



Official Publication of  
The Afyon Kocatepe  
University

# K o c a t e p e Veterinary Journal

2016, 9:3, September



ISSN: 1308-1594  
e-ISSN: 2147-6853

<http://www.kvj.aku.edu.tr>

### ADVISORY BOARDS

#### Publisher

Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ  
Dean  
On behalf of Afyon Kocatepe University  
Faculty of Veterinary Medicine  
Afyonkarahisar - TURKEY

#### Editor

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

#### Deputy Editors

Assoc. Prof. Dr. Sinan İNCE  
Assoc. Prof. Dr. Murat Sırn AKOSMAN  
Assoc. Prof. Dr. Musa KORKMAZ  
Assist. Prof. Dr. Cangir UYARLAR  
Assist. Prof. Dr. Recep KARA

#### Organising Committee

Prof. Dr. Mine DOSAY AKBULUT  
Assoc. Prof. Dr. C. Çağrı ÇINGİ  
Assoc. Prof. Dr. İbrahim KILIÇ  
Assist. Prof. Dr. Murat TANDOĞAN  
Assist. Prof. Dr. Ulaş ACARÖZ

*Kocatepe Veterinary Journal is a Peer-Reviewed  
Journal and published four times a year.*

*Kocatepe Veterinary Journal;  
indexed in Journal Index, Academic Index,  
Turkey Citation Index, Google Scholar*

#### Addressed:

*Kocatepe Veterinary Journal,  
Afyon Kocatepe University,  
Faculty of Veterinary Medicine,  
03200, Afyonkarahisar, TURKEY.*

*Tel: +90 272 214 9309  
Fax: +90 272 214 9309  
E-mail: [kvj@aku.edu.tr](mailto:kvj@aku.edu.tr)*

*[www.kvj.aku.edu.tr](http://www.kvj.aku.edu.tr)*

*\*Only accepts online submission\**

- Prof. Dr. Arif Altıntaş  
Prof. Dr. Atila Şimşek  
Prof. Dr. Cevdet Uğuz  
Prof. Dr. Christian Stanek  
Prof. Dr. Endre Szuck  
Prof. Dr. Giacomo Rossi  
Prof. Dr. Yavuz O. Birdane  
Prof. Dr. İbrahim Demirkan  
Prof. Dr. İlhami Çelik  
Prof. Dr. İsmail Bayram  
Prof. Dr. Jaroslaw Calka  
Prof. Dr. Jerzy J Jaroszewski  
Prof. Dr. Jerzy Kalczyk  
Prof. Dr. Abdullah Kaya  
Prof. Dr. M Hewicker-Trautwein  
Prof. Dr. Marco Bagliacca  
Prof. Dr. Martin Woodward  
Prof. Dr. Mustafa Alişarlı  
Prof. Dr. Nalan Bayşu Sözbilir  
Prof. Dr. Recep Aslan  
Prof. Dr. Seyfullah Haliloğlu  
Prof. Dr. Sławomir Zdunczyk  
Prof. Dr. Tomasz Janowski  
Prof. Dr. Yahya Kuyucuoğlu  
Prof. Dr. Zafer Karaer  
Prof. Dr. Zehra Bozkurt  
Prof. Dr. Zheng-Wei Yang  
Prof. Dr. İbrahim Taşal  
Prof. Dr. Şule Kaya  
Assoc. Prof. Dr. Aysun Demirkan  
Assoc. Prof. Dr. Fatih M. Birdane  
Assoc. Prof. Dr. Süleyman Aypak  
Assoc. Prof. Dr. Hasan Çiçek  
Assoc. Prof. Dr. Korhan Altunbaş  
Assoc. Prof. Dr. M. Fatih Bozkurt  
Assoc. Prof. Dr. Oktay Yılmaz  
Assoc. Prof. Dr. İbrahim Kılıç  
Assist. Prof. Dr. Zeki Gürler  
Dr. Abdulgader Dhawi Alfitouri  
Dr. Ali Mobeshari  
Dr. Csiszter Ludovic  
Dr. Eva Sossidou  
Dr. Fahad Al-Hizab  
Dr. Fenghua Chen  
Dr. Richard D. Murray
- Ankara University -Turkey  
Selçuk University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
University of Veterinary Medicine - Austria  
Szent István University - Hungary  
University of Camerino - Italy  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Selçuk University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland  
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland  
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland  
Selçuk University-Turkey  
University of Veterinary Medicine Hannover - Germany  
University of Pisa - Italy  
Veterinary Laboratories Agency - England  
Ondokuz Mayıs University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Selçuk University-Turkey  
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland  
University of Warmia and Mazury in Olsztyn - Poland  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Ankara University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
North Sichuan Medical College - China  
Mehmet Akif Ersoy University-Turkey  
Mehmet Akif Ersoy University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Adnan Menderes University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Afyon Kocatepe University-Turkey  
Al Fateh University - Libya  
University of Nottingham - England  
Banat University of Agri Sci & Vet Med - Romania  
NAGREF, Veterinary Research Institute – Greece  
King Faisal University – Saudi Arabia  
University of Aarhus - Denmark  
Liverpool University - England

Page	RESEARCH ARTICLES
140-145	<b>Relationships Age and Pregnancy Rates with Certain Oestrus Characteristics at the Insemination Time in Holstein Cows</b> (İneklerde Tohumlama Esnasındaki Bazı Östrus Belirtilerinin Yaş ve Gebe Kalma Oranı ile İlişkisi) Fatih AVDATEK , Deniz YENİ, Mustafa GÜNDOĞAN
146-158	<b>İnek ve Düvelerde Vücut Kondisyon Skoru Değişiminin Postpartum Döneme ve Fertilité Parametrelerine Etkisi</b> (Effect of Body Condition Score Changes on Postpartum Period and Fertility Parameters in Cows and Heifers) Hatice Esra ÇOLAKOĞLU, Şükrü KÜPLÜLÜ
159-164	<b>A serologic investigation for Equine Viral Arteritis and Equine Infectious Anemia Virus Infections in Horses in Afyonkarahisar, Ankara and Eskişehir Provinces, Turkey</b> (Türkiye’de Afyonkarahisar, Ankara ve Eskişehir İllerinde Equine Viral Arteritis ve Equine Infectious Anemia Virus Enfeksiyonlarının Serolojik Olarak Araştırılması) Duygu BAKI ACAR, Sibel GÜR, Metin GÜRÇAY, Erhan ÖZENÇ
165-170	<b>A serological investigation for Feline Panleukopenia Virus in Cats in Afyonkarahisar</b> (Afyonkarahisar’da Kedilerde Feline Panleukopenia Virusunun Serolojik Olarak Araştırılması) Sibel GÜR, Keziban AVDATEK
171-178	<b>Determination of Effects on Oxidant Antioxidant Balance and Some Biochemical Parameters Consumption of Bottled, Distilled and Deionized Thermal Water in Rats</b> (Sıçanlarda Bekletilmiş, Distile ve Deiyonize Kaplıca Suyu Tüketilmesinin Oksidan Antioksidan Denge ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisinin Belirlenmesi) Cahide ÇEVİK, Elmas ULUTAŞ, Hasan Hüseyin DEMİREL, Sinan İNCE, Abdullah ERYAVUZ
179-184	<b>Sivas İlinde Bazı Hayvancılık İşletmelerinde Kullanılan Sığır Besi Yemlerinde Okratoksin-A Düzeylerinin Belirlenmesi</b> (Determination of Ochratoxin A Levels in Feeds of Beef Cattle From Some Livestock Enterprises in Sivas) Kurşat YILMAZ, Dilek AKSU ELMALI
185-193	<b>Effects of Some Risk Factors on Subclinical Mastitis in Dairy Cows</b> (Sütçü İneklerde Bazı Risk Faktörlerinin Subklinik Mastitis Üzerine Etkileri) Resul KOÇYİĞİT, Oktay YILMAZ, Erhan ÖZENÇ, Mehmet UÇAR
194-199	<b>Seroprevalence of Subclinical Paratuberculosis in Dairy Cattle in Manisa Region of Turkey</b> (Manisa Yöresi Süt Sığırlarında Subklinik Paratüberkülozun Seroprevalansı) Mehmet BERBEROĞLU, Turan CİVELEK
200-210	<b>Buzağularda İntestinal Atresia’larda Klinik ve Operatif Yaklaşımlar</b> (Clinical and Operative Approach of Intestinal Atresia in Calves) Berk Alp GÖKSEL, Zülfükar Kadir SARITAŞ
<b>REVIEWS</b>	
211-214	<b>Neonatal Buzağı İshallerinin Tedavi ve Korunmasında Kolostrum Serumlarının Parenteral Uygulamaları</b> (Parenteral Applications of Colostrum Serums in Treatment and Prevention of Neonatal Calf Diarrhea) Özgül Mukaddes ELİTOK, Bülent ELİTOK
215-225	<b>Epidermal Büyüme Faktörü</b> (Epidermal Growth Factor) Gül Fatma YARIM, Filiz KAZAK
226-229	<b>Sepiyolitın Buzağı İshallerindeki Terapotik Etkinliği</b> (Therapeutic Efficacy of Sepiolite on Calf with Diarrhea) Bülent ELİTOK, Özgül Mukaddes ELİTOK
230-235	<b>Transmissible Venereal Tumor: A Review</b> (Transmisibil Venereal Tümör: Derleme) Mehmet UÇAR
236-246	<b>Çiftlik Düzeyinde Hayvan Refahı Değerlendirmesi İçin Bilimsel Yaklaşımlar</b> (Scientific Approaches For Animal Welfare Assessment At Farm Level) Zehra BOZKURT
<b>CASE REPORTS</b>	
247-251	<b>Melez İrk Bir Köpekte Yalancı Erkek Hermafrodizm Olgusu</b> (A Male Pseudohermaphroditism Case in a Cross Breed Bitch) Duygu BAKI ACAR
252-254	<b>Sarcocystosis in The Cremaster Muscle of an Infertile Bull, Spermiostasis and Orchitis</b> (İnfertil Bir Boğanın Cremaster Kasında Sarkosistozis, Spermiostazis ve Orşitis) Kamil SAĞLAM, Hikmet KELEŞ
255-258	<b>Bir Köpekte Prolapsus Vagina İle Birlikte Gözlemlenen Bulaşıcı Venereal Tümör Olgusu</b> (Vaginal Prolapse and Transmissible Venereal Tumor in A Bitch) Erhan ÖZENÇ, Duygu BAKI ACAR, Muhammed Kürşad BİRDANE, Mehmet Fatih BOZKURT

## Relationships Age and Pregnancy Rates with Certain Oestrus Characteristics at the Insemination Time in Holstein Cows

Fatih AVDATEK<sup>1\*</sup>, Deniz YENİ<sup>1</sup>, Mustafa GÜNDOĞAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Reproduction and Artificial Insemination, Afyonkarahisar / TURKEY

Corresponding author e-mail: favdatek@aku.edu.tr

### ABSTRACT

The study was conducted to compare the age with respect to some oestrus signs on pregnancy success in spontaneously oestrus signed 96 Holstein cows under field conditions. Some oestrus findings were examined by visual observation and some clinical tests then all cows were artificially inseminated by frozen-thawing semen. The dominant follicle was located more often ( $P<0.01$ ) on the right (61.46%) than the left ovary (38.54%) in all animals, but there was no effect of location of the ovulatory follicle on the pregnancy rate. However, it was observed positive correlations between pregnancy rates and vaginal temperatures ( $r=0.661$ ,  $P<0.05$ ), and the ferning of cervical mucus ( $r=0.732$ ,  $P<0.01$ ), and also between the ferning of cervical mucus and OFS, and vaginal temperatures ( $P<0.05$ ) in all animals. In addition, the significantly ( $P<0.01$ ) high pregnancy rates were achieved in spontaneously oestrus occurred 4-7 years aged cows that ovulatory follicle sizes (OFS) were ranged from 14 mm to 18 mm. It was concluded that should be oestrus signs evaluated together with age, OFS and ferning of cervical mucus why pregnancy success were bigger in cows whose vaginal temperature and ferning of cervical mucus were maximum and OFS was moderate, pregnancy chance may be improved by means of optimizing insemination time in 4-7 years olded cows.

