerinin mikrobiyolojik kalitesini önemli ölçüde azaltarak gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından risk oluşturur (Turhan ve Erginkaya, 2019). Yapılan literatür taramasında, hayvansal gıdalardan izole edilen *S. aureus*'ların çeşitli düzeylerde biyofilm üreticisi olduğu bildirilmiştir (Thiran ve ark., 2018; Miao ve ark., 2019; Achek ve ark., 2020; Chen ve ark., 2020; Kowalska ve ark., 2020; Uyanık ve ark., 2022). Bu çalışmada, izolatların %43'ünün güçlü, %31'ünün orta derecede ve %26'sının zayıf biyofilm üreticisi olduğu belirlendi. Ayrıca biyofilm pozitif izolatların %43'ünün ve %38'inin biyofilm oluşumda önemli role sahip olan sırasıyla *icaA* ve *icaD* geni içerirken, hiçbirinde *fnbA* ve *fnbB* genleri belirlenemedi. Çalışmamızdan farklı olarak Vergara ve ark. (2009) ve Achek ve ark. (2020) biyofilm üreticisi olan *S. aureus*'ların *icaA*, *icaD*, *fnbA* ve *fnbB* genlerinin tamamını taşıdığını bildirmişlerdir. Vergara ve ark. (2009) *fnbB* geninin biyofilm üreten izolatlarda saptanmadığı ya da düşük düzeylerde saptandığı rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak bu çalışma Kayseri ilinde faaliyette bulunan kasap ve şarküterilerde, hayvansal gıda ürünleri ve ekipman yüzeylerinde, biyofilm üretme yeteneğine sahip *S. aureus*'un varlığını ortaya koymuştur. Elde edilen *S. aureus* izolatlarının biyofilm üretme yeteneklerinden dolayı ısı işlem, düşük pH, kurutma gibi işlemlere, dezenfektan ve antibiyotiklere daha dirençli hale gelerek gıda endüstrisinde devamlı kontaminasyon için potansiyel bir kaynak olabilirler. Bu durum çalışmada ziyaret edilen işletmelerde satışa sunulan et ve süt ürünlerinin güvenliği ve dolayısıyla tüketici sağlığı açısından önemli sağlık risklerine neden olabilir. Gıda endüstrisinde biyofilm oluşumunun önlenmesinde en önemli adım bakterilerin yüzeye tutunmalarını önlemektir. Bu nedenle bu işletmelerde hijyen ve sanitasyon koşullarının iyileştirilmesi önem arz etmektedir. Konu ile ilgili olarak bu perakende üretim ve satış yerlerinde çalışan kasap ve diğer personele HACCP, İyi Üretim Uygulamaları (GMP) gibi gıda sanitasyon uygulamaları ile ilgili eğitim programları düzenlenerek farkındalık oluşturulmalıdır.

Teşekkür: TYL-2022-12054 no'lu proje ile bu tez çalışmasının yapılmasındaki katkılarından dolayı Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyonu Birimi'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Achek R, Hotzel H, Nabi I, Kechida S, Mami D, Di-douh N, Tomaso H, Neubauer H, Ehricht R, Monnecke S, El-Adawy H. Phenotypic and molecular detection of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from different sources in Algeria. *Pathogens* 2020; 9(2):153.
- Arciola CR, Campoccia D, Gamberini S, Cervellati M, Donati E, Montanaro L. Detection of slime production by means of an optimised Congo red agar plate test based on a colourimetric scale in *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates genotyped for *ica* locus. *Biomater* 2002; 23(21): 4233-9.
- Aydin A, Sudagidan M, Muratoglu K. Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *Int J Food Microbiol* 2011; 148(2): 99-106.
- Ballah FM, Islam MS, Rana ML, Ullah MA, Ferdous FB, Nelay FH, Levy S, Sobur MA, Rahman AT, Khatun MM, Rahman M, Rahman T. Virulence determinants and methicillin resistance in biofilm-forming *Staphylococcus aureus* from various food sources in Bangladesh. *Antibiotics* 2022; 11(11): 1666.
- Borena BM, Gurmessa FT, Gebremedhin EZ, Sarba EJ, Marami LM. *Staphylococcus aureus* in cow milk and milk products in Ambo and Bako towns, Oromia, Ethiopia: Prevalence, associated risk factors, hygienic quality, and antibiogram. *Int Microbiol* 2023; 26: 513-27.
- Chen Q, Xie S, Lou X, Cheng S, Liu X, Zheng W, Zheng Z, Wang H. Biofilm formation and prevalence of adhesion genes among *Staphylococcus aureus* isolates from different food sources. *Microbiologyopen* 2020; 9(1): e00946.
- Cramton SE, Gerke C, Schnell NF, Nichols WW, Götz F. The intercellular adhesion (*ica*) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. *Infect Immun* 1999; 67(10): 5427-33.
- Cremonesi P, Perez G, Pisoni G, Moroni P, Morandi S, Luzzana M, Brasca M, Castiglioni B. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates in raw milk cheese. *Lett Appl Microbiol* 2007; 45 (6): 586-91.
- El-Azzouny MM, El-Demerdash AS, Seadawy HG, Abou-Khadra SH. Antimicrobial effect of garlic (*Allium sativum*) and thyme (*Zataria multiflora* Boiss) extracts on some food borne pathogens and their effect on virulence gene expression. *Cell Mol Biol* 2018; 64(10): 79-86.
- Ferreira FA, Souza RR, de Sousa Moraes B, de Amorim Ferreira AM, Américo MA, Fracalanza SE, Dos Santos Silva Couceiro JN, Sá Figueiredo AM. Impact of *agr* dysfunction on virulence profiles and infections associated with a novel methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) variant of the lineage ST1-SCCmec IV. *BMC Microbiol* 2013; 27: 93.
- Freeman DJ, Falkner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol* 1989; 42: 872.
- Gungor C, Barel M, Dishan A, Disli HB, Koskeroglu K, Onmaz NE. From cattle to pastirma: Contamination source of methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) along the pastirma production chain. *LWT* 2021; 151: 112-30.
- Güven K, Mutlu MB, Gulbandilar A, Cakir P. Occurrence and characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products consumed in Turkey. *J Food Saf* 2010; 30(1):196-212.
- Güzel N, Onmaz NE. Toplu yemek üretimi yapan bir işletmede personel ve gıda temas yüzeylerinin mikrobiyolojik yönden değerlendirilmesi. *Erc Üniv Vet Fak Derg* 2022; 19(3): 189-94.
- Houston P, Rowe SE, Pozzi C, Waters EM, O'Gara JP. Essential role for the major autolysin in the fibronectin-binding protein-mediated *Staphylococcus aureus* biofilm phenotype. *Infect Immun* 2011; 79(3): 1153-65.
- ISO 6888-1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs—Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-Positive Staphylococci (*Staphylococcus aureus* and Other Species)—Part 1: Technique Using Baird-Parker Agar Medium, 1999.
- Kadkhoda H, Ghalavand Z, Nikmanesh B, Kodori M, Houri H, Taghizadeh Maleki D, Karimi Bavandpour A, Eslami G. Characterization of biofilm formation and virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolates from paediatric patients in Tehran, Iran. *Iran J Basic Med Sci* 2020; (5): 691-8.
- Koçak Kızanlık P. Çeşitli kaynaklardan izole edilen *Staphylococcus aureus*'ün bazı virulens özelliklerinin belirlenmesi. Doktora tezi, Adnan Menderes

- Üniv, Sağlık Bil Enst, Aydın, 2019.
- Kowalska J, Maćkiw E, Stasiak M, Kucharek K, Postupolski J. Biofilm-forming ability of pathogenic bacteria isolated from retail food in Poland. *J Food Protect* 2020; 83(12): 2032-40.
- Maira-Litrán T, Kropec A, Abeygunawardana C, Joyce J, Mark G, Goldmann DA, Pier GB. Immunochemical properties of the staphylococcal poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide. *Infect Immun* 2002; 70(8): 4433-40.
- Miao J, Lin S, Soteyome T, Peters BM, Li Y, Chen H, Su J, Li L, Li B, Xu Z, Shirliff ME, Harro JM. Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* under food heat processing conditions: First report on CML production within biofilm. *Sci Rep* 2019; 9(1): 1312.
- Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Parisi A, Greco G, Bellacicco AL, Virgilio S, Celano GV. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. *Int J Food Microbiol* 2007; 117(2): 219-22.
- Özlü S, Ercoşkun H. Et ve sağlıklı beslenme. *Gıda ve Yem Bil Tekn Derg* 2021; 25: 15-29.
- Paparella A, Serio A, Rossi C, Mazzarrino G, López CC. Food-Borne transmission of staphylococci. Savini V. eds. In: *Pet-To-Man Travelling Staphylococci*. Academic Press, 2018; pp.71-99.
- Pérez-Boto D, D'Arrigo M, García-Lafuente A, Bravo D, Pérez-Baltar A, Gaya P, Medina M, Arqués JL. *Staphylococcus aureus* in the processing environment of cured meat products. *Foods* 2023; 12(11): 2161.
- Seyoum B, Kefyalew H, Abera B, Abdela N. Prevalence, risk factors and antimicrobial susceptibility test of *Staphylococcus aureus* in bovine cross breed mastitic milk in and around Asella town, Oromia regional state, southern Ethiopia. *Acta Tropica* 2018; 177: 32-6.
- Stepanović S, Vuković D, Dakić I, Savić B, Švabić-Vlahović M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods* 2000; 40: 175-9.
- Tang Y, Larsen J, Kjeldgaard J, Andersen PS, Skov R, Ingmer H. Methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* from retail meat in Denmark. *Int J Food Microbiol* 2017; 249: 72-6.
- Tebliğleri, TGK. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. TC Tarım ve Orman Bakanlığı, Resmi Gazete, Tarih, (28157), 2011: 2001-19.
- Thiran E, Di Ciccio PA, Graber HU, Zanardi E, Ianieri A, Hummerjohann J. Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* dairy isolates representing different genotypes. *J Dairy Sci* 2018; 101(2): 1000-12.
- Tiryaki C. Toplu tüketim işletmelerinde tüketime hazır gıdalar ve ilgili personelde *S. aureus* prevalansı ile bazı virulens özelliklerin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniv Sağlık Bil Ens, İstanbul, 2018.
- Turhan EÜ, Erginkaya Z. Bakteriyel biyofilmlerdeki antimikrobiyel direnç mekanizması. *Akademik Gıda* 2019; 17(1): 131-9.
- Uyanık T, Bölükbaş A, Gücükoğlu A, Çadırcı Ö. Çeşitli gıda örnekleri ve kesimhanelerden izole edilen bazı patojen bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneğinin araştırılması. *J Vet Bio Sci Tech* 2022; 7(3): 338-45.
- Vergara-Irigaray M, Valle J, Merino N, Latasa C, García B, Ruiz de los Mozos, Solano C, Toledo-Arana A, Penades JR, Lasa I. Relevant role of fibronectin-binding proteins in *Staphylococcus aureus* biofilm-associated foreign-body infections. *Infect Immun* 2009; 77(9): 3978-91.
- Zeaki N, Johler S, Skandamis PN, Schelin J. The role of regulatory mechanisms and environmental parameters in staphylococcal food poisoning and resulting challenges to risk assessment. *Front Microbiol* 2019; 12(10): 1307.



Investigation of the Presence of Stem Cells in Rat Uterus Tissue in Postnatal Development Periods*

Betül YALÇIN^{1, a}, Arzu Hanım YAY^{2,3, b}, Saim ÖZDAMAR^{4, c}

¹Adiyaman University, Faculty of Medicine Department of Histology and Embryology, Adiyaman-TÜRKİYE

²Erciyes University, Faculty of Medicine Department of Histology and Embryology, Kayseri-TÜRKİYE

³Erciyes University, Genome and Stem Cell Center (GENKOK), Kayseri-TÜRKİYE

⁴Pamukkale University, Faculty of Medicine Department of Histology and Embryology, Denizli-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0003-4433-9156; ^b0000-0002-0541-8372; ^c0000-0003-4440-5360

Corresponding author: Betül YALÇIN; E-mail: byalcin@adiyaman.edu.tr

How to cite: Yalçın B, Yay AH, Özdamar S. Investigation of the presence of stem cells in rat uterus tissue in postnatal development periods. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2023; 20(3): 206-213