**Key Words:** Age, Cow, insemination, Oestrus, Pregnancy

## İneklerde Tohumlama Esnasındaki Bazı Östrus Belirtilerinin Yaş ve Gebe Kalma Oranı ile İlişkisi

### ÖZ

Sunulan araştırmada saha şartlarında östrus gösteren ineklerde gebelik üzerine tohumlama esnasındaki bazı östrus belirtilerinin yaşa göre etkisini karşılaştırmak amaçlanmıştır. Bu çalışmada 96 Holştayn inek kullanıldı, bazı östrus bulguları gözle muayene ve klinik testlerle değerlendirildikten sonra tüm ineklere dondurulmuş-çözdürülmüş sperma ile suni tohumlama yapıldı. Bütün hayvanlarda dominant follikülün soldan (%38.54) çok sağ (%61.46) ovaryumda yerleştiği ancak yerleşimin gebelik oranı üzerine etkisinin gözlenmediği belirlendi ( $p<0.01$ ). Bununla beraber, bütün hayvanlarda gebelik oranları ile vaginal sıcaklıklar ( $r=0.661$ ,  $P<0.05$ ) ve mukus kristalizasyonu ( $r=0.732$ ,  $P<0.01$ ) ayrıca mukus kristalizasyonu ile dominant follikül büyüklükleri ve vaginal sıcaklıklar arasındaki ( $P<0.05$ ) pozitif yöndeki ilişkiler önemli bulundu. Bununla birlikte önemli derecede ( $P<0.01$ ) yüksek gebelik oranları 4 ile 7 yaş arasındaki 14-18 mm arasında follikül çapına sahip kendiliğinden östrus gösteren ineklerin tohumlanmalarıyla elde edildi. Sonuç olarak, vaginal sıcaklık ile mukus kristalizasyonu yüksek ve orta büyüklükte folliküle sahip olan 4-7 yaşlı ineklerin tohumlanmalarıyla gebelik şansını yüksek bulunduğundan dominant follikül büyüklüğü ve mukus kristalizasyonun yaş ile birlikte değerlendirilerek tohumlama zamanının ayarlanmasıyla gebelik şansının artırılabilirliği kanaatine varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Yaş, İnek, Tohumlama, Östrus, Gebelik

To cite this article: Avdatek F, Yeni D, Gündoğan M. Relationships Age and Pregnancy Rates with Certain Oestrus Characteristics at the Insemination Time in Holstein Cows. *Kocatepe Vet J. 2016; 9(3):140-145.*

## INTRODUCTION

Herd fertility is evaluated by the percentage of pregnant females and the litter size. In normal breeding conditions puberty occurs at about 12 months and age at first calving is about 30 months in cattle. The age of puberty is influenced by several factors such as physical environments. Especially nutritional levels modulate age at puberty. Apart from pathologic disturbances, the fertility parameters increase for a few years after puberty, reach a maximum, and then decrease slowly. The maximal pregnancy rate is reached around 5 to 7 years in cows. Also fertility could be increased by inseminating only cows in oestrus, proper semen thawing procedures, placement of semen in the uterus rather than cervix or vagina, uterine and clitoral massage following insemination and housing inseminated cows at temperatures below 23°C on the day after insemination (Barth 1993; Hafez and Hafez 2000; Roelofs et al., 2005; Schon et al., 2007; Sturman et al., 2000; Vaneerdenburg et al., 1996). Bovine follicles achieve ovulatory capacity at >10 mm in diameter (Acosta 2007; Bleach et al., 2004; Perry et al., 2007; Sartori et al., 2001; Townson et al., 2002). The timing can be arranged according to dominant follicle size in terms of fertilization. Only a few studies have been carried out on cows to investigate to correlations between follicle size and pregnancy success (Perry et al., 2007; Cavalieri and Fitzpatrick 1995; Mosher et al., 1990; Vasconcelos et al., 2001).

The objectives of the current study were to determine the relations among some clinical signs of oestrus concerning the pregnancy success and to examine whether the oestrus signs especially the ferning of cervical mucus or/and ovulatory follicle sizes have positive effect on pregnancy success in spontaneously oestrus signed and different aged cows, and how it can be guide in decision about the optimal insemination time in field conditions alternatively.

## MATERIALS AND METHODS

This work was carried out in Afyonkarahisar province, Turkey. Oestrus detection was carried out at the clinical unit of Veterinarian Faculty of Afyon Kocatepe University.

### Animals and management

Holstein cows were used in the research as material and all animals were divided into four subgroups consist of (1)  $\leq 3$  years (2) 4-5 years (3) 6-7 years and (4)  $\geq 8$  years considering to the age. First group was consisted of Nulliparous cows and they are not Heifers, and the other groups were consisted of Multiparous cows. Each animal was in oestrus according to the owner, and it was food conventionally. Body conditions of all animals were

subjectively scored from 1 to 5 and animals were neither "emaciated" nor "obese" and all animals were 3-4 "moderate and good".

### Clinical and ultrasonographic observations

The clinical examinations were assessed (Kiddy et al., 1984; Thomas and Dobson 1989; Zartman and Dealba 1982) for vaginal temperature (was recorded directly via thermometer °C), vaginal pH (was measured by pH test paper.) and ferning of cervical mucus (score was calculated from 1 to 3 on mucus dried on a glass slide with light microscope equipment), and also it was observed the Duldungsreflex and the uterine tones were increased in all cows. Ovarian follicular examination was monitored using the method of transrectal ultrasonography (Pierson and Ginther 1988). Ultrasonography was carried out using a real-time B mode ultrasound scanner fitted with a 6 MHz Linear array probe. The dominant follicle sizes were measured, and further to that the uterine bodies were examined appertaining to clarity. It was evaluated excepting the research the uterine body was dirty. In addition, cows with undetected oestrus and variety of other reproductive abnormalities during the research period must be excluded from consideration.

### Artificial insemination and pregnancy success

Clinically oestrus and follicle sized cows that have clear uterine body were artificially inseminated with recto-vaginal method by frozen-thawing semen. Semen which it was produced by official organ The Agriculture Ministry of The Republic of Turkey, were prepared within classical procedure, and also spermatozoa within straw had enough progressive motility. The pregnancy was determined by questioned the owner of cows about returning, and then it was confirmed within period of approximately 60 days after artificial insemination.

### Statistical analysis

All data were presented as mean  $\pm$  Standard Error Mean (SEM) for parametric variables. The comparisons of parameters were performed with the Student's t-test (Table 2) and ANOVA (Analysis of Variance, Table 1, Figure). The relationships between pregnancy and oestrus signs findings were studied by calculating Pearson coefficients. Data were analyzed using the SPSS® for Windows computing program (Version 13.0), and  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

## RESULTS

Characteristics of the visual examination of oestrus signs at insemination times in cows are summarized in Table 1. The general mean values were found as  $5.46 \pm 0.25$  years for age,  $38.77 \pm 0.04$  °C for vaginal temperature,  $7.21 \pm 0.05$  for vaginal pH,  $2.54 \pm 0.06$  for ferning of cervical mucus,  $16.47 \pm 0.24$  mm for ovulatory follicle size and 70.83 % for pregnancy rate

in all cows. According to age value of vaginal pH and pregnancy rates were statistically significant difference in Table 1 ( $p < 0,05$ ). Therefore, the pregnancy rate was significantly higher compare to other age groups between 4-7 years. The vaginal pH value is less than 8 years and older cows. Also values of vaginal temperature, cervical mucus, follicle size do not differ in among the age group ( $p < 0,05$ ). The pregnancy rate and the ultrasonic findings of ovulatory follicle sizes and locations at insemination times in cows are presented in Table 2. The ovulatory follicle was located more often ( $P < 0.01$ ) on the right than the left ovary in all cows. Also, all animals were divided into six subgroups consist of (1)  $< 12.0$  mm (2)  $12.0-13.99$  mm (3)  $14.0-15.99$  mm

(4)  $16.0-17.99$  mm (5)  $18.0-20.99$  mm (6)  $\geq 21.0$  mm considering to the ovulatory follicle sizes. But it was not observed the pregnancy in 1st and 6th groups. Possible associations among the visual examination findings of oestrus signs at insemination time in cows are studied. It was observed positive correlations between pregnancy rates and vaginal temperatures ( $r = 0.661$ ,  $P < 0.05$ , Table 3.), and the ferning of cervical mucus ( $r = 0.732$ ,  $P < 0.01$ , Table 3), and also between the ferning of cervical mucus and ovulatory follicle sizes, and vaginal temperatures ( $P < 0.05$ ) in all animals. But vaginal pH was negatively correlated with pregnancy rate ( $r = -0.507$ ,  $P < 0.05$ , Table 3.).

**Table 1:** Some examinations of oestrus signs at insemination time in different aged cows ( $X \pm S.E.M.$ ).

**Tablo 1:** Farklı yaşlı ineklerde tohumlama zamanında östrus belirtilerinin değerlendirilmesi ( $X \pm S.E.M.$ ).

Agerange	n	Vaginal temperature ( $^{\circ}C$ )	Vaginal pH	Ferning of cervical mucus	Ovulatory follicle size (mm)	Pregnancy rate (%)
$\leq 3$	24	$38.88 \pm 0.10$	$7.21 \pm 0.07^a$	$2.50 \pm 0.12$	$16.25 \pm 0.52$	$62.50^b$
4-5	24	$38.74 \pm 0.07$	$7.23 \pm 0.10^a$	$2.58 \pm 0.12$	$16.42 \pm 0.49$	$83.34^a$
6-7	24	$38.73 \pm 0.08$	$7.27 \pm 0.07^a$	$2.58 \pm 0.12$	$16.63 \pm 0.39$	$79.17^a$
$\geq 8$	24	$38.73 \pm 0.05$	$7.13 \pm 0.11^b$	$2.50 \pm 0.12$	$16.58 \pm 0.51$	$58.33^b$
		NS		NS	NS	

Different superscripts (a and d) within the same showed significant differences among the groups. ( $P < 0.05$ )

**Table 2:** Ovulatory follicle size and location, and pregnancy rates in cows ( $X \pm S.E.M.$ ).

**Tablo 2:** İneklere ovulatuvar folikül büyüklüğü ve konumu, ve gebelik oranları ( $X \pm S.E.M.$ ).

Variable	Right	Left	P value
Location of ovulatory follicle	61.46 %	38.54 %	$< 0.01$
Ovulatory follicle size (mm)	$16.65 \pm 0.29$	$16.19 \pm 0.40$	NS
Pregnancy rate	72.88 %	67.57 %	NS

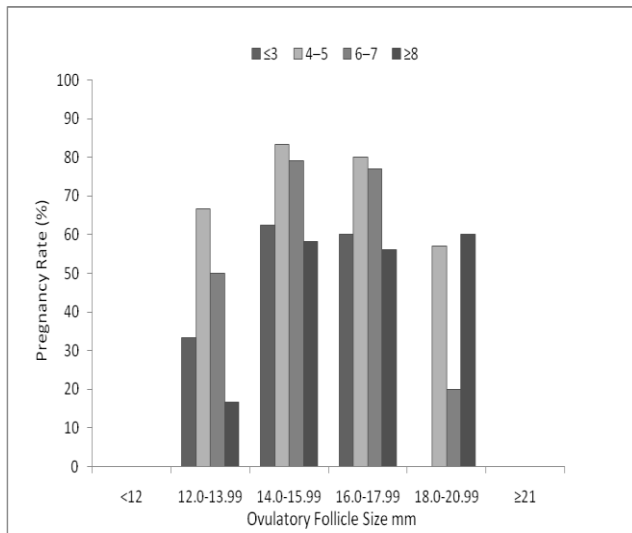
NS, not significant

**Table 3:** Pearson correlation coefficients and probabilities among the clinical parameters and pregnancy rate.

**Tablo 3:** Klinik parametreler ve gebelik oranı arasında Pearson korelasyon katsayıları ve olasılıkları

	Vaginal pH	Vaginal temperature	Ferning of cervical mucus	Ovulatory follicle size	Pregnancy rate
Vaginal pH	-	-	-	-	-
Vaginal temperature	-	-	-	-	-
Ferning of cervical mucus	-	$0.572^{**}$ $P < 0.05$	-	-	-
Ovulatory follicle size	-	-	$0.484^{**}$ $P < 0.05$	-	-
Pregnancy rate	$-0.507^*$ $P < 0.01$	$0.661^{**}$ $P < 0.05$	$0.732^*$ $P < 0.01$	-	-

Only correlation coefficient with  $P < 0.05$  are given



**Figure:** The pregnancy rates of different ovulatory follicle sized and aged cows.

## DISCUSSION

The insemination timing is still a problem particularly in herds under field condition. In practice, several procedures exist for timing of insemination. However, these procedures deliver very different results regarding fertility. Should be the fertility high or low was depended upon that it can be attributed in part to visual oestrus signs examination and follicle sizes evaluation, which led to optimal timing of insemination. The results of the present study indicate that pregnancy rate was noticeably high in cows that were inseminated at visual oestrus signs which degree of the vaginal temperature and ferning of cervical mucus were high and vaginal pH was low (Table 1). The same trends were noted previously for cows as increase in body temperatures and ferning of cervical mucus but also decrease in vaginal pH (Perry et al., 2007; Mosher et al., 1990; Zartman and Dealba 1982; Yoshida and Nakao 2005). However, age was no effect on pregnancy rate in this study and the finding was not in accordance with reference (Hafez and Hafez 2000). The difference may be resulted from limited material and arrangement of the artificial insemination time.

Follicular activity in cattle is known to be greater in the right than the left ovary. This is consistent with the present results as well as those of references (Hafez and Hafez 2000; Townson et al., 2002), in that ovulations occurred more frequently in the right ovary. Indeed, it was observed that approximately 61 % of dominant follicles developed in the right ovary. In contrast, other studies (Ginther et al., 1989; Sirois and Fortune 1988) found no such differences in location of the dominant follicles. These differing results cannot be attributed solely to reproductive status, as the study used cows, whereas the others

used heifers. Of further interest is that in cows of the present study, there was a tendency for pregnancy to increase when ovulation occurred from the right ovary. The reasons for this observation are unclear at this time although it is not due to a higher incidence of fertile oocytes from the right ovary. In fact, the analysis showed that there was no interaction between location of the ovulatory follicle and pregnancy rate (Table 2).

Contributing factors for decreased inseminated pregnancy rates in cows that are subjected to premature oestrus and/or ovulation, ovulation from smaller sized follicles resulting in low lifespan and reduced function of CL or synchronization protocols were asynchrony of follicle wave emergence. The contributing factors from bulls might be differences in post-thaw sperm viability, progression of spermatozoa in the female internal genital tract and the resultant sperm reservoir, capacitation, acrosome reaction and fertilizing capacity (Vasconcelos et al., 2001; Phillips et al., 2004). Short lifespan of the male and female gametes in the female tract necessitate accurate timing of artificial insemination. In cows, delayed ovulation following oestrus minimizes the chances of successful fertilization due to the short fertile lifespan of bovine gametes (Roelofs et al., 2005; Acosta 2007; Dransfield et al., 1988; Walker et al., 1996).