Abstract: Uterine tissue is an organ with a high proliferation capacity where regeneration, differentiation and shedding are seen. Although this tissue is regenerated every month, the source of it hasn't been determined yet. Studies are carried out on stem cells being a source that can provide regeneration of the endometrium and the markers expressed by these cells. The purpose of this study was to examine the immunoreactivity of CD9 and CD13 expressed by essential population of uterus and CD34, marker of hematopoietic stem cells, at various stages of the postnatal developing process. In this study, was used 42 female Wistar-albino rats split into six groups; Group I; newborn (2-days), Group II; pubertal (38-days), and Group III: fertile group (12 weeks), by identifying the stages of the estrous cycle in rats a) proestrus, b) estrus, c) metestrus, d) diestrus. The expression of CD9, CD13, and CD34 in uterine tissues excised from rats was investigated. In the groups of 38-days and 12-weeks, CD34-expressing cells were present in the stroma of the endometrium next to the myometrium, but such cells were absent in the 2-days group. All groups' uterine epithelium displayed CD9 expression, except for group 2-days. Endometrial stromal cells that expressed CD13 showed only little immunoreactivity in groups 2 and 38-days, while CD13 expression is noticeable in group 12-weeks. It was thought that the uterine endometrium could be regenerated in puberty and adulthood with the contribution of bone marrow-derived stem cells and uterine-derived epithelial and stromal cells.

Keywords: Endometrium, immunohistochemistry, smear

Doğum Sonrası Gelişim Dönemlerindeki Siçan Uterus Dokusunda Kök Hücre Varlığının Araştırılması

Öz: Uterus dokusu yenilenme, farklılaşma ve dökülmenin görüldüğü yüksek proliferasyon kapasitesine sahip olan bir organdır. Bu dokuda yenilenme her ay olmasına rağmen, yenilenmenin kaynağı halen belirlenmemiştir. Kök hücrelerin endometriyumun rejenerasyonunu sağlayabilen bir kaynak olduğu ve bu hücrelerin eksprese ettiği belirteçler ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, uterusun temel popülasyonu tarafından eksprese edilen CD9 ve CD13'ün ve hematopoetik kök hücrelerin belirteci olan CD34'ün doğum sonrası gelişim sürecinin çeşitli aşamalarında immünreaktivitesini incelemektir. Bu çalışmada 42 adet dişi Wistar albino rat altı gruba ayrıldı; Grup I yenidoğan (2 günlük), Grup II pubertal (38 günlük) ve geri kalan gruplar, Grup III: fertil grup (12 hafta), siçanlarda östrus döngüsünün evrelerini belirleyerek a) proöstrus, b) östrus, c) metestrus, d) diestrus. Deney sonunda, siçanlardan alınan uterus dokularında CD9, CD13 ve CD34 ekspresyonları araştırıldı. 38 gün ve 12 haftalık postnatal gruplarda, miyometriyumun yanındaki endometriyum stromasında CD34 eksprese eden hücreler mevcutken, postnatal 2 günlük grupta böyle hücreler bulunmamaktaydı. CD9 ekspresyonun da uterus epitelinde 2 günlük grup dışındaki tüm gruplarda gözlemlendi. Endometriyum stromasında eksprese edilen CD13 ise 2 günlük ve 38 günlük siçanlarda zayıf olmasına rağmen, 12 haftalık siçanlarda belirgin CD13 ekspresyonu olduğu belirlendi. Uterus endometriyumunun puberte ve erişkin dönemlerde, kemik iliği kaynaklı kök hücrelerin ve uterus kaynaklı epitelyal ve stromal hücrelerin katkısı ile yenilenebileceği düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Endometriyum, immünohistokimya, smear

Introduction

Throughout a woman's reproductive cycle, the human endometrium experiences over 400 times of regeneration, differentiation, and shedding (Jabbour et al.,

2006). This tissue is composed of two sublayers, the pars functionalis and the pars basalis. The endometrium's damaged layer is known as the pars functionalis. The general opinion related to the regeneration of the pars functionalis is that a particular cell group in the basal region of the endometrium grows and expands rapidly to reconstitute the endometrium (Padykula, 1991). The ability of the endometrium to

Geliş Tarihi/Submission Date : 28.03.2023

Kabul Tarihi/Accepted Date : 14.09.2023

This study was supported by Erciyes University, Scientific Research Projects Coordination Unit; project number TYL-2013-4286.

regenerate itself is thought to be a result of stem cells, according to a widely held belief today. Research on endometrial stem cells has benefited from the most recent technical advancements employed to identify adult stem cells in many tissues (Kyo et al., 2011). Endometrial stem cells, which are the cells that make up the uterus in each menstrual/estrous phase, are thought to originate from the endometrial glands and stromal cells. In addition, there are new views on the existence of an extrauterine source and the fact that these cells are responsible for the repair of the uterus following menstruation and delivery. It has been suggested that one of these cell sources may be bone marrow-derived mesenchymal stem cells (Bruscia et al., 2006). Hematopoietic stem cells (HSC) are found in hematopoietic tissues such as bone marrow, cord blood, and mobilized peripheral blood. CD34, which is expressed by 0.5–5% of human bone marrow cells, is one of the most significant markers of HSCs. Early progenitor cells contain CD34, while more mature cells do not express it (Civin et al., 1990). CD9 is a 24-27 kD glycoprotein that the glandular epithelium's cell surface actively expresses during the menstrual phase (Park et al., 2000). CD13, known as N aminopeptidase, is expressed in the endometrial stroma during the menstrual phase, and its expression is more pronounced in the secretion phase compared to the proliferative phase (Seli et al., 2001). These findings demonstrate the use of CD9 and CD13 as endometrial glandular and stromal cell surface markers (Kato et al., 2007).

The endometrium is a tissue that can reproduce physiologically, shed, and then renew itself. Studies show that stem cells may be involved in this regeneration. It is also believed that endometrial stem cells play a role not only in regeneration, but also in the development of gynecological diseases such as endometriosis and endometrial cancers (Kato, 2012). The regeneration of the endometrium depends on cell proliferation in the proliferative phase, and with this regeneration, the endometrium reaches the required thickness. An endometrium that is not fully developed as a result of insufficient proliferation and that is thinner than it can be considered as one of the causes of infertility. Bone marrow stem cells' role in the proliferative stage is poorly understood. Although CD9/CD13 has been used as differentiation markers in the uterus in studies, there has not been enough study on the expression of these proteins in the uterus. This study used immunohistochemistry to assess how CD9/CD13 and CD34 immunoreactivities affected uterine alterations at various postnatal developmental stages.

Materials and Methods

The Ethics Council of Experimental Animals at Erciyes University in Turkey granted ethical approval for the use of Wistar albino rats in this work. We uti-

lized 42 female Wistar albino rats. The Experimental and Clinical Research Center at Erciyes University supplied the rats. According to the guidelines for animal experimentation, all procedures for the experiment were administered at Erciyes University, Faculty of Medicine (Kayseri, Türkiye) (date: November 14, 2012, decision no:11/116). Throughout the experiment, rats were housed in plastic cages with standard conditions of 60% humidity, temperature (22.5°C) and appropriate illumination (light cycle:12h/dark cycle:12h). The study consisted of a total of 42 rats, with six groups and seven rats in each group. 1- newborn group (two days), 2- pubertal group (38 days), 3 - Group III: fertile group (12 weeks), by identifying the stages of the estrous cycle in a) proestrus, b- estrus, c- metestrus, d- diestrus. The phases of the estrous cycle were determined by taking vaginal smears from 12-weeks rats. For the smear, the rat vagina was washed with a plastic pipette with 10µl saline (NaCl 0.9%) drawn, and the vaginal secretion was collected and the vaginal fluid was spread on the slide. A different slide was used for each rat. After the smears were stained with hematoxylin-eosin (H-E), the stages of the estrous cycle were determined by examining them under the microscope.

Uterine tissue samples were taken from rats belonging to all experimental groups using ketamine-xylazine (50 mg/kg-15 mg/kg) under general anesthesia. Excised tissues were fixed with 10% formaldehyde solution for histological examinations and were blocked by embedding in paraffin after routine tissue follow-up. 5-6 µm sections from paraffin blocks were taken to polylysine-coated slides. Using standard histological techniques, prepared slides were deparaffinized with xylene and diluted by passing through a graded alcohol series. The sections were H-E stained, and the Olympus BX51 microscope was utilized to look at them in order to view the general histological structure (Baran et al., 2022).

Avidin-biotin-peroxidase method and immunohistochemical techniques were applied to determine CD34, CD9 and CD13 molecules in the uterine tissues of the rats in the experiment. In order to rehydrate sections that had been held at 60°C over night, they were first put through a succession of xylene and then graded alcohol. Following a thorough cleaning with distilled water, for 5 minutes, the sections were heated in 10% citrate buffer at 600 W in a microwave for antigen recovery, and then allowed to cool for 10 minutes at room temperature in the same buffer solution. After sections were cleaned with phosphate buffer (PBS), endogenous peroxidase activity was inhibited for 12 minutes using 3% hydrogen peroxide (H₂O₂). The following stages involved using a staining kit for the Large Volume Detection System (Thermo Scientific, TP-125-HL). To guarantee that the regions outside the antigenic zones were covered, Ultra V block was added to the sections

rinsed with PBS. Immediately afterwards, CD34 (Abnova: PAB18289), CD9 (NBP1-40752) and CD13 (NBP1-19793) antibodies were applied to the sections and incubated for 30 minutes at room temperature after 1 night at +4°C. Following washing, the sections were incubated for 10 minutes with a biotin-secondary antibody before going through the washing procedure once more. Then, the sections were exposed to streptavidin peroxidase for 10 minutes. To make the immunoreactivities visible, they were treated for 1 to 5 minutes with the kit's peroxidase substrate that had diaminobenzidine (DAB) characteristics. Distilled water was used to rinse the sections for five minutes. Sections that had been Gill hematoxylin counterstained were rinsed with distilled water. After eliminating the water from the sections with an increasing alcohol series and passing them through xylene, they were sealed with closure solution (Entellan®, Merck) and inspected under an Olympus BX51 microscope (Baran et al., 2022).

Immunohistochemical results were evaluated by counting the cells expressing CD34 in the part of the endometrium adjacent to the myometrium, and the immunoreactivity intensities of CD9 expressed in the glandular structures of the endometrium and CD13 expressed in the endometrial stroma using the Image J program. Ten different areas from random sections taken from tissues were included in the measurement. The mean immunoreactivity intensity was determined for all groups (Onder et al., 2021).

Statistical analyses

All statistical analyses were performed using the SPSS 20.0 program. The Shapiro-Wilk test was used to verify whether the data conformed to the normal distribution, and the Levene homogeneity test was used to determine variance homogeneity. The Mann Whitney U test was used to conduct and assess the difference tests in cases of difference, and the Kruskal-Wallis Analysis was used to compare groups in variables that did not exhibit a normal distribution. Statistics were regarded as significant at $P < 0.05$.

Results

When the H&E-stained smear samples belonging to different periods of the estrous cycle were examined in light microscopy, nucleated epithelial cells as well as non-nucleated epithelial cells were observed in the proestrus phase. The estrus is the phase of nucleated cornified cells with acidophilic staining. In the metestrus phase, which shows basophilic staining, leukocytes were observed among the cornified cells. In the diestrus phase, there were many leukocytes and small nucleated epithelial cells (Figure 1).

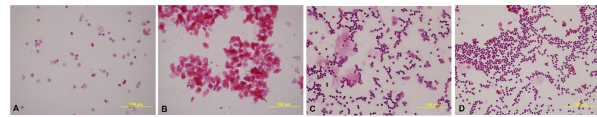


Figure 1. Cytological evaluation of hematoxylin-eosin (H&E) stained vaginal smears X40. (A) Proestrus (B) Estrus (C) Metestrus (D) Diestrus.

In the uterus of a newborn (2-days) rat, the epithelium located on a prominent basement membrane was observed to be a single layered columnar epithelium. Diffuse blood vessels and fibroblast-like cells were observed in the lamina propria layer located under the epithelial layer. It has been determined that there are several rows of muscle layers in the myometrium (Figure 2. A1, A2, A3). In the pubertal (38-days) rat uterus, as in the 2-days rat, the uterine lumen was surrounded by a single-layered columnar epithelium, and the nuclei of the cells forming the epithelium were observed to be oval shaped and located basally. It was observed that the lamina propria, which is loose connective tissue, is rich in blood vessels. It was also noted that the endometrial glands in the lamina propria were less in number than those in the 12-weeks adult group. The circular and longitudinal muscle bundles in the myometrium layer were regularly located (Figure 2. B1, B2, B3).