The sperm reservoir serves to maintain the fertility of sperm until ovulation by regulating capacitation and preventing polyspermy. Because the capacitated sperm lifespan is very short, there is a need for continuous release of sperm from the sperm reservoir. This determines the presence of spermatozoa during different stages of capacitation and sperm viability before ovulation thus increasing the odds of fertilization (Kasimanickam et al., 2008). The lifespan of the oocyte is determining factor for successful fertilization, which means the oocyte is waiting for the arrival of eligible sperm. If the oocyte is aged before the arrival of the capable sperm cells than failure of fertilization and/or embryonic development may results. Inadequate oocyte development is another possible explanation for embryonic/fetal mortality when small follicles were induced to ovulate (Acosta 2007; Perry et al., 2007; Knopf et al., 1989). Little is known about variation that exists in oocyte quality among bovine preovulatory follicles. In the present study, spontaneously oestrus and ovulation occurred and the highest pregnancy rates were achieved ( $P < 0.01$ ) in 4-7 years aged cows which were inseminated the ovulatory follicle sizes were ranged from 14 mm to 18 mm (Figure). Consequently, when a follicle has matured and is capable of initiating the cascade of events leading to ovulation, a viable embryo can develop according to follicular size.

The present study evaluated the relationships between the pregnancy rate and the visual examination findings of oestrus signs at insemination times in cows. Especially, pregnancy rates were positively correlated with ferning of cervical mucus ( $P < 0.01$ ). Thus, when a female is about to ovulate, a distinct crystal or “ferning” pattern becomes present in its saliva due to an increase in the hormone estrogen (Hafez and Hafez, 2000; Thomas and Dobson, 1989). According to the result, mucus crystalization test may be offered to breeders and veterinarians a natural and affordable way to increase its chances of pregnancy. Another finding from the present study, ferning of cervical mucus was positively ( $P < 0.05$ ) correlated with vaginal temperature ( $r = 0.572$ ) and ovulatory follicle size ( $r = 0.484$ ) in all animals. It was showed that these findings support the hypothesis that visual estrous signs are indication of the ovulatory follicle size in cows undergoing spontaneous oestrous cycles and the findings were in accordance with the references findings that pregnancy success were correlated with some oestrus signs (Barth 1993; Cavalieri and Fitzpatrick, 1995; Walker et al., 1996; Mihm et al., 1994; Saumande and Humblot, 2005).

In conclusion, pregnancy rate was greater in moderate ovulatory follicle sized cows undergoing spontaneous oestrus period inseminated that vaginal temperature and ferning of cervical mucus were high, and also age effect was no. Therefore, the exhibiting behavioral oestrus can be evaluated together with ovulatory follicle size and ferning of cervical mucus, then arrangement of insemination time may improve pregnancy success. If confirmed on large number and different aged animals from studies, this may have potential practical consequences, and further work is needed to develop new practicable methods for favouring ovulatory follicle size and ferning of cervical mucus estimation. Particularly, should be developed and/or created a practical, diminutive and mobile device insist of microscope equipment to use in veterinary practice for determination of the cervical mucus ferning, it may be guide to arrange of the optimal insemination time and thus pregnancy success may be boosted with using the apparatus.

## REFERENCES

- Acosta TJ.** Studies of follicular vascularity associated with follicle selection and ovulation in cattle. *J. Rep. Dev.* 2007; 53, 39-44.
- Barth AD.** Factors affecting fertility with artificial insemination. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.*, 1993; 9, 275-289.
- Bleach ECL, Glencross BG, Knight PG.** Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reprod.* 2004; 127, 621-629.
- Cavalieri J, Fitzpatrick LA.** Artificial insemination of *Bos indicus* heifers: the effects of body weight, condition score, ovarian cyclic status and insemination regimen on pregnancy rate. *Aust. Vet. J.* 1995; 72, 441-447.
- Dransfield MBG, Nebel RL, Pearson RE, Warnick LD.** Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* 1998; 81, 1874-1882.
- Ginther OJ, Kastelic JP, Knopf L.** Intraovarian relationships among dominant and subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. *Theriogenology.* 1989; 32, 787-795.
- Hafez ESE., Hafez B.** Reproductive Cycles. In: Hafez, B. and Hafez, E.S.E., Eds. *Reproduction in Farm Animals.* 7th ed., Lippincott. 2000; 55-67.
- Kasimanickam R, Hall JB, Currin JF, Whittier WD.** Sire effect on pregnancy outcome in beef cows synchronized with progesterone based ovsynch and co-synch protocols. *Anim. Reprod. Sci.* 2008; 104, 1-8.
- Kiddy CA, Mitchell DS, Hawk HW.** Estrus-related odors in body fluids of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1984; 67, 388-391.
- Knopf L, Kastelic JP, Schallenberger E, Ginther OJ.** Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Dom. Anim. Endoc.* 1989; 6, 111-119.
- Mihm M, Baguisi A, Boland MP, Roche JF.** Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J. Reprod. and Fert.* 1994; 102, 123-130.
- Mosher MD, Ottobre JS, Haibel GK, Zartman DL.** Estrual rise in body temperature in the bovine II. The temporal relationship with ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 1990; 23, 99-107.
- Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, Macneil MD, Geary TW.** Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 2007; 85, 684-689.
- Phillips NJ, McGowan MR, Johnston SD, Mayer DG.** Relationship between thirty post-thaw spermatozoal characteristics and the field fertility of 11 high-use Australian dairy AI sires. *Anim. Reprod. Sci.* 2004; 81, 47-61.
- Pierson RA, Ginther OJ.** Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology.* 1988; 29, 21-37.
- Roelofs JB, Vaneerdenburg FJ, Soede NM, Kemp B.** Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation



- in dairy cattle. *Theriogenology*. 2005; 63, 1366-1377.
- Sartori R, Fricke PM, Ferreira JC, Ginther OJ, Wiltbank MC.** Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol. Reprod.* 2001; 65, 1403-1409.
- Saumande J, Humblot P.** The variability in the interval between estrus and ovulation in cattle and its determinants. *Anim. Reprod. Sci.* 2005; 85, 171-182.
- Schon PC, Hamel B, Puppe B, Tuchscherer A, Kanitz W, Manteuffel G.** Altered vocalization rate during the estrous cycle in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2007; 90, 202-206.
- Sirois J, Fortune JE.** Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 1988; 39, 308-317.
- Sturman H, Oltenacu EAB, Foote RH.** Importance of inseminating only cows in estrus. *Theriogenology*. 2000; 53, 1657-1667.
- Thomas I, Dobson H.** Oestrus during pregnancy in the cow. *Vet. Rec.* 1989; 124, 387-390.
- Townson DH, Tsang PC, Butler WR, Frajblat M, Griel LCJr, Johnson CJ, Milvae RA, Niksic GM, Pate JL.** Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J. Anim. Sci.* 2002; 80, 1053-1058.
- Vaneerdenburg FJ, Loeffler HS, Vanvliet JH.** Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to an old problem. *Vet. Q.* 1996; 18, 52-54.
- Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC.** Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*. 2001; 56, 307-314.
- Walker WL, Nebel RL, Mcgilliard ML.** Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 1996; 79, 1555-1561.
- Yoshida C, Nakao T.** Some characteristics of primary and secondary oestrous signs in high-producing dairy cows. *Rep. Dom. Anim.* 2005; 40, 150-155.
- Zartman DL, Dealba E.** Remote temperature sensing of oestrous cycles in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 1982; 4, 261-267.

## İnek ve Düvelerde Vücut Kondisyon Skoru Değişiminin Postpartum Döneme ve Fertilite Parametrelerine Etkisi

Hatice Esra ÇOLAKOĞLU<sup>1\*</sup>, Şükrü KÜPLÜLÜ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 06110, Ankara/TÜRKİYE

Corresponding author e-mail: canatan@ankara.edu.tr

# Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

### ÖZ

Sunulan çalışmada, düve ve ineklerde doğum anında belirlenen vücut kondisyon skorunun (VKS) postpartum dönemdeki değişiminin puerperal döneme ait fizyolojik ve metabolik bulgular çerçevesinde fertilite parametrelerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Doğum anı VKS değerleri belirlenen *Holstein* ırkı düve (n=20) ve ineklerin (n=20) postpartum 15, 25, 35, 45 ve 55. günlerdeki VKS değerleri, serum esterleşmemiş yağ asitleri (NEFA) ve  $\beta$ -hidroksibütirik asit ( $\beta$ -HBA) düzeyleri değerlendirildi. Anılan günlerde kornu uteri çapları, folikül sayıları, en büyük folikül çapı ve korpus luteum varlığı ultrasonografik olarak belirlendi. Postpartum 25. gün ve tohumlama zamanında uterus mikoorganizma yükü belirlendi. Tüm düve ve ineklerin bazı fertilite parametreleri değerlendirildi. İneklerde, doğum anı ile postpartum muayene günlerinde elde edilen ortalama VKS değerlerinin düvelere göre daha yüksek olduğu saptandı. Postpartum süreçte serum NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeylerinin düvelerde ineklerden daha yüksek olduğu belirlendi. Düvelerde ineklere göre doğum tohumlama aralığı ve doğum-gebe kalma aralığı daha uzun, tohumlama indeksi ise daha yüksek olarak belirlendi. Sonuç olarak; postpartum süreçte düvelerde düşük VKS değerleri ile yüksek NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeylerinin yansıttığı bu negatif metabolik tablonun ineklere göre düvelerde fertiliteyi daha olumsuz etkilediği ve bir sürüde beslenme yönetiminin kalitatif olarak VKS ile, kantitatif olarak da NEFA ve  $\beta$ -HBA ölçümüyle izlenebileceği kanısı oluştu.

**Anahtar Kelimeler:** Enerji Dengesi, Fertilite, İnek, Vücut Kondisyon Skoru

### Effect of Body Condition Score Changes on Postpartum Period and Fertility Parameters in Cows and Heifers

#### ABSTRACT

The current study was aimed to evaluate the effects of changes in body condition score (BCS) at calving during postpartum period on fertility parameters considering puerperal physiology and metabolic traits in heifers and cows. In *Holstein* heifers (n=20) and cows (n=20) determined the BCS at calving; BCS, non esterified fatty acids (NEFA) and  $\beta$  hydroxybutyric acid ( $\beta$ -HBA) levels in days of postpartum 15, 25, 35, 45, 55 of were evaluated. Diameters of uterine horn, follicle numbers, diameters of the largest follicle and the presence of corpus luteum were ultrasonographically defined in mentioned days. Uterine microbiological load in days of insemination and postpartum 25 were evaluated. Some fertility parameters of heifer and cows were defined. The average value of BCS was detected higher in cows than heifers at calving and postpartum examination days. Serum NEFA and  $\beta$ -HBA levels during postpartum were higher in heifers compared to cows. Calving to insemination interval and calving to conception interval were detected longer in heifers than cows as well as insemination index were obtained higher in heifers. In conclusion; lower BCS, higher NEFA and BHBA levels reflecting the negative metabolic status during postpartum had the negative effect on fertility in heifers compared to cows. However, It was considered that nutritional management in herds can be monitored qualitatively with BCS or quantitatively with NEFA and BHBA.

**Key Words:** Energy Balance, Fertility, Cow, Body Condition Score

To cite this article: Çolakoğlu HE , Küplülü Ş. İnek ve Düvelerde Vücut Kondisyon Skoru Değişiminin Postpartum Döneme ve Fertilite Parametrelerine Etkisi. *Kocatepe Vet.J. 2016; 9(3):146-158.*

## GİRİŞ

Fertilite ve sağlığa olan etkilerinden dolayı profesyonel işletmelerde enerji dengesi, bazı metabolit ve hormon düzeylerinin belirlenmesi, canlı ağırlık ölçümü, süt bileşenlerinin ve kuru madde tüketiminin değerlendirilmesi gibi maddi külfeti olan yöntemlerin yanı sıra vücut kondisyon skoru ile de izlenebilmektedir (Chapinal ve ark. 2007, Serbester ve ark. 2012). Vücut kondisyon skoru değişimi, doğum sırasında ve doğumdan sonra oluşacak metabolik ve reproduktif problemler ile fertilite ve süt verimi üzerinde oldukça önemli etkiye sahiptir. Vücut kondisyon skorunun izlenmesi, süt verim potansiyelinin artırılması, üreme hastalıklarının en aza indirgenmesi, işletmenin bakım-idare ve hayvan besleme uygulamalarında ve negatif enerji dengesi (NED) takibinde önemli bir rehber konumundadır (Kadivar ve ark. 2013, Roche ve ark. 2013). Mobilize olan yağ asit miktarını gösteren NEFA ve karaciğerde yağ asitlerinin oksidasyon miktarını yansıtan  $\beta$ -HBA düzeyleri, NED'in şiddeti ve süresine bağlı olarak artış göstermektedir. Bu özellikleri ile NEFA ve  $\beta$ -HBA konsantrasyonları da ineğin NED'e adaptasyon başarısını ölçmede kullanılmaktadır (LeBlanc 2010, Wathes 2012).

İnek ve düvelerde yaşam payı ve süt üretimine bağlı olarak artan enerji ihtiyacının karşılanamaması vücut yağ rezervlerinin tüketilmesine sebep olmakta, bu durum da inek ve düvelerin zayıflamasına ve vücut kondisyon skorlarının düşmesine yol açmaktadır. Doğumdaki VKS'nin ve laktasyon VKS değişimlerinin, süt verimi, üreme ve sağlık sorunları ile ilişkisini belirlemek üzere yapılan çok sayıda çalışmada farklı sonuçlar elde edilmiştir (Kara ve ark. 2013, Meikle ve ark. 2004, Roche ve ark. 2009, Wathes ve ark. 2007a).

Süt verimine verilen önem nedeniyle inek yetiştiriciliğinde genellikle göz ardı edilen düveler, işletmelerin gelecekteki döl verimi ve süt üretim potansiyelini belirleyen ve sürünün devamlılığını sağlayan gruptur. İneğin ilk laktasyon döneminde süt verimi ve üreme konularında göstereceği performans, düve iken büyüme ve gelişmede sağladığı başarı ile doğru orantılıdır. Düveler sürüdeki diğer hayvanlardan 100-150 kg daha az vücut ağırlığına sahipken doğum yaptıklarından ve büyümenin devam etmesinden dolayı ergin ineklerden farklı bakım ve beslemeye ihtiyaç duymaktadırlar (Parker 1994, Roche ve ark. 2007b, Wathes ve ark. 2007a).