In the sections of the uterine tissues belonging to the proestrus stage in adult rats, it was observed that the single-layered columnar epithelial cells surrounding the lumen had a centrally located oval nucleus and prominent nucleoli. At this stage, a small amount of leukocyte infiltration was observed both in the epithelium surrounding the endometrial lumen and in the epithelium of the endometrial gland. The histological structures of the circular and longitudinal muscle bundles in the myometrium layer were found to be normal (Figure 2. C1, C2, C3). During the oestrus stage, the lumen was surrounded by a tall columnar epithelium in the adult rat uterus. Leukocyte infiltration was observed both in the endometrial gland epithelium and among the epithelial cells lining the degenerating uterine lumen (Figure 2. D1, D2, D3). In the metestrus stage, the endometrial lumen epithelium in the uterus of adult rats was shown to have shorter epithelial lengths than those in the proestrus and estrus groups. Leukocyte infiltration of the endometrial epithelium as well as degradation were both seen. The stromal cells next to the myometrium were less numerous, whereas the cells next to the basement membrane of the lamina propria layer were more abundant. The myometrium layer, which makes up a significant portion of the uterine wall, was found to have circular and longitudinal muscle bundles that were regularly positioned (Figure 2. E1, E2, E3). In diestrus adult rats, the endometrial epithelium was seen as low prismatic or cuboidal. However, it was noteworthy that the nuclei of the epithelial cells had

also taken a round shape in accordance with the shape of these cells. The height of the uterine glands epithelium with a prominent lumen in the lamina propria of the uterus was higher than the epithelium surrounding the uterine lumen. In addition, the cells in the stroma were distinguished by volume. The myometrium layer of 12-week-old adult rats had normal histological structure (Figure 2. F1, F2, F3).

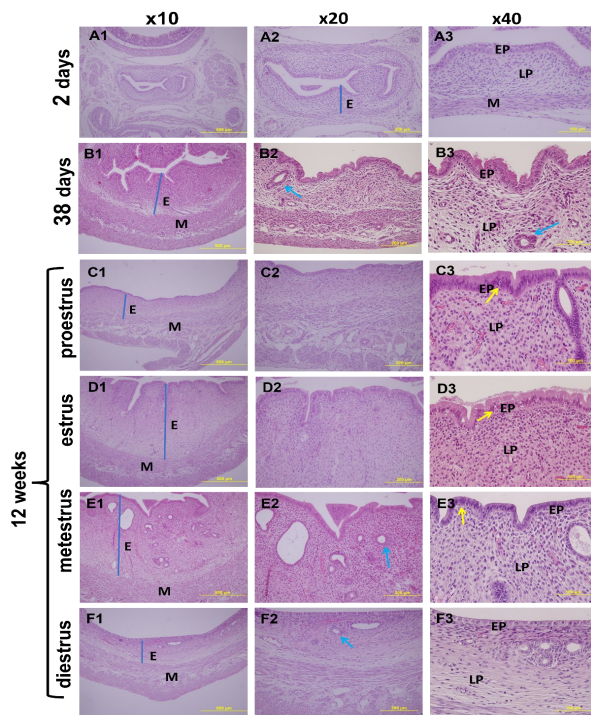


Figure 2. Uterine tissues from the groups at different stages of postnatal development. A1, A2, A3) 2 days group; B1, B2, B3) 38 days group; 12 weeks groups, C1, C2, C3) Proestrus group; D1, D2, D3) Estrus group; E1, E2, E3) Metestrus group; F1, F2, F3) Diestrus group. Endometrium (E), Myometrium (M), epithelium (EP), lamina propria (LP), uterine gland (blue arrow), leukocyte infiltration (yellow arrow). H&E, 1, 2, 3: x10, x20, x40.

Immunohistochemistry findings

CD9 and CD13 immunoreactivities expressed by epithelial and glandular cells in the uterus population and CD34 positive cells expressed by hematopoietic stem cells in this population were immunohistochemically evaluated. The mean CD9 and CD13 immunoreactivity of the uterine tissues of the experimental groups and the mean CD34 positive cell numbers are shown in Table 1.

When CD34 expressions were examined immunohistochemically, in the 2-days experimental group,

expression was observed in the endothelial cells vessel walls in the lamina propria. In the 38-days and 12-weeks experimental groups, CD34 expression was observed in the cytoplasm of the cells in the endometrium adjacent to the myometrium (Figure 3). According to the number of cells expressing CD34, there was a statistically significant difference between the 2-day group and all other groups, while a statistically significant difference was only found between the 38-day group and the estrus ($P<0.05$) and metestrus ($P<0.05$) groups. In the 12-weeks groups, there was a statistically significant difference only between the proestrus group and the estrus group ($P<0.05$).

When CD9 expression was examined immunohistochemically, CD9 expression was not found in the uterine tissue sections of the 2-days experimental group, while CD9 was expressed in the uterine lumen epithelium and glandular epithelium in the lamina propria in the 38-days and 12-weeks experimental groups (Figure 3). According to CD9 epithelial immunoreactivity measurement results, an increase in CD9 expression was observed in the period from estrus to proestrus. However, no statistically significant difference was found between the groups ($P>0.05$).

When CD13 expression was examined immunohistochemically, it was observed that CD13 was expressed in the cytoplasm of cells in the lamina propria of the 12-weeks experimental groups, while no significant CD13 expression was found in uterine tissue sections in the 2-days and 38-days experimental groups (Figure 3). According to the CD13 immunoreactivity in the endometrial stroma, a statistically significant difference was found between the 2-days group and the 38-days ($P<0.05$) and oestrus ($P<0.05$) groups when the 2-days group was compared with the other groups. A statistically significant difference was found between the 38-days group and all other groups ($P<0.05$).

Table 1. The immunoreactivity of CD34, CD9 and CD13 in all experimental groups

Groups		CD34	CD9	CD13
2 days		0±0	12.08±10.08	83.30±7.10
38 days		5.90±3.03	113.53±10.82	85.10±4.95
12 weeks	proestrus	5.41±2.84	117.77±9.91	89.84±8.29
	estrus	4.67±4.09	115.83±12.69	90.42±5.52
	metestrus	5.127±4.25	115.33±12.16	90.06±5.08
	diestrus	5.35±4.14	116.34±17.17	88.85±7.72

Note: Immunohistochemical data are expressed as mean ± standard deviation only.