Bu çalışmada, sütçü düve ve ineklerde doğum anında belirlenen VKS'nin postpartum (pp) dönemdeki değişiminin uterus involüsyonu ve ovarium işlevlerini içeren pp fizyolojik bulguların yanı sıra serum NEFA ve  $\beta$ -HBA ölçümü ile belirlenen genel metabolik bulgular çerçevesinde fertilite parametrelerine etkisinin araştırılması ve elde edilen bilgilerin reproduktif sürü sağlığı yönetiminde kullanılabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

## MATERYAL VE METOT

### *Hayvan Seçimi ve Grupların Oluşturulması*

Çalışmanın hayvan materyalini, Marmara Bölgesi'nde bulunan, düzenli serolojik kontrolleri ve aşılamaları yapılan, serbest yetiştirme sistemine sahip, yaş ve verim özelliklerine göre total miks rasyon (%67 KM, %14-19 Ham protein, 1,2-1,72 Mcal/kg NEL) ile beslenen, günde iki defa sağılan, bireysel süt verimi yılda 6 ton ve üzeri olan süt ineği işletmesine ait gebe *Holstein* ırkı düve ve inekler oluşturdu. Normal doğum yapan ve pp ilk 2 hafta içinde reproduktif sorun yaşamayan düve (n=20) ve inekler (n=20, 2-4 laktasyon) rastgele seçilerek gruplara dâhil edildi.

### *Vücut Kondisyon Skorunun Belirlenmesi ve Postpartum Dönemde VKS Değişiminin İzlenmesi*

Düve ve ineklerin, doğum anı ve pp 15, 25, 35, 45 ve 55. günlerdeki VKS değerleri Ferguson ve ark. (1994) ile Wildman ve ark.'nın (1982) tanımladığı inspeksiyon ve palpasyon yöntemleri birlikte kullanılarak, önceki verilerden bağımsız aynı kişi tarafından 1,0'den 5,0'e kadar değişen skorlar ile belirlendi. Wildman ve ark.'nın (1982) belirttiği kriterler dikkate alınarak 1,0'den 5,0'a kadar değişen skorlamada; 1,0 zayıf, 3,0 orta ve 5,0 ise obez olarak değerlendirildi. Ferguson ve ark.'nın (1994) tanımladığı yöntem kullanılarak 1,0-5,0 arasında 0,25 puan artışlar ile skorlama yapıldı. Muayene günlerdeki en düşük ve en yüksek VKS değerleri ile ortalama değerler hesaplanarak, pp dönemde grup içi ve gruplar arası VKS değişimleri ortaya kondu. İnek ve düveler pp dönemde VKS kayıplarına (<0,75 ve  $\geq$ 0,75 puan) göre değerlendirildi (Ferguson 1996, Lopez-Gatius ve ark. 2003).

### *Serum NEFA ve $\beta$ -HBA Düzeylerinin Belirlenmesi*

Postpartum 15, 25, 35, 45 ve 55. günlerde sabah sağımını izleyen beslenmeden 2-3 saat sonra (Park ve ark. 2010, Wathes ve ark. 2007a), kuyruk venasından antikoagülsüz tüplere 9 ml'lik kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri 20-60 dk içinde 1300xg devirde ve +4 C°de 10 dk santrifüj edilerek serum örnekleri çıkarıldı. Serum örneklerinde NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeyleri spektrofotometrik yöntemle, Diagnostics NEFA-HR2 (WAKO® USA) ve Diagnostics Ketones, 3-HB (WAKO® USA) ticari kitleri kullanılarak Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında belirlendi (Dole ve Meinertz 1960, Hidaka ve Shigeta 1995, Trout ve ark. 1960).

### *Postpartum Dönemde Yapılan Jinekolojik Muayeneler*

Postpartum 15, 25, 35, 45 ve 55. günlerde, 6,5-7,5 MHz frekanslık lineer rektal prob ile ovariumlardaki rastlantısal olarak en büyük folikül çapı ve 8-25 mm çapa sahip foliküllerin varlığı belirlendi (Kahn 2004, Tanaka ve ark. 2008). Ovaryum muayenelerinde

ovulasyonun göstergesi olarak değerlendirilen korpus luteum varlığı (KL) araştırıldı. Korpus luteum belirlenen olguların siklik aktivite gösterdiği kabul edildi. Önceki muayene günlerinde KL belirlenen olgular, siklik aktiviteye ulaşma oranlarına dâhil edilmedi. Düve ve ineklerin doğum-pp 55. gün arasındaki involüsyon süreçleri, 15, 25, 35, 45 ve 55. günlerde, 5.0 MHz lineer rektal prob kullanılarak, Kamimura ve ark.'nın (1993) tanımladığı yöntemle göre transrektal ultrasonografik muayeneler ile izlendi. Postpartum 25. günde ve ilk tohumlama gününde svap örnekleri Noakes ve ark.'nın (1989) belirttiği şekilde vaginal spekulum yardımıyla servikal aralıktan alınarak Ankara Düzen Norwest laboratuvarına ulaştırıldı. Nutrient agar, Kanlı agar, MacConkey agar ve Eosin metilen blue agarlara ekimler yapılarak, 37 C°'de ve 24-48 saatlik inkübasyonu takiben değerlendirildi. Bakteri identifikasyonu VITEK otomatik bakteri identifikasyon sistemi ile yapıldı.

### **Reproduktif Performansın Değerlendirilmesi**

Düve ve ineklerin pp 55. günden itibaren östrusları belirlenerek suni tohumlama uygulandı. İnek ve düvelerin; doğum-tohumlama aralıkları (Buzağılama tarihi-ilk tohumlama tarihi), doğum-gebe kalma aralıkları (Buzağılama tarihi-gebe kaldığı tohumlama tarihi) ve tohumlama indeksleri (Toplam tohumlama sayısı/Toplam inek sayısı) ortaya kondu (Erdoğan ve Alaçam 2003, Hafez 1987, Hoedemaker ve ark. 2009).

### **İstatistik Analiz**

Değişkenlere ait tanımlayıcı istatistikler yapıldı ve sonuçlar Aritmetik Ortalama ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Standart Hata ( $S_{\bar{X}}$ ) şeklinde gösterildi. Önemlilik testlerine geçilmeden önce değişkenlere ait veri setleri parametrik test varsayımlarından normallik için Shapiro-Wilk testi ile, varyansların homojenliği için ise Levene testi ile kontrol edildi. Ölçüm yapılan her hafta için ayrı ayrı olmak üzere; incelenen değişkenlere ait verilerin, gruplar (İnek vs Düve; VKS<sub>k</sub><0,75 vs VKS<sub>k</sub>≥0,75) arasındaki farklılığını değerlendirmek için Student t testinden (iki ortalama arası farklılığın önem kontrolü) yararlanıldı. Ölçüm yapılan her hafta ve inek ile düveler için ayrı ayrı olmak üzere değişkenler arasındaki ilişki ise, Pearson korelasyon analizi ile incelendi. Çalışmada p<0,05 değeri istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi. İstatistik hesaplamaları için SPSS 14.01 (Statistical Package for the Social Sciences) paket programından yararlanıldı.

## **BULGULAR**

### **Doğum Anı ve Postpartum Dönem Ortalama Vücut Kondisyon Skoru Değerleri**

Düve ve ineklerde doğum anı ile pp muayene günlerinde elde edilen ortalama VKS değerleri ve istatistiki analizleri Tablo 1'de gösterildi. Düvelerde ve ineklerde, doğum anı ile pp muayene günlerinde

elde edilen ortalama VKS değerlerinin gruplar arasında farklılık gösterdiği ve tüm muayene günlerinde ineklerde belirlenen VKS değerlerinin düvelere göre daha yüksek olduğu belirlendi. Her iki grupta da doğum anı ve pp dönem VKS arasında pozitif korelasyonlar belirlendi (Tablo 2). Doğum-pp 55. gün aralığında sadece bir inekte 1,25 puan VKS kaybı olduğu, geri kalan tüm düve ve ineklerde kaybın 1,0 puanı geçmediği tespit edildi. On bir inek ve 6 düvede VKS kaybı <0,75 puan olarak saptandı. Dokuz inek ve 14 düvede de VKS kaybının ≥0,75 puan olduğu belirlendi.

### **Serum NEFA ve β-HBA Düzeyleri**

Düve ve ineklerde belirlenen serum NEFA ve β-HBA düzeyleri ve istatistiki analizleri Tablo 3'de gösterildi.

Doğum anı ve pp 15, 25, 35, 45 ve 55. günlerdeki serum NEFA ve β-HBA değerlerinin gruplar arasında farklılık gösterdiği ve tüm muayene günlerinde düvelerde serum NEFA ve β-HBA değerlerinin ineklere göre daha yüksek olduğu belirlendi. VKS kaybı <0,75 ve ≥0,75 puan olan düve ve ineklerde belirlenen serum NEFA ve β-HBA düzeyleri ve istatistiki analizleri sırasıyla Tablo 4 ve Tablo 5'de gösterildi. Düve ve ineklerin postpartum 15 ve 55. günlerindeki VKS değerleri ile serum NEFA ve β-HBA düzeyleri arasında negatif yönlü korelasyonlar belirlendi (Tablo 6).

### **Muayene Günlerindeki Jinekolojik Muayene Bulguları**

Düve ve ineklerde pp 15, 25, 35, 45 ve 55. günlerde belirlenen 25 mm çapa sahip rastlantısal folikül sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılığın önemli olmadığı belirlendi (p>0,05). Muayene günlerinde belirlenen en büyük folikül çapı farkının gruplar arasında önemli olmadığı görüldü (p>0,05). Postpartum 15. günde 2 inekte KL belirlenirken (%10), bu dönemde düvelerde KL varlığına rastlanmadı. Düvelerde pp ilk KL pp 25. günde ve 2 düvede tespit edildi (%10). Postpartum 35. günde ineklerin %60'ı ve düvelerin de %50'sinin siklik aktivite gösterdiği saptandı. Postpartum dönemde ilk defa KL belirlenmesine dayalı olarak siklik aktivite gösterdiği belirlenen inek sayısının pp 45. gün muayenesinde %100'e ulaştığı saptandı. Düvelerde ise anılan siklik aktivite oranına pp 55 gün muayenesinde ulaşıldığı belirlendi. Muayene günlerinde düve ve inekler arasındaki kornu uteri çapları farkının önemli olmadığı belirlendi (p>0,05). Her iki grupta da VKS'nin rastlantısal folikül sayıları, en büyük folikül çapları ve kornu uteri çapları ile ilişkisinin olmadığı belirlendi (p>0,05). Postpartum 25. günde alınan servikal svap örneklerinde ineklerde izole edilen mikroorganizmalar sırasıyla; *E. coli* (%15), *Gram (+) pyojen koklar* (%10), *Acinetobacter spp.* (%5), *Pasteurella multocida* (%10) ve *Micrococcus spp.* (%5). Düvelerde izole edilen mikroorganizmalar ise sırasıyla; *E. coli* (%25), *Gram (+) pyojen koklar* (%15) ve *Micrococcus spp.* (%10). İlk tohumlama anında alınan

servikal svap örneklerinde ise her iki grupta da herhangi bir mikroorganizma izole edilemedi.

### **Reproduktif Performansın Değerlendirilmesi**

Düve ve ineklerin fertilitite parametreleri karşılaştırıldığında, düvelerde ineklere göre doğum-tohumlama aralığı ( $p < 0,05$ ) ile doğum-gebe kalma aralığı daha uzun ( $p < 0,05$ ) ve tohumlama indeksi daha yüksek ( $p < 0,05$ ) olarak belirlendi (Tablo 7). VKS kaybı  $< 0,75$  puan olan düve ve inekler ile VKS kaybı  $\geq 0,75$  puan olan düve ve ineklerin doğum-tohumlama aralığı, doğum-gebe kalma aralığı ve tohumlama indeksi değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılığın önemli olmadığı ( $p > 0,05$ ) belirlendi (Tablo 8).

### **TARTIŞMA**

Vücut kondisyon skoru, enerji dengesinin pratik ve ucuz olarak izlenmesini sağlayan ve saha koşullarında önemli olan bir yöntemdir (Busato ve ark. 2002, Roche ve ark. 2013, Sakaguchi 2009). İnek yetiştiriciliğinde, reproduktif hayatın bütün evrelerinde VKS'nin belirlenmesi önerilmektedir. Bununla birlikte doğum anı VKS ve erken laktasyon VKS kaybının; süt verimi, fertilitite ve sağlık ile ilişkili olduğu ve daha önemli yer tuttuğu bildirilmiştir (Amer 2008, Jilek ve ark. 2008, Kim ve Suh 2003, Roche ve ark. 2013). Genel olarak doğum için ideal VKS puan aralığının 3,25-3,75 olduğu belirtilmektedir (Byers 1999, Hayırlı ve Çolak 2011, Jones ve Heinrics 2003).