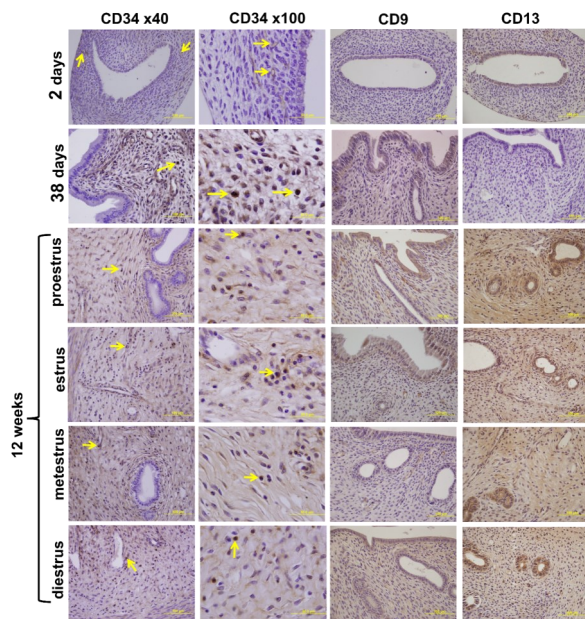


Figure 3. Light micrographs of uterine tissues. Immunohistochemical localization of CD34 immune positive cells; x40, x100 in experimental groups. The levels of CD9 and CD13 in uterine tissues of rats (CD9 and CD13 immunoreactivity, x40).

Discussion and Conclusion

Morphogenesis of the uterus begins in fetal life, but the tissue-specific structure is completed in the post-natal period, including the formation of endometrial glands (Justyna, 2013). Although the development of endometrial glands occurs in the fetus in humans and continues postnatally (PND) and is completed at puberty, it begins postnatally in rodents (Gray et al., 2001). Simple epithelium and undifferentiated mesenchyme support the simple epithelium in the newborn mouse and rat uterus, while endometrial glands are absent. On the 5th day of PND, epithelial invaginations representing the formation of glandular epithelial branches are seen (Brody and Cunha, 1989). Only PND 7 in mice and PND 9 in rats did endometrial gland development become apparent. In rats, continued from day PND 9 to PND 15 days and formed simple tubular glands (Branham et al., 1985). It has

been stated that the perinatal mouse uterus consists of an endometrial layer, a stromal layer without endometrial glands, a single-layered columnar epithelium surrounding the lumen supported by this stromal layer, and the myometrium consists of prominent circular and longitudinal smooth muscle layers (Teixeira, 2008). In this study, it was observed that the 2-days rat uterine lumen was surrounded by a single layer of epithelium and there were no endometrial glands in the cell-rich lamina propria. In addition, the muscle layer of the uterus was not evident.

Significant histological changes are observed during the estrous cycle in the uterus, which is the target of ovarian hormones, in rodents without menstruation. The height of the uterine lumen epithelial cells varies during the estrous cycle, with the longest estrus and the shortest diestrus. In contrast to metestrus and diestrus, proestrus and estrus have significant levels of mitotic activity in the uterine epithelium. In uterine glandular cells, the mitotic rate is at its lowest in the estrus phase, and the mitotic rate gradually increases and reaches its highest level in the proestrus phase (Sato et al., 1997).

The human endometrium has features such as cyclic regeneration and tissue destruction under the influence of estrogen and progesterone (Masuda et al., 2010). In these continuously regenerating tissues, adult stem cells are in charge of cell formation. Adult stem cells or progenitor cells thought to dwell in the basalis layer of the endometrium are thought to be responsible for the monthly cyclical regeneration of the functionalis layer of the endometrium. In the studies carried out to define these putative cells, it was determined whether adult stem cells have functional properties such as self-renewal, differentiation into one or more cell lines, and high proliferation potential (Gargett et al., 2007). Chan et al. (2004) supported the view that these cells are hormone-independent cells because the colony forming capacity of epithelial and stromal cells in active and inactive endometrium does not change. At the same time, since these cells are dense in the basalis of the endometrial layer and not in the functionalis, it confirms that the basalis contains a niche for endometrial stem cells. In this study, we aimed to determine the contribution of the endometrium's own population and the contribution of non-endometrial bone marrow-derived stem cells to

the regeneration of the endometrium at different stages of development.

Chan and Gargett (2006) described that 3% of epithelial cells (primarily luminal) and 6% of stromal cells next to the luminal epithelium exhibit mitotic activity in the endometrial-myometrial junction. Cervello et al. (2007) determined that there were stromal cells in a similar location, but no cells showing LRC characteristics were found in the epithelial compartment. In another study, LRC in the stromal area was not evaluated, but the presence of epithelial LRCs in the glandular epithelium was determined intensively (Kaitu'u-Lino et al., 2010). Thus, a consensus on the location of cells with long-term mitotic activity could not be obtained.

One of the methods used to identify stem cells in the endometrium is the isolation of cells with the side population (SP) phenotype (Masuda et al., 2010). They showed that SP cells were found in uterine regions that showed immunoreactivity as CD9⁻CD13⁻. It has been stated that CD9⁻CD13⁻ cells form gland or stroma-like cells. CD9⁺CD13⁻ cells formed gland-like cells, and CD9⁻CD13⁺ cells formed stroma-like cells. CD9 and CD13 expression levels were determined by immunohistochemistry at the secretion stage of cultured endometrial cells. CD9 showed only glandular expression, while both glandular and stromal expressions of CD13 were observed. As negative markers for immature endometrial cells, CD9 and CD13 have been reported to be useful (progenitor cells) (Kato et al., 2007). In another study, Kato et al. (2012) stated that SP cells differ from non-SP cells with their features such as decreased expression of differentiation markers (CD9 and CD13), long-term proliferation capacity in cell culture, and in vitro self-renewal. CD9 and CD13, whose presence in the uterus was determined by different methods in previous studies, were evaluated immunohistochemically in our study. While CD9 expression was not observed in the 2-days group, which was examined at different developmental stages, CD9 expression was observed in the cytoplasm of the uterine luminal epithelium and glandular epithelium cells in the 38-day and 12-weeks groups. CD13 was expressed in cells in the endometrial stroma. CD13 expression was evident in the 12-weeks group, and statistically, the difference between all groups was significant. It was thought that the reason why both CD9 and CD13 expression did not show expression in the 2-days group may be related to the absence of cyclical changes in the endometrium yet. Although the immunoreactivity values of CD9 in the 38-days and 12-weeks groups varied between the groups, these changes were not statistically significant, suggesting that CD9 is not sensitive to hormonal changes. It was suggested that CD13 might be sensitive to the changes in the oestrous phases and possibly to the hormonal changes in these phases.