Düve ve ineklerin doğum anı VKS'nin değerlendirildiği çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Primipar ineklerin multipar ineklere göre daha düşük VKS değerine sahip olduğunu belirten çalışmaların (Kara ve ark. 2013, Meikle ve ark. 2004) yanı sıra primipar ineklerin daha yüksek VKS değerine sahip olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Sakaguchi 2009, Wathes ve ark. 2007a). Sunulan çalışmada; düvelerin ortalama doğum anı VKS değeri optimal aralık içinde olmakla birlikte, ineklerin doğum anı VKS değerinden önemli ölçüde düşük olduğu ve elde edilen bu sonucun Kara ve ark. (2013) ile Meikle ve ark.'nın (2004) sonuçlarına paralellik gösterdiği belirlendi. Düvelerin ineklerden farklı olarak devam eden büyümeleri için de ilave enerjiye ihtiyaçları bulunmaktadır. Bu nedenle aynı koşullarda beslenen ve barındırılan inek ve düvelerin enerji ihtiyaçları ile enerji kullanımları da fizyolojik olarak farklı olabilmektedir (Parker 1994, Roche ve ark. 2007b, Wathes ve ark. 2007a). Düvelerin yağ doku rezervi oluşturma oranlarının da buna paralel olarak ineklere göre daha az olacağı ve bu doğrultuda; düve ve inek arasındaki bu fizyolojik farkın doğum anı VKS değeri oluşumunda etkin olabileceği düşünülmektedir. İneklerin VKS değerleri ve değişimleri; genetik, besleme, besinlerden yararlanma, stres ve ırk gibi faktörlerden etkilenmektedir (Dechow ve ark. 2002, Gallo ve ark. 1996, Jilek ve ark. 2008). Bu çalışmada elde edilen

sonuçların; Sakaguchi (2009) ile Wathes ve ark.'nın (2007a) sonuçlarıyla olan farklılığının VKS'yi etkileyen diğer faktörlerden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Süt inekçiliğinde postpartum süreçte belirlenen VKS kayıp puanlarının önemi çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Grant ve Keown 1992, Novakovic ve ark. 2010). Doğum sonrası 0,75 puanı geçmeyen VKS kayıpları ideal olarak tanımlanmaktadır (Grant ve Keown 1992). Şiddetli VKS kaybı olarak tanımlanan 1,0 puanın üstündeki kayıpların fertilitide azalmaya neden olduğu (Amer 2008) ve erken laktasyonda VKS kaybının 1,0 puanı geçmemesi gerektiği bildirilmektedir (Grubic ve ark. 2009, Novakovic ve ark. 2010). Sunulan çalışmada; sadece bir inekte 1,25 puan VKS kaybı olduğu, geri kalan tüm düve ve ineklerde pp VKS kaybının önerilen 1,0 puanı geçmediği belirlendi ve bu çerçevede doğuma ideal değerlerle başlayan çalışma gruplarının erken laktasyon dönemindeki VKS kayıplarının da ideal puanlarda olabileceği düşünülmektedir.

Büyümenin devam ettiği düvelerde ve süt veriminin yüksek olduğu ergin ineklerde; erken laktasyon döneminde enerji ihtiyacına bağlı olarak oluşan VKS kayıpları ve pp VKS değerleri farklılık göstermektedir. Sakaguchi (2009) primipar ve multipar inekler arasında doğumdan pp 3. haftaya kadar VKS açısından önemli fark bulunmadığını ancak 4. haftadan itibaren primipar ineklerde VKS'nin önemli ölçüde yüksek olduğunu bildirmiştir. Wathes ve ark. (2007a) ile Zhang ve ark. (2010) ise primipar ve multipar inekler arasında, erken laktasyon VKS değerleri bakımından farklılık olmadığını bildirmişler; Meikle ve ark. (2004) primipar ineklerin erken pp dönem boyunca multipar ineklere göre daha düşük VKS değerine sahip olduğunu belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada, ineklerin VKS kaybı gösterecek de, tüm muayene günlerinde düvelere göre daha yüksek kondisyona sahip olmaları Sakaguchi (2009), Wathes ve ark. (2007a) ve Zhang ve ark.'nın (2010) sonuçlarından farklılık gösterirken; Meikle ve ark.'nın (2004) sonuçlarına ise benzerlik göstermektedir. Bahsedilen çalışmalarda düveler doğuma daha yüksek kondisyonla girmekte ve laktasyona da yüksek kondisyonla devam etmektedirler. Sunulan çalışmada, Dechow ve ark. (2002), Inchaisri ve ark. (2013), Roche ve ark. (2007a) ile benzer şekilde antepartum VKS'nin, laktasyon VKS değerleri üzerine önemli etkiye sahip olduğu, her iki grupta da doğum anı VKS'nin, pp 15, 25, 35 ve 45. günlerdeki VKS ile pozitif korelasyon içinde olduğu görüldü. Korelasyon analizi sonuçlarına göre doğumda daha düşük VKS'ye sahip olgulara göre doğuma yüksek kondisyonla giren olguların erken laktasyonda da daha yüksek VKS'ye sahip olabileceği, prepartum ve doğum anı VKS değerlerinin, laktasyon seyri üzerine etkili olabileceği düşünülmektedir. Sunulan çalışmada; ineklerin daha yüksek kondisyonla

doğuma girmelerinden dolayı laktasyona da yüksek kondisyonla devam ettikleri ve çalışmalar arasındaki farklılığın bu sebepten kaynaklanmış olabileceği kanısına varıldı.

İneklerin ve büyümesi devam eden düvelerin serum NEFA ve  $\beta$ -HBA seviyelerinin değerlendirildiği çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Meikle ve ark. (2004), primipar ineklerde serum  $\beta$ -HBA ve NEFA düzeyinin daha yüksek olduğunu ve daha uzun süre yüksek düzeylerde kaldığını bildirmişlerdir. Tanaka ve ark. (2008) pp ilk 5 haftada primipar ineklerde serum NEFA düzeyinin daha yüksek seyrettiğini ancak farkın sadece pp 5. haftada önemli olduğunu bildirmişlerdir. Wathes ve ark. (2007a) pp ilk 2 hafta önemli olmakla birlikte, pp 7 hafta boyunca serum  $\beta$ -HBA düzeyinin primipar ineklerde multipar ineklere göre daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Aynı araştırmacılar; primipar ineklerde serum NEFA düzeyinin ise biraz daha yüksek seyrettiğini ancak gruplar arası farklılığın önemli olmadığını belirlemişlerdir. Sunulan çalışmada tüm muayene günlerinde serum NEFA ve  $\beta$ -HBA değerlerinin ineklerle karşılaştırıldığında düvelerde daha yüksek olmasının, düvelerin daha düşük VKS değerine sahip olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Düvelerde serum NEFA ve  $\beta$ -HBA değerlerinin multipar ineklerden daha yüksek olması; Meikle ve ark. (2004) ile Tanaka ve ark.'nın (2008) sonuçlarına paralel iken, Wathes ve ark.'dan (2007a) farklılık göstermektedir. Sunulan çalışmada düve ve ineklerde VKS-NEFA ve VKS- $\beta$ -HBA arasında negatif korelasyon olduğu, düşük VKS değerlerine sahip olan düvelerin daha yüksek mobilizasyona maruz kaldığı ve bu nedenle serum NEFA ve  $\beta$ -HBA değerlerinin daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

Negatif enerji dengesi durumunda, yağ dokuların enerji ihtiyacının karşılanmasında kullanımı ile değişim gösteren VKS, serum NEFA ve  $\beta$ -HBA arasındaki ilişki bilimsel çalışmalarda değerlendirilmiştir. Wathes (2012), serum NEFA ve  $\beta$ -HBA seviyesinin erken laktasyondaki artışının, yağ doku mobilizasyonunun boyutunu ve yağ asitlerinin oksidasyonunu yansıttığını bildirmiştir. Meikle ve ark. (2004) çalışmalarında VKS-NEFA arasında ve VKS- $\beta$ -HBA arasında negatif korelasyon olduğunu belirlemişlerdir. Busato ve ark. (2002) prepartum VKS değeri  $\leq 3,25$  olan inekler ile VKS kaybı  $\geq 0,75$  puan olan ineklerde serum NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeyinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada, inek ve düvelerde pp 15. ve 55. günlerde VKS-NEFA ve VKS- $\beta$ -HBA arasında negatif korelasyon belirlendi. Postpartum dönemde enerji açığının karşılanmasında yağ dokuların lipolizisi nedenli serum NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeylerinin artış gösterdiği ve bu süreçte VKS'nin de değişim gösterdiği görüldü. Postpartum erken dönem olan 15. ve 55. günlerde gözlenen korelasyonlar ile bu dönemlerin daha önemli olduğu ve VKS kaybının serum NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeyine

yansıdığı düşünülmektedir. Ayrıca VKS kaybı  $< 0,75$  olan düve ve ineklerde serum NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeyinin daha düşük olarak belirlenmesi önceki çalışmalara paralel olarak; yüksek VKS kaybının, yüksek serum NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeyi olarak yansıdığını göstermektedir.

Güç doğum, emzirme, yetersiz beslenme, yaş, VKS, çevresel stres ve retensiyon sekondinarum gibi sorunlar ovaryum faaliyetlerini etkileyen faktörler arasında yer almaktadırlar (Meikle ve ark. 2004, Wathes ve ark. 2007b, Zhang ve ark. 2010). Büyümesi devam eden düveler ile ergin inekler arasında ovaryum faaliyetleri arasındaki ilişki bilimsel çalışmalarda araştırılmış, büyük foliküllerin sayısı ve çapına doğum sayısının etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Grimard ve ark. 1995, Tanaka ve ark. 2008, Zhang ve ark. 2010). Sunulan çalışmada; düve ve inekler arasında folikül sayıları ve en büyük folikül çapı bakımından farklılık bulunmaması, önceki çalışmalara paralel olarak doğum sayısının folikül çapı ve sayısı üzerine etkisinin olmadığı şeklinde yorumlanmıştır. Thiengtham ve ark. (2008) pp ilk ovulasyonun 12-15 günlük sürede, Sakaguchi (2011) ise 18. gün civarında olduğunu bildirmiştir. Tanaka ve ark. (2008) ise multipar ineklere ( $17,3 \pm 6,3$  gün) göre primipar ineklerde ( $31,8 \pm 8,3$  gün) ilk ovulasyonun daha geç olduğunu tespit etmişlerdir. Sunulan çalışmada pp 15. gün muayenesinde rastlantısal olarak iki inekte korpus luteum belirlenmesi ve düvelerde ilk korpus luteumun daha geç dönemde belirlenmesi önceki çalışma bulgularına paralellik göstermektedir. Düve ve ineklerde pp 15. günde 1 cm'den büyük folikül bulunması, tüm muayene günlerinde de bu durumun devam etmesi ve pp 55 gün içinde tüm olguların en az bir kez siklik aktivite göstermiş olması düve ve ineklerde ovaryumların aktif olduğu şeklinde yorumlanmıştır. NED durumunda; leptin, insülin ve IGF-1 düzeylerinin düşmesi sonucunda dominant folikülün büyüklüğü ve steroidogenik kapasitesi olumsuz etkilenmekte (Beam ve Butler 1997, Karami-Shabankareh ve ark. 2013, Rizos ve ark. 2008) ve ilk ovulasyon gecikmektedir (Butler 2003, Jolly ve ark. 1995). Enerji dengesi foliküler popülasyonla ilişkilidir ve NED, folikül sayısını ve çapını olumsuz etkilemektedir (Beam ve Butler 1998, 1999, Lucy ve ark. 1991). NED durumunda olan ineklerde IGF-I ve LH konsantrasyonu daha düşüktür ve bu tablo sinerjik etkiyle ovaryum foliküler gelişimini etkilemektedir. Vücut kondisyon skorunda NED'e bağlı olarak değişim görülmektedir. Bu bilgiler ışığında VKS'nin preovülator folikül çapına etkisini araştıran Roche (2006) pp dönemde düşük VKS'ye sahip olan ineklerde dominant folikül çapının daha düşük olduğunu bildirmiştir. Benzer olarak Lents ve ark. (2008) düşük kondisyonlu etçi ineklerde ilk östrus preovülator folikül çapının, orta kondisyonlu ineklere göre daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Varışlı ve Tekin (2011) ise VKS'nin preovülator

folikül büyüklüğüne etkisinin olmadığı sonucuna ulaşmışlardır. Sunulan çalışmada her iki grupta da pp muayene günlerindeki VKS ile folikül çapı arasında ilişki bulunmaması Varışlı ve Tekin (2011)'in sonuçlarına paralellik göstermektedir. Çalışmada elde edilen sonuçların Lents ve ark.'dan (2008) farklı olmasının; iki çalışmada kullanılan inek ırkının farklı olmasından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Çalışma gruplarında pp süreçte VKS değeri 2,5'in altında olan düve ve inek bulunmaması nedeniyle elde edilen sonuçların Roche'nin (2006) bulgularından farklılık gösterdiği düşünülmektedir. Bu çalışmada ayrıca VKS'nin ovaryum faaliyetleri üzerine etkisinin önemsiz olmasının; rastgele seçilen tüm düve ve ineklerin doğuma optimal skorla girmeleri, kabul edilebilir oranlarda VKS kaybı göstermeleri ve bunun yansıması olarak şiddetli NED oluşmamış olmasından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır; çalışmada obez ya da zayıf hayvan bulunmaması ve bir örneğin sağlanmasından da bu durumu etkileyebileceği düşünülmüştür.

Postpartum dönemde reproduktif fonksiyonların yeniden başlaması için uterusun gebelik öncesi hacmine ve fonksiyonlarına dönmesi gerekmektedir. Uterus involüsyonu olarak adlandırılan bu fizyolojik olaya; yaş, ırk, doğum mevsimi, bakım-besleme şekli ve doğum sayısı gibi çok sayıda faktör etki etmektedir (Hajurka ve ark. 2005, Sheldon 2004). Doğum sayısının uterus involüsyonuna etkisinin değerlendirildiği bilimsel çalışmalarda birden fazla doğum yapan ineklerde uterus involüsyonunun tamamlanmasının daha uzun zaman aldığı belirlenmiştir (Ali 1992; Hajurka ve ark. 2005). Zhang ve ark. (2010), gebe kornu uteri involüsyonunun primipar ineklerde daha geç tamamlandığını, bipar ve multipar inekler arasında ise farklılık bulunmadığını bildirmişlerdir. Tennant ve ark. (1967) ise uterus involüsyonunun, yaş ve laktasyon sayısından etkilenmediğini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada, inek ve düvelerde muayene günlerinde ölçülen kornu uteri çapları arasında farklılık bulunmaması, Tennant ve ark.'nın (1967) sonuçlarına paralellik gösterirken, diğer araştırmacıların (Ali 1992, Hajurka ve ark. 2005) sonuçlarından farklılık göstermektedir. Her iki grupta da kornu uteri involüsyonunun fizyolojik sınırlar içinde gerçekleşmesi ve olguların normal doğum yapmış olması bu koşullar altında kornu uteri involüsyonunun doğum sayısından etkilenmeyeceği şeklinde yorumlanmıştır. Sunulan çalışmada ayrıca, pp dönemde uterusun involüsyon bulguları ile VKS değerleri arasında ilişki bulunmama nedeninin; düve ve ineklerin doğuma optimum kondisyonla girmeleri ve ideal tanımlanan puanlarda VKS kaybetmelerine bağlı olarak şiddetli NED oluşmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Sunulan çalışmada pp 25. günde yapılan bakteriyolojik değerlendirmede her iki grupta da izole edilen mikroorganizmaların, tohumlama anında

alınan örneklerde belirlenememesi, inek ve düvelerin uterus savunma sistemi tarafından uzaklaştırıldığı şeklinde yorumlanmıştır. Bakteriyel eliminasyonda güç doğum, retensiyon sekundinarum ve NED önemli rol oynamaktadır (LeBlanc, 2008). Düve ve ineklerin tamamının normal doğum yapan ve retensiyon sekundinarum gelişmeyen olgulardan oluşması ve gerek VKS kayıpları gerekse serum NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeylerine bakılarak şiddetli NED geçirmemiş olmamalarının bakteriyel eliminasyonun başarılı olmasında önemli etkisinin olabileceği düşünülmüştür.