In humans and rodents, bone marrow is considered a potential source for generating endometrial epithelial and stromal stem/progenitor cells (Taylor, 2004). Du and Taylor (2007) described Y chromosome positive endometrial epithelial and stromal cells in women who underwent bone marrow transplant from male donors. Mint et al. (2008) performed mouse bone marrow transplantation using male donors and identified donor-derived endothelial cells in recipient endometriums. The idea that the bone marrow is a significant source of endometrial stem cells with the ability to develop into parenchymal and endothelial cell types has been supported by studies.

According to a study, endometrial cells can be produced by donor-derived bone marrow cells and that non-uterine stem cells, such as bone marrow stem cells, can also aid in the regeneration of endometrial tissue (Taylor, 2004). In a certain microenvironment, according to Zhang et al. (2012), bone marrow mesenchymal stem cells can differentiate into endometrial epithelial cells, and the right concentration of 17-estradiol promotes this differentiation.

Cho et al. (2004) identified stem cells in the uterus from the fetal to the postmenopausal stage using CD117, CD34, Bcl-2, and Ki-67 primary antibodies. They claimed that, aside from during the embryonic and gestational periods, the only place CD34, a bone marrow stem cell marker, is found in the stroma right next to the glands at the base of the endometrium. They demonstrated using immunohistochemistry that CD34 was solely expressed in the stromal cells of the basalis layer. In order to prevent cyclic shedding, it was also mentioned that these markers are typically found in the stroma of the basalis. In our study, CD34-expressing cells were present in 38-days and 12-weeks adult animals, and this study was similar to the location of these cells in the uterus.

As a result, according to the data obtained from CD9, CD13 and CD34 immunohistochemical staining, it was thought that the uterine endometrium could be regenerated with the contribution of bone marrow stem cells and uterine epithelial and stromal stem cells in 38-days and 12-weeks groups.

Acknowledgments

We would like to thank Erciyes University Scientific Research Projects Unit for their contribution to this thesis with TYL-2013-4286.

References

- Baran M, Yay A, Onder GO, Tan FC, Yalcin B, Balcioglu E, Yıldız OG. Hepatotoxicity and renal toxicity induced by radiation and the protective effect of quercetin in male albino rats. *Int J Radiat Biol* 2022; 98(9): 1473-83.

- Branham WS, Sheehan DM, Zehr DR, Ridlon E, Nelson CJ. The postnatal ontogeny of rat uterine glands and age-related effects of 17 β -estradiol. *Endocrinology* 1985; 117: 2229-37.
- Brody JR, Cunha GR. Histologic, morphometric, and immunocytochemical analysis of myometrial development in rats and mice: I. Normal development. *Am J Anat* 1989; 186: 1-20.
- Bruscia EM, Ziegler EC, Price JE, Weiner S, Egan ME, Krause DS. Engraftment of donor-derived epithelial cells in multiple organs following bone marrow transplantation into newborn mice. *Stem Cells* 2006; 24: 2299-308.
- Cervello JA, Martinez-Conejero JA, Horcajadas JA, Pellicer A, Simon C. Identification, characterization and co-localization of label-retaining cell population in mouse endometrium with typical undifferentiated markers. *Hum Reprod* 2007; 22: 45-51.
- Chan RWS and Gargett CE. Identification of label-retaining cells in mouse endometrium. *Stem Cells* 2006; 24: 1529-38.
- Chan RWS, Schwab KE and Gargett CE. Clonogenicity of human endometrial epithelial and stromal cells. *Biol Reprod* 2004; 70: 1738-50.
- Cho NH, Park YK, Kim YT, Yang H, Kim SK. Lifetime expression of stem cell markers in the uterine endometrium. *Fertil Steril* 2004; 81: 403-7.
- Civin CI, Strauss LC, Fackler MJ, Trischmann TM, Wiley JM, Loken MR. Positive stem cell selection-basic science. *Prog Clin Biol Res* 1990; 333:387-91.
- Du H, Taylor HS. Contribution of bone marrow-derived stem cells to endometrium and endometriosis. *Stem Cells* 2007; 25: 2082-6.
- Gargett CE, Chan RW, Schwab KE. Endometrial stem cells. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007; 19: 377-83.
- Gray CA, Bartol FF, Tarleton BJ, Wiley AA, Johnson GA, Bazer FW, Spencer TE. Developmental biology of uterine glands. *Biol Reprod* 2001; (5):1311-23.
- Jabbour HN, Kelly RW, Fraser HM, Critchley HOD. Endocrine regulation of menstruation. *Endocr Rev* 2006; 27: 17-46.
- Justyna F. Cellular and molecular mechanisms regulating postnatal development of the uterus. Washington State University Animal Sciences, USA 2013.
- Kaitu'u-Lino TJ, Ye L, and Gargett CE. Reepithelialization of the uterine surface arises from endometrial glands: evidence from a functional mouse model of breakdown and repair. *Endocrinology* 2010; 151: 3386-95.
- Kato K, Yoshimoto M, Kato K, Adachi S, Yamayoshi A, Arima T, Asanoma K, Kyo S, Nakahata T, Wake N. Characterization of side population cells in human normal endometrium. *Hum Reprod* 2007; 22: 1214-23.
- Kato K. Stem cells in human normal endometrium and endometrial cancer cells: Characterization of side population cells. *Kaohsiung J Med Sci* 2012; 28: 63-71.
- Kyo S, Maida Y, Inoue M. Stem cells in endometrium and endometrial cancer: Accumulating evidence and unresolved questions. *Cancer Letters* 2011; 308: 123-33.
- Masuda H, Matsuzaki Y, Hiratsu E, Ono M, Nagashima T, Kajitani T, Arase T, Oda H, Uchida H, Asada H, Ito M, Yoshimura Y, Maruyama T, Okano H. Stem cell-like properties of the endometrial side population: Implication in endometrial regeneration. *PLoS ONE* 2010; 5: 1-8.
- Mints M, Jansson M, Sadeghi B, Westgren M, Uzunel M, Hassan M, Palmblad J. Endometrial endothelial cells are derived from donor stem cells in a bone marrow transplant recipient. *Hum Reprod* 2008; 23: 139-43.
- Onder GO, Balcioglu E, Baran M, Ceyhan A, Cengiz O, Suna PA, Yıldız OG, Yay A. The different doses of radiation therapy-induced damage to the ovarian environment in rats. *Int J Radiat Biol* 2021; 97(3): 367-75.
- Padykula HA. Regeneration in the primate uterus: The role of stem cells. *Ann NY Acad Sci* 1991; 622: 47-56.
- Park KR, Inoue T, Ueda M, Hirano T, Higuchi T, Maeda M, Konishi I, Fujiwara H, Fujii S. CD9 is expressed on human endometrial epithelial cells in association with integrins α_6 , α_3 and β_1 . *Mol Hum Reprod* 2000; 6: 252-7.
- Sato T, Fukazawa Y, Kojima H, Enari M, Iguchi T, Ohta Y. Apoptotic cell death during the estrous cycle in the rat uterus and vagina. *Anat Rec* 1997; 248: 76-83.
- Seli E, Senturk L, Bahtiyar OM, Kayisli UA, Arici A. Expression of aminopeptidase N in human endometrium and regulation of its activity by estrogen. *Fertil Steril* 2001; 75: 1172-6.