Doğum sayısının fertiliteye etkisini belirlemek için, ergin inekler ve büyümesi devam eden düvelerde doğum-tohumlama aralığı, tohumlama indeksi ve doğum-gebe kalma aralığı gibi fertilité parametreleri üzerine yapılan bilimsel çalışmalarda sonuçlar farklılık göstermektedir. Adrien ve ark. (2011) multipar ineklerin daha iyi reproduktif performansa sahip olduğunu ve siklusa daha erken başladıklarını belirlemişlerdir. Grimard ve ark. (1995) primipar ineklerde LH sekresyonunun daha düşük olduğunu, enerji düzeyinin metabolik durum üzerine etkisinin primipar ineklerde daha önemli olduğunu belirlemişlerdir. Primipar ineklerde doğum-ilk tohumlama aralığının daha uzun olduğu bildirilmektedir (Meikle ve ark. 2004, Tanaka ve ark. 2008). Lee ve Kim (2006) ise doğum sayısının doğum-tohumlama aralığı üzerine etkisinin bulunmadığını bildirmektedir. Sunulan çalışmada; düvelerde belirlenen doğum-ilk tohumlama aralığının ineklerden daha uzun olmasının, önceki çalışmaların (Adrien ve ark. 2011, Meikle ve ark. 2004, Tanaka ve ark. 2008) bulgularına benzer olduğu görüldü. İlk laktasyondaki ineklerde ovaryum faaliyetlerinin daha geç başladığı ve devam eden büyüme nedeniyle ilave enerjiye ihtiyaçları olmasının bu gecikmede rolü olabileceği kanaatine varıldı. Serum NEFA artışı nutrisyonel anöstrus ile ilişkili olmakta (Canfield ve Butler 1990) ve yüksek NEFA düzeyine sahip ineklerde ovaryum aktivitesi gecikmektedir (Bossaert ve ark. 2008, Jackson ve ark. 2011, Vanholder ve ark. 2005). Sunulan çalışmada pp 15-55 gün aralığında düvelerde serum NEFA düzeyinin ineklerden daha yüksek olması, önceki çalışmalara paralel olarak düvelerde ilk tohumlama aralığının daha uzun olduğu ve serum NEFA düzeyinin ovaryum aktivitesini etkileyebileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Doğum-gebe kalma aralığının primipar ve multipar ineklerde değişiminin değerlendirildiği bir çalışmada; doğum-gebe kalma aralığı multipar ineklerde daha uzun olarak bildirilmiştir (Galon ve ark. 2010). Bazı çalışmalarda ise laktasyon sayısının doğum-gebe kalma aralığına etkisinin önemli olduğu, laktasyon sayısı arttıkça doğum-gebe kalma aralığının azalma gösterdiği belirtilmiştir (Erat ve ark. 2013, Gürses ve Bayraktar 2012). Lee ve Kim (2006) ise farklı doğum sayıları ile yaptıkları çalışmada doğum-gebe kalma aralığı açısından farkın bulunmadığını

belirlemişlerdir. Sunulan çalışmada düvelerde belirlenen doğum-gebe kalma aralığının ineklerden daha uzun olmasının, Erat ve ark. (2013), Galon ve ark. (2010) ile Gürses ve Bayraktar'ın (2012) bulgularıyla paralel, Lee ve Kim'in (2003) sonuçlarından ise farklı olduğu görüldü. Çok sayıda faktörün etkili olduğu doğum-gebe kalma aralığının laktasyon sayısı arttıkça azaldığı kanaati oluştu.

VKS'nin, fertilitiyi iyileştirmek adına potansiyel seçim aracı olarak önemli değere sahip olduğu, doğum VKS'nin ve pp dönemdeki VKS kaybının sağlık, fertilitite ve süt verimi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Kadivar ve ark. 2013, Roche ve ark. 2009). VKS kaybı az olan ineklerde ovulasyon daha erken meydana gelmekte ve reproduktif performans daha yüksek olmaktadır (Dochi ve ark. 2010). Optimal reproduktif başarının VKS kaybının 0,5 ve altı olduğunda elde edildiği (Ferguson 1996, Roche 2006) ve 0,5-1,0 puan değerlerindeki VKS kaybının, döl verim özelliklerine olumsuz etkisinin olmadığı (Nebel ve McGillard, 1993) bildirilmektedir. Yaylak (2003) ise, VKS kayıplarının döl verim özellikleri üzerine bir etki meydana getirmediğini belirlemiştir. Ancak en uygun döl verim performansına kayıpların 0,75-1,0 puan olması durumunda ulaşıldığını da bildirmiştir. Sunulan çalışmada doğum-tohumlama aralığı, doğum-gebe kalma aralığı ve tohumlama

indeksi değerlendirildiğinde hem düvelerde hem de ineklerde VKS kaybı  $<0,75$  ve  $\geq 0,75$  puan olan gruplar arasında farklılık bulunmamaktadır.

Düve ve ineklerin doğuma ideal VKS ile girmeleri, pp süreçte oluşan VKS kayıp puanlarının Grubić ve ark. (2009) ile Novakovic ve ark.'nın (2010) önerdiği 1,0 puanı geçmemesi ve Nebel ve McGillard'ın (1993) tanımladığı fertilitite üzerine negatif etkisi bulunmayan 0,5-1,0 puan değerlerinde VKS kaybetmelerinden dolayı; VKS'nin doğum-tohumlama aralığı, doğum-gebe kalma aralığı ve tohumlama indeksi üzerine etkisinin önemsiz olabileceği düşünülmüştür.

Düve ve ineklerde zaman bağımlı metabolik durum, VKS ve reproduktif özelliklerin profillerini detaylı şekilde incelemek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada; düve ve ineklerin laktasyon döneminde enerji kullanımları ve kan metabolitleri farklı olmakta, bu farklılıklar göz önüne alınarak yapılan beslemenin maksimum fertilitite ve metabolik sağlık için gerekli olduğu sonucuna varılmıştır. Doğuma optimal VKS ile giren inek ve düvelerde VKS kayıplarının 0,75-1,0 puan düzeyinde olmasının, arzu edilen döl verim sonuçlarının alınmasını sağlayabileceği belirlenmiştir.

**Tablo 1:** Düve ve ineklere ait doğum anı ve postpartum dönem ortalama vücut kondisyon skoru bulguları (Aritmetik Ortalama ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Standart Hata ( $S_{\bar{X}}$ )).

**Table 1:** Mean body condition scores of heifers and cows at calving and in days of postpartum period (Mean ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Std. Error of Mean ( $S_{\bar{X}}$ )).

Pp Günler	Vücut Kondisyon Skoru		P
	$(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$	$(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$	
	Düve	İnek	
Doğum anı	3,35 $\pm$ 0,06	3,45 $\pm$ 0,06	*
15	2,92 $\pm$ 0,06	3,10 $\pm$ 0,08	*
25	2,71 $\pm$ 0,06	2,91 $\pm$ 0,07	*
35	2,61 $\pm$ 0,05	2,80 $\pm$ 0,07	*
45	2,60 $\pm$ 0,04	2,85 $\pm$ 0,07	*
55	2,63 $\pm$ 0,05	2,95 $\pm$ 0,07	*

\*: p<0,05

**Tablo 2:** Doğum anı ve postpartum dönem vücut kondisyon skoru korelasyon bulguları.

**Table 2:** The correlations of body condition scores at calving and in days of postpartum period.

Dönem	Düve	İnek
	r	r
Doğum Anı-Pp 15	0,773*	0,884*
Doğum Anı-Pp 25	0,690*	0,833*
Doğum Anı-Pp 35	0,605*	0,812*
Doğum Anı-Pp 45	0,561**	0,778*

\*:p<0,05; \*\*: p<0,01



**Table 3:** Döve ve ineklerin postpartum muayene günlerinde belirlenen ortalama serum NEFA (mmol/l) ve  $\beta$ -HBA ( $\mu\text{mol/l}$ ) düzeyleri (Aritmetik Ortalama ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Standart Hata ( $S_{\bar{X}}$ )).

**Table 3:** Mean serum NEFA ( $\mu\text{mol/l}$ ) and  $\beta$ -HBA ( $\mu\text{mol/l}$ ) levels of heifers and cows in days of postpartum period (Mean ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Std. Error of Mean ( $S_{\bar{X}}$ )).

Pp günler	NEFA			$\beta$ -HBA		
	$(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$			$(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$		
	Döve	İnek	p	Döve	İnek	p
15	0,61 $\pm$ 0,05	0,44 $\pm$ 0,03	*	789,75 $\pm$ 35,05	643,75 $\pm$ 38,39	**
25	0,51 $\pm$ 0,04	0,43 $\pm$ 0,03	*	1133,22 $\pm$ 52,83	884,72 $\pm$ 59,30	**
35	0,45 $\pm$ 0,04	0,36 $\pm$ 0,03	*	929,55 $\pm$ 41,51	666,41 $\pm$ 56,62	**
45	0,37 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,03	*	790,85 $\pm$ 30,88	550,71 $\pm$ 39,94	**
55	0,32 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,02	*	701 $\pm$ 29,50	490,05 $\pm$ 31,82	**

\*:p<0,05;\*\*p<0,01

**Table 4:** Postpartum dönemde VKS kaybı <0,75 ve  $\geq$ 0,75 puan olan döve ve ineklerde serum NEFA (mmol/l) seviyeleri (Aritmetik Ortalama ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Standart Hata ( $S_{\bar{X}}$ )).

**Table 4:** Serum NEFA ( $\mu\text{mol/l}$ ) levels of heifers and cows with BCS loss <0,75 and  $\geq$ 0,75 in days of postpartum period (Mean ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Std. Error of Mean ( $S_{\bar{X}}$ )).

Pp günler	Döve ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )			İnek ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )		
	VKS <sub>k</sub> <0,75 (n=6)	VKS <sub>k</sub> $\geq$ 0,75 (n=14)	P	VKS <sub>k</sub> <0,75 (n=11)	VKS <sub>k</sub> $\geq$ 0,75 (n=9)	P
15	0,44 $\pm$ 0,02	0,68 $\pm$ 0,01	*	0,36 $\pm$ 0,01	0,54 $\pm$ 0,04	*
25	0,38 $\pm$ 0,01	0,56 $\pm$ 0,01	*	0,34 $\pm$ 0,02	0,53 $\pm$ 0,06	*
35	0,34 $\pm$ 0,01	0,50 $\pm$ 0,02	*	0,31 $\pm$ 0,02	0,43 $\pm$ 0,06	*
45	0,30 $\pm$ 0,02	0,40 $\pm$ 0,003	*	0,26 $\pm$ 0,02	0,37 $\pm$ 0,03	*
55	0,28 $\pm$ 0,008	0,33 $\pm$ 0,002	ÖD	0,23 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,01	ÖD

\*: p<0,05; ÖD: p>0,05

**Table 5:** Postpartum dönemde VKS kaybı <0,75 ve  $\geq$ 0,75 puan olan döve ve ineklerde serum  $\beta$ -HBA ( $\mu\text{mol/l}$ ) seviyeleri (Aritmetik Ortalama ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Standart Hata ( $S_{\bar{X}}$ )).

**Table 5:** Serum  $\beta$ -HBA ( $\mu\text{mol/l}$ ) levels of heifers and cows with BCS loss <0,75 and  $\geq$ 0,75 in days of postpartum period (Mean ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Std. Error of Mean ( $S_{\bar{X}}$ )).

Pp günler	Döve ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )			İnek ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )		
	VKS <sub>k</sub> <0,75 (n=6)	VKS <sub>k</sub> $\geq$ 0,75 (n=14)	P	VKS <sub>k</sub> <0,75 (n=11)	VKS <sub>k</sub> $\geq$ 0,75 (n=9)	P
15	645,83 $\pm$ 69,5	851,42 $\pm$ 28,2	*	575,45 $\pm$ 29,7	727,22 $\pm$ 66,6	*
25	931,66 $\pm$ 31,4	1219,57 $\pm$ 61,2	*	756,27 $\pm$ 40,1	1041,66 $\pm$ 99,3	*
35	809,5 $\pm$ 43,9	981 $\pm$ 50,8	*	561,90 $\pm$ 33,3	794,11 $\pm$ 91,2	*
45	680,83 $\pm$ 34,1	838 $\pm$ 35,4	*	465,9 $\pm$ 23,9	654,33 $\pm$ 82	*
55	633,83 $\pm$ 29,4	729,78 $\pm$ 37,5	*	434,90 $\pm$ 24,3	557,44 $\pm$ 67	*

\*: p<0,05

**Tablo 6:** Düve ve ineklerin postpartum muayene günlerindeki VKS değerleri ile serum NEFA ve  $\beta$ -HBA düzeyleri arasındaki korelasyon bulguları.

**Table 6:** Correlations of the BCS with serum NEFA and  $\beta$ -HBA levels of heifers and cows in days of postpartum period.

Pp günler	Düve		İnek	
	VKS - NEFA	VKS - $\beta$ -HBA	VKS - NEFA	VKS - $\beta$ -HBA
15	-0,74**	-0,68*	-0,78*	-0,76*
25	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD
35	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD
45	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD
55	-0,50**	-0,59*	-0,62**	-0,63*

\*:p<0,05; \*\*: p<0,01; ÖD: p>0,05

**Tablo 7:** Düve ve ineklere ait fertilité parametreleri (Aritmetik Ortalama ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Standart Hata ( $S_{\bar{X}}$ )).

**Table 7:** Fertility parameters of heifers and cows (Mean ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Std. Error of Mean ( $S_{\bar{X}}$ )).

Fertilité Parametreleri	Düve		İnek	P
	Ortalama ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )		Ortalama ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )	
Doğum-İlk Tohumlama Aralığı (Gün)	91,2 $\pm$ 2,73		64,4 $\pm$ 2,61	*
Doğum-Gebe Kalma Aralığı (Gün)	126,3 $\pm$ 2,23		92,5 $\pm$ 2,65	*
Tohumlama İndeksi (Sayı)	2,2 $\pm$ 0,22		1,8 $\pm$ 0,17	*

\*: p<0,05

**Tablo 8:** Postpartum dönemde VKS kaybı <0,75 ve  $\geq$ 0,75 puan olan düve ve ineklerde fertilité parametreleri (Aritmetik Ortalama ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Standart Hata ( $S_{\bar{X}}$ )).

**Table 8:** Fertility parameters of heifers and cows with BCS loss <0,75 and  $\geq$ 0,75 (Mean ( $\bar{X}$ )  $\pm$  Std. Error of Mean ( $S_{\bar{X}}$ )).

Fertilité Parametresi	Düve ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )			İnek ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )		
	VKS <sub>k</sub> <0,75 (n=6)	VKS <sub>k</sub> $\geq$ 0,75 (n=14)	P	VKS <sub>k</sub> <0,75 (n=11)	VKS <sub>k</sub> $\geq$ 0,75 (n=9)	P
Doğum-tohumlama aralığı (gün)	88,33 $\pm$ 1,38	92,43 $\pm$ 1,32	ÖD	61,0 $\pm$ 2,02	68,67 $\pm$ 1,15	ÖD
Doğum-gebe kalma aralığı (gün)	111,33 $\pm$ 5,71	122,29 $\pm$ 2,72	ÖD	79,20 $\pm$ 4,15	83,25 $\pm$ 3,86	ÖD
Tohumlama indeksi (Sayı)	2,0 $\pm$ 0,26	2,29 $\pm$ 0,13	ÖD	1,78 $\pm$ 0,28	1,91 $\pm$ 0,21	ÖD

ÖD: p>0,05

## KAYNAKLAR

- Adrien ML, Mattiauda DA, Artegoitia V, Carriquiry M, Motta G, Bentancur O, Meikle A.** Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of postpartum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal* 2011; 6:292-299.
- Ali A.** Some studies on the postpartum period in cattle. Master thesis, Faculty of Vet Med, Assiut University, Egypt, 1992.
- Amer HA.** Effect of body condition score and lactation number on selected reproductive parameters in lactating dairy cows. *Global Veterinaria* 2008; 2:130-137.
- Beam SW, Butler WR.** Energy balance and ovarian follicle development prior to first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod.* 1997; 56:133-42.
- Beam SW, Butler WR.** Energy balance, metabolic hormones and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. *J Dairy Sci.* 1998; 81: 121-31.
- Beam SW, Butler WR.** Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J Reprod Fertil Suppl.* 1999; 54:411-424.
- Bossaert P, Leroy JL, de Vliegher S, Opsomer G.** Interrelations between glucose-induced insulin response, metabolic indicators, and time of first ovulation in high-yielding dairy cows. *J Dairy Sci.* 2008; 91:3363-3371.
- Busato A, Faissler D, Kupfer U, Blum JW.** Body condition scores in dairy cows: Associations with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows. *J Vet Med.* 2002; 49:455-460.
- Butler WR.** Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livest Prod Sci.* 2003; 83:211-8.
- Byers DI.** Practical on-farm suggestions for managing body condition, dry matter intake for optimum production, reproduction and health. *Adv Dairy Tech.* 1999; 11:153-169.
- Canfield RW, Butler WR.** Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. *Domest Anim Endocrinol.* 1990; 7:323-330.
- Chapinal N, Veira DM, Weary DM, VonKeyserlingk MAG.** *Technical note:* Validation of a system for monitoring individual feeding and drinking behavior and intake in group-housed cattle. *J Dairy Sci.* 2007; 90:5732-5736.
- Dole VP, Meinertz H.** Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues. *J Biol Chem.* 1960; 235:2595-2599.
- Dechow CD, Rogers GW, Clay JS.** Heritabilities and correlations among body condition score loss, body condition score, production and reproductive performance. *J Dairy Sci.* 2002; 85:3062-3070.
- Dochi O, Kabeya S, Koyama H.** Factors affecting reproductive performance in high milk producing Holstein cows. *J Reprod Dev.* 2010; 56:61-65.
- Erat S, Kalender H, Çelik O.** Siyah alaca ırkı ineklerde laktasyon sayısının ve üreme durumunun pık süt verimi ve bazı döl verim özelliklerine etkisi. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg.* 2013; 53:17-27.
- Erdoğan G, Alaçam E.** Aile tipi sütçü inek işletmelerinde kontrollü tohumlama ile fertilitenin yükseltilmesine ilişkin girişimler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2003; 50:187-193.
- Ferguson JD, Galligan DT, Thomsen T.** Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci.* 1994; 77:2695-2703.
- Ferguson JD.** Implementation of a body condition scoring program in dairy herds. 1996. Erişim: [<http://cahpwww.vet.upenn.edu/pc96/impbcprog.html>]. Erişim tarihi: 28.11.2010.
- Gallo L, Carnier P, Cassandro M, Mantovani R, Bailoni L, Contiero B, Bittante G.** Change in body condition score of Holstein cows as affected by parity and mature equivalent milk yield. *J Dairy Sci.* 1996; 79:1009-1015.
- Galon N, Zeron Y, Ezra E.** Factors affecting fertility of dairy cows in İsrail. *J Reprod Dev.* 2010; 56:8-14.
- Grant R, Keown J.** Feeding dairy cattle for proper body condition score. Cooperative Extension; G92-1070-A, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska-Lincoln, 1992.
- Grimard B, Humblot P, Ponter AA, Mialot JP, Sauvant D, Thibier M.** Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestrodiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *J Reprod Fertil.* 1995; 104:173-179.
- Grubic G, Novakovic Z, Aleksic S, Sretenovic LJ, Pantelic V, Ostojic-Andric D.** Evaluation of the body condition of high yielding cows. *Biotech Anim Husbandry* 2009; 25:81-91.
- Gürses M, Bayraktar M.** Türkiye’de farklı bölgelerde yetiştirilen Holstein sığırlarda bazı süt ve döl verimi özellikler. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg.* 2012; 18:273-280.
- Hafez ESE.** Physiology of reproduction. In: *Reproduction in Farm Animals.* Ed.: Hafez

- ESE, 5th edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1987.
- Hajurka J, Macak V, Hura V.** Influence of health status of reproductive organs on uterine involution in dairy cows. *Bull Vet Inst Pulawy* 2005; 49:53-58.
- Hayırlı A, Çolak A.** İneklerin kuru ve geçiş dönemlerinde sevk-idare ve besleme stratejileri: postpartum süreçte metabolik profil, sağlık durumu ve fertiliteye etkisi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci.* 2011; 2:1-35.
- Hidaka H, Shigeta Y.** Ketone bodies: measurement and its clinical significance. *Nihon Rinsho.* 1995; 53:603-605.
- Hoedemaker H, Prange D, Gundelach Y.** Body condition change ante- and postpartum, health and reproductive performance in German *Holstein* cows. *Reprod Dom Anim.* 2009; 44:167-173.
- Inchaisri C, Chanpongsang S, Noordhuizen J, Hogeveen H.** The association of ruminal pH and some metabolic parameters with conception rate at first artificial insemination in Thai dairy cows. *Trop Anim Health Prod.* 2013; 45:1183-1190.
- Jackson RA, Wills JR, Kendall NR, Green MJ, Murray RD, Dobson H.** Energy metabolites in pre-and postpartum dairy cattle as predictors of reproductive disorders. *Vet Rec.* 2011; 168(21):562-567.
- Jilek F, Pytloun P, Kubesova M, Stipkova M, Bouska J, Volek J, Frelich J, Rajmon R.** Relationships among body condition score, milk yield and reproduction in Chech Fleckvieh cows. *Czech J Anim Sci.* 2008; 53:357-367.
- Jolly PD, McDougall S, Fitzpatrick LA, Macmillan KL, Entwistle K.** Physiological effects of undernutrition on postpartum anestrous in cows. *J Reprod Fertil.* 1995; 49:477-492.
- Jones C, Heinrichs J.** Manual for body condition scoring excel spreadsheet series. DAS 03-60. The Pennsylvania State Univ., University Park, 2003.
- Kadivar A, Ahmadi MR, Vatankhah M.** Associations of prepartum body condition score with occurrence of clinical endometritis and resumption of postpartum ovarian activity in dairy cattle. *Trop Anim Health Prod.* 2013; 46(1):121-126.
- Kahn W.** Ultrasonography in the cow, In: *Veterinary Reproductive Ultrasonography*, Ed; Kahn W, Schlutersche Verlagsgesellschaft mbH and Co, Hannover. 2004; pp. 83-184.
- Kamimura S, Tsutomu O, Masanobu T, Tatsushi T.** Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in *Holstein* cows. *J Vet Med Sci.* 1993; 55:643-647.
- Kara N, Bounechada M, Chaib BC.** Effect of body condition score and parity on resumption of postpartum ovarian activity in Montberliard dairy cows in Algerian Semi-Arid Area. *J Anim Sci Adv.* 2013; 3:48-57.
- Karami-Shabankareh H, Kafilzadeh F, Piri V, Mohammadi H.** Effects of feeding dry glycerol to primiparous *Holstein* dairy cows on follicular development, reproductive performance and metabolic parameters related to fertility during the early post-partum period. *Reprod Dom Anim.* 2013; 48(6):945-953.
- Kim IH, Suh GH.** Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in *Holstein* dairy cows. *Theriogenology* 2003; 60:1445-1456.
- LeBlanc SJ.** Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. *Vet J.* 2008; 176:102-114.
- LeBlanc SJ.** Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J Reprod Dev.* 2010; 56: 29-35.
- Lee JY, Kim IH.** Advancing parity is associated with high milk production at the cost of body condition and increased periparturient disorders in dairy herds. *J Vet Sci.* 2006; 7:161-166.
- Lents CA, White FJ, Ciccioli NH, Wettemann RP, Spicer LJ, Lalman DL.** Effects of body condition score at parturition and postpartum protein supplementation on estrous behavior and size of the dominant follicle in beef cows. *J Anim Sci.* 2008; 86:2549-2556.
- Lopez-Gatius F, Yaniz J, Madrileshelm D.** Effects of body condition score and change on the reproductive performance of dairy cows: A meta-analysis. *Theriogenology* 2003; 59:801-812.
- Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW.** Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *J Dairy Sci.* 1991; 74:473-482.
- Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D.** Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction* 2004; 127:727-737.
- Nebel RL, McGilliard ML.** Interactions high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1993; 76:3257-3268.