Taylor HS. Endometrial cells derived from donor stem cells in bone marrow transplant recipient. *JAMA* 2004; 292: 81-5.

Teixeira J, Rueda BR, Pru JK. Uterine stem cells. *Stem Book*, USA, 2008: 1-17.

Zhang WB, Cheng MJ, Huang YT, Jiang W, Cong Q, Zheng YF, Xu CJ. A study in vitro on differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into endometrial epithelial cells in mice. *EJOG* 2012; 160: 185-90.

Yazım Kuralları

1. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde veteriner bilimlerini ilgilendiren alanlarda orijinal araştırmalar, olgu sunumları, araştırma notları, kısa bildiri, derleme ve editöre mektup yayımlanır.
2. Dergide yayımlanacak yayınlar için resmi dil Türkçe'dir. İngilizce yazılmış eserler de yayımlanabilir. **İngilizce hazırlanmış makalelerin yayımlanmasına öncelik verilir.**
3. Yayınlar A4 tipi formatta, çift aralık, Arial, 10 punto ve iki yana yaslı olarak yazılmalıdır. Her kenardan 2.5 cm boşluk bırakılarak, sayfaların sağ altına numara verilmelidir. Resimler, şekiller ve kaynaklar dâhil orijinal makaleler ve derlemeler 14, olgu sunumları, araştırma notu ve kısa bildiriler 7 sayfayı geçmemelidir.
4. Yazılar, ercvet@gmail.com adresine gönderilmelidir. Yazışmalar için, makale kapak sayfasında, sorumlu yazarın yazar adı, unvanı, ORCID numarası ve E-posta adresi yazılmalıdır.
5. Daha önce kongrelerde tebliğ edilmiş ve özeti yayımlanmış çalışmalar, bu durum kapak sayfasında belirtilmek üzere kabul edilir.
6. Araştırma herhangi bir kuruluş tarafından desteklenmiş ise kapak sayfasında dipnot olarak belirtilir.
7. Kapak sayfasında Türkçe makale başlığı (koyu ve ilk harfleri büyük), İngilizce başlık (ilk harfler büyük), kısa başlık (40 karakteri geçmemeli ve ilk kelimenin ilk harfi büyük, diğerleri küçük olarak yazılmalıdır), yazar adları (unvansız), çalıştıkları kuruma ait bilgiler (soyadı üstüne numara konulup dipnot olarak) verilmelidir.
8. Türkçe ve İngilizce özetlerin bir sonraki sayfaya yazılması gerekir. Bu sayfa, paragrafsız olarak Türkçe ve İngilizce özetleri (en fazla 250 kelime) içermelidir. Anahtar kelimeler özetlerin altına alfabetik olarak (virgülle ayrılmış şekilde) yazılmalıdır. Yalnızca ilk anahtar kelime büyük harfle başlamalıdır. **Türkçe Bilmeyen yazarlar için Türkçe özet ve anahtar kelimeler yazma zorunluluğu bulunmamaktadır.**
9. Araştırma makalesi; Kapak Sayfası - Özet (Türkçe ve İngilizce) - Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Sonuç, Teşekkür, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller, Sorumlu yazar (Correspondence Author) bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir. Metin içindeki tüm başlıklar koyu yazılmalıdır. Metin içinde paragraf girintisi yapılmamalı, devamlı satır numarası verilmelidir.
10. Derlemeler, orijinal olması, en son yenilikleri içermesi, yazarların konu ile doğrudan ilişkili **en az 3 adet** çalışmalarının olması ve bunların derleme içinde kullanılması durumunda 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, Krusibeek AM, Marguiles DH. eds. In: Current Protocols in Immunology. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
19.3. Kaynak kitap ise;
Örnek: Fleiss JL. Statistical Methods for Rates and Proportions. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103.
19.4. Kaynak editörlü kitap ise;
Örnek: Balows A, Mousier WJ, Herramafli KL, eds. Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
19.5. Kaynak kongre bildirisi ise;
Örnek: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; İzmir-Türkiye.
19.6. Kaynak tez ise;
Örnek: Erdem V. Köpek göz hastalıklarında klinik oftalmoskopik ve ultrasonografik bulguların değerlendirilmesi, Doktora tezi, Ankara Üniv Sağ Bil Ens, Ankara 2003; s. 1-2.
19.7. Kaynak internette bulunan bir web sitesi ise;
Örnek: TÜİK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/hayvancilik.app/hayvancilik.zul>; Accessed Date: 14.03.2010.
20. Eserler dergide yayımlandıktan sonra, bütün sorumluluk sahiplerine aittir.
21. Yazılar gönderilirken son kontrol listesi izlenecek ve "Telif Hakkı Devir Formu" tüm yazarlarca isim sırasına göre imzalanacaktır. **Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmayan yayınlar işleme alınmayacaktır.**

Instructions to Authors

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

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

Makale Türü/ Article Type:

.../.../20..

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

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

Makale Başlığı/Article

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

Sayın Editör,

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

Dear Editor,

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

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

Yazar/ Yazarların Adı

Author's/Authors' Printed Name

1).....İmza/Signature:.....

2).....İmza/Signature:.....

3).....İmza/Signature:.....

4).....İmza/Signature:.....

5).....İmza/Signature:.....

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

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

SON KONTROL LİSTESİ

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

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

FINAL CHECKLIST

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

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