- Noakes DE, Till D, Smith GR.** Bovine uterine flora postpartum: a comparison of swabbing and biopsy. *Vet Rec.* 1989; 124:563-564.
- Novakovic Z, Sretenovic LJ, Aleksic S, Petrovic MM, Pantelic V, Ostojic-Andric D, Niksic D.** Body condition of cows in production cycle. *Biotech. Anim. Husbandry* 2010; 26:309-318.
- Park AF, Shirley JE, Titgemeyer EC, Cochran RC, DeFraain JM, Wickersham EE, Johnson DE.** Characterization of plasma metabolites in Holstein dairy cows during the periparturient period. *Int. J Dairy Sci.* 2010; 5:253-263.
- Parker R.** Using body condition scoring in dairy herd management. 1994, <http://www.gov.on.ca/OMAFRA/english/livestock/dairy/facts/94-053.htm>; Erişim Tarihi: 23.08.2010.
- Rizos D, Kenny DA, Griffin W, Quinn KM, Duffy P, Mulligan FJ, Roche JF, Boland MP, Lonergan P.** The effect of feeding propylene glycol to dairy cows during the early postpartum period on follicular dynamics and on metabolic parameters related to fertility. *Theriogenology* 2008; 69:688-699.
- Roche JF.** The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci.* 2006; 96:282-296.
- Roche JR, Friggens NC, Kay JK, Fisher MW, Stafford KJ, Berry DP.** (2009). Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J Dairy Sci.* 2009; 92:5769-5801.
- Roche JR, Kay JK, Friggens NC, Looor JJ, Berry DP.** Assessing and managing body condition score for the prevention of metabolic disease in dairy cows. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2013; 29:323-336.
- Roche JR, Berry DP, Lee JM, Macdonald KA, Boston RC.** Describing the body condition score change between successive calvings: a novel strategy generalizable to diverse cohorts. *J Dairy Sci.* 2007a; 90:4378-4396.
- Roche JR, Macdonald KA, Burke CR, Lee JM, Berry DP.** Associations among body condition score, body weight and reproductive performance in seasonal calving dairy cattle. *J Dairy Sci.* 2007b; 90:376-391.
- Sakaguchi M.** Differences between body condition scores and body weight changes in postpartum dairy cows in relation to parity and reproductive indices. *Can Vet J.* 2009; 50:649-653.
- Sakaguchi M.** Practical aspects of the fertility of dairy cattle. *J Reprod Dev.* 2011; 57:17-33.
- Serbester U, Çınar M, Hayırlı A.** Sütçü ineklerde negatif enerji dengesi ve metabolik indikatörleri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2012; 18:705-711.
- Sheldon IM.** The postpartum uterus. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2004; 20:569-591.
- Tanaka T, Arai M, Ohtani S, Uemura S, Kuroiwa T, Kim S, Kamomae H.** Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2008; 108:134-143.
- Tennant B, Kendrick JW, Peddicord RG.** Uterine involution and ovarian function in the postpartum cow. A retrospective analysis of 2,338 genital organ examination. *Cornell Vet.* 1967; 57:543.
- Thiengtham J, Parkinson T, Holmes C.** Postpartum follicular and luteal activity in *Holstein-Friesian* cows genetically selected for high or low mature bodyweight: relationships with follicle stimulating hormone, insulin, insulin-like growth factor-1 and growth hormone. *N Z Vet J.* 2008; 56:310-318.
- Trout DL, Estes EH, Friedberg SJ.** Titration of free fatty acids of plasma: a study of current methods and a new modification. *J Lipid Res.* 1960; 1:199-201.
- Vanholder T, Leroy JL, Dewulf J, Duchateau L, Coryn M, de Kruif A, Opsomer G.** Hormonal and metabolic profiles of high-yielding dairy cows prior to ovarian cyst formation or first ovulation post partum. *Reprod Dom Anim.* 2005; 40:460-467.
- Varışlı Ö, Tekin N.** Holştayn ırkı ineklerde vücut kondisyon skorunun fertilitate ve bazı reproduktif parametrelere etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2011; 58:111-115.
- Wathes DC, Cheng Z, Bourne N, Taylor VJ, Coffey MP, Brotherstone S.** Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domest Anim Endocrinol.* 2007a; 33:203-225.
- Wathes DC, Fenwick M, Cheng Z, Bourne N, Llewellyn S, Morris DG, Kenny D, Murphy J, Fitzpatrick R.** Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. *Theriogenology* 2007b; 68:232-241.
- Wathes DC.** Mechanisms linking metabolic status and disease with reproductive outcome in the dairy cow. *Reprod Dom Anim.* 2012; 47:304-312.
- Wildman EE, Jones GM, Wagner PE, Boman RL, Trout HF, Lesch TN.** A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J Dairy Sci.* 1982; 65:495-561.

- Yaylak E.** Siyah alaca ineklerde döl verimi özelliklerine vücut kondisyon puanının etkisi. Hayvansal Üretim 2003; 44:44-51.
- Zhang J, Deng LX, Zhang HL, Hua GH, Han L, Zhu Y, Meng XJ, Yang LG.** Effects of parity on uterine involution and resumption of ovarian activities in postpartum Chinese Holstein dairy cows. J Dairy Sci. 2010; 93:1979-1986.

## A serologic investigation for Equine Viral Arteritis and Equine Infectious Anemia Virus Infections in Horses in Afyonkarahisar, Ankara and Eskişehir Provinces, Turkey

Duygu BAKİ ACAR<sup>1</sup>, Sibel GÜR<sup>2\*</sup>, Metin GÜRÇAY<sup>3</sup>, Erhan ÖZENÇ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynaecology, 03200, Afyonkarahisar /TURKEY

<sup>2</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, 03200, Afyonkarahisar /TURKEY

<sup>3</sup>Bingöl University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, 12000, Bingöl /TURKEY

Corresponding author e-mail: sibelgur@aku.edu.tr

### ABSTRACT

Equine arteritis virus (EAV) was classified in the *Arteriviridae* family, and cause to abortus and disorders in alimentary and respiratory system. Equine Infectious Anemia virus (EIAV) is a *Lentivirus* into *Retroviridae* family. Both infections have worldwide dissemination. The aim of this study is to investigate these infections as serologically in horses from Ankara, Eskişehir and Afyonkarahisar provinces. A total of 204 (173 female, 31 male) samples were controlled using indirect ELISA. EAV specific antibodies were detected in 22 (10.8%) animals (20 female and 2 male). The ratios of EAV seropositive horses were 4.2% and 12.4% in the Afyonkarahisar and Eskişehir provinces, respectively, while all the sera samples were found to be negative from Ankara province. All of the samples were negative for EIAV as expected. As a result, both virus infections were investigated for the first time in the horse population in Afyonkarahisar and Eskişehir provinces.

**Key Words:** ELISA, Equine Infectious Anemia Virus, Equine Viral Arteritis, Horse

## Türkiye’de Afyonkarahisar, Ankara ve Eskişehir İllerinde Equine Viral Arteritis ve Equine Infectious Anemia Virus Enfeksiyonlarının Serolojik Olarak Araştırılması

### ÖZ

Equine Arteritis Virus (EAV), Arteriviridae ailesi içinde sınıflandırılmakta ve abortus ile sindirim ve solunum sistemi bozukluklarına neden olmaktadır. Equine Enfeksiyöz Anemi Virüsü (EIAV) ise bir *Lentivirus*’dur ve *Retroviridae* ailesi içinde yer almaktadır. Her iki enfeksiyon da dünya çapında yayılım göstermektedir. Sunulan çalışmanın amacı, bu enfeksiyonların Ankara, Eskişehir ve Afyonkarahisar illerinde bulunan atlarda serolojik olarak araştırılmasıdır. Toplam 204 (173 dişi, 31 erkek) adet örnek indirekt ELISA kullanılarak test edildi. Alınan örneklerin 22 adetinde (%10.8; 20 dişi, 2 erkek) EAV spesifik antikör tespit edildi. Afyonkarahisar ve Eskişehir’den alınan at serumlarında EAV seropozitif örnek oranı sırasıyla %4.2 ve %12.3 olarak belirlenirken, Ankara’dan alınan örneklerin tamamının negatif olduğu tespit edildi. Tüm serum örneklerinin EIAV test sonuçları beklenildiği üzere negatif olarak saptandı. Sonuç olarak, bu çalışma ile Afyonkarahisar ve Eskişehir’de bulunan at populasyonunda her iki virus enfeksiyonu ilk kez araştırılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** ELISA, Equine Infectious Anemia Virus, Equine Viral Arteritis, At

To cite this article: **Baki Acar D, Gür S, Gürçay M, Özenç E.** A serologic investigation for Equine Viral Arteritis and Equine Infectious Anemia Virus Infections in Horses in Afyonkarahisar, Ankara and Eskişehir Provinces, Turkey. *Kocatepe Vet J.* 2016; 9(3):159-164.

## INTRODUCTION

Equine arteritis virus (EAV) was classified in the *Arteriviridae* family, in order *Nidovirales* (Snijder and Meulenberg, 1998; Cavanagh et al. 1999). The agent is an enveloped, single stranded, positive sense RNA virus. The infection was well documented in horses since first identification in USA in 1953 (Bryans et al. 1957). Worldwide disseminated infection was not reported from Japan and Iceland (Kondo et al. 1998; Holyoak et al. 2008). Donkeys, mules and alpacas are also susceptible to the virus (Paweska and Barnard 1993; Paweska et al. 1996; Paweska et al. 1997; Weber et al. 2006). The pathogenetic features of the infection are well-documented in horses (Timoney et al. 1986, 1987; Del Piero et al. 1997). The infection described as “abortion storm”. The agent can be transmitted via venereal and horizontal way. Experimental infections shows that, alimentary and respiratory disorders are common (Timoney and McCollum 1993, Del Piero et al. 1997). Low level of virus was detected in ovarian tissue and follicular fluid of mares (Holyoak et al. 2001). There were controversial findings about histopathological basis of abortion. Viral antigen was demonstrated within smooth muscle cells of the myometrium (Wada et al. 1995) and areolar trophoblast (Del Piero et al. 1997). This hypothesis was supported by some studies with no lesions on the fetal tissues. However, MacLachlan et al. (1996) were reported that, virus titer values of aborted fetuses were higher than its dams. This evidence indicated that there was substantial virus replication in the fetus. Outcomes of these studies reveal that combination of both maternal and fetal pathologies resulted with abortion.

Equine Infectious Anemia virus (EIAV) is widespread infection of horses and all equidae. The agent was classified into the family *Retroviridae*, genus *Lentivirus*. As typical *Lentivirus*, the target cells were monocytes and macrophages (Montagnier 1985). The horizontal transmission of the EIA virus from one horse to another occurs by bloodsucking insects (Issel and Foil, 1984). The most important transmission ways of the virus are blood transfer from infected to healthy horse and placental transmission from infected mares to their offspring by vertically. In addition, the virus could be transmitted to the foals via infected milk consuming from their mother or nursing (Stein and Mott 1946, 1947). In vitro embryo production procedure has been using more common recently, but a potential risk via infected embryo transfer was shown (Gregg and Polejaeva 2009). Tissue distribution of the virus is broad; including liver, spleen, kidney, lung, lymph node and adrenal gland (McGuire et al. 1971). Clinical courses of the EIAV infection can be seen as acute, chronic and subclinical forms. After nearly two months later, the first findings can be observed as a high fever, a drop in platelet and a high virus

titer in the body. Later on, chronic stage starts with recurrent disease episodes. These animals became carrier following chronic period for rest of their life (Montelaro et al. 1993).

According to scientific reports conducted in many parts of Turkey, EVA rates were varied between 5% (Yılmaz et al. 1996) and 23.4% (Bulut et al. 2012). Turkey seems free from EIAV infection in accordance with numerous studies into last two decades (Burgu et al. 1989; Turan et al. 2002, Yapıkçı et al. 2007; Marenzoni et al. 2013).

The purpose of this study is to investigate the EAV and EIAV infections serologically in Ankara, Eskişehir and Afyonkarahisar provinces in horses and to reveal first data on presence and proportion in Afyonkarahisar and Eskişehir provinces.

## MATERIALS AND METHODS

### Sampled Animals

Blood serum samples were collected from different locations from Afyonkarahisar (38°45'N-30°33'E), Ankara (39°56'N-32°52'E) and Eskişehir (39°46'N-30°22'E) provinces, Turkey. All of the sampled horses were randomly selected among adults (older than 1 year old). Due to general breeding aim and habits, out of 204 animals only 31 was stallion.

The samples were collected from private small and medium scale enterprises. Breeding aim was different; horse racing, stud animals, companion horses and pack horses in rural areas of these provinces. A part of horses were standard bred and Arabian race horses, however, nearly 60% of the animals have been breeding in an organized purebred stud farm.

All animals were clinically normal during sampling. Detailed health records could not obtained from standard bred horses due to the lack of regular health recording system. Any preventive health applies like vaccination has not been applying due to unprofessional breeding habits. In the other organized farms, routine vaccinations have been performing for some viral and bacterial infections, as Equine Herpes Virus 1/4 (EHV1/4), Equine Rhinopneumonitis, Antrax, etc. All of the animals were not vaccinated for EVA. EIA virus had eradicated from Turkey previously, by the way there is no vaccination protocol in the throughout country. Blood samples were drawn from Vena Jugularis into vacutainer tubes containing silicone, and transported to the laboratory at +4°C. The blood samples were centrifuged at 3000 rpm for 10 min. and serum fractions were separated into stock tubes, and stored at -20°C until the test.

### Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Sera samples were controlled for EVA virus specific Ab using an indirect ELISA test (ID Vet, France), and for EIA virus specific Ab detection, a



competitive EIA (IDEXX, USA) kit was utilised. The tests were carried out according to producer's instructions. The plates were read in 450 nm, and each OD values were calculated.

## RESULTS

A total of 204 horses were tested for EAV and EIA virus. The antibodies against EAV were detected in 22 (10.8%) animals (20 female and 2 male). The ratios of seropositive horses were 4.2% and 12.4%, in the Afyonkarahisar and Eskişehir provinces, respectively, while all the sera samples were found to be negative from Ankara province. EIAV specific antibodies were not detected in any of the studied horses.

**Table 1:** Serological test results of EVA and EIA infections

**Tablo 1:** EVA ve EIA enfeksiyonların serolojik test sonuçları

No	Localisation	Animal Number	EVA (Ab/%)	EIA (Ab/%)
1	Ankara	11	-	-
2	Afyon	24	1(4.2)	-
3	Eskişehir	169	21 (12.4)	-
	Total	204	22 (10.8)	-

## DISCUSSION

EVA infection has important impact on gynaecologic parameters. The infection was described with abortion and newborn deaths (Bryans et al. 1957, Newton et al. 1999), and has nearly world-wide dissemination (Timoney and McCollum 1988). There was an increase in outbreaks in last decades especially in Europe, such as England (Newton et al. 1999) and France outbreaks (Pronost et al., 2010). In Germany, seroprevalence was risen up to 20% from 1.8%, between 1987 and 1994 (Eichorn et al. 1995). Reported serologic data; 55.1% in Poland (Rola et al. 2011), 15% in Mongolia (Pagamjav et al., 2011), 73% in Australia (Huntington et al. 1990). According to a recent study in Iran, EVA antigen and antibody presence were reported as 4.46% and 4.04% in 470 horses, respectively (Nejat et al. 2015).

There is no data on initial entrance of the EAV infection in Turkey. All scientific reports on the issue were carried out in last two decades. According to chronological order; 5% in 1996 (Yılmaz et al. 1996), 9.5% and 8% values were reported in Kars and Ardahan provinces (Kırmızıgül et al. 2007), 7.5% in the Marmara region (Hasan 2008), 14.4% in donkeys in Kars (Yıldırım et al. 2008), 23.4% in Central Anatolia (Bulut et al. 2012), 8.4% in Şanlıurfa (Ün et al. 2014) and 11.3% in Van (Gür et al. 2015). In this study, out of three studied province, seropositivity were determined in two. All of the samples from

Ankara was found to be negative, while 4.2% (1/24) and 12.4% (21/169) proportions were determined in Afyonkarahisar and Eskişehir provinces, respectively. In total, out of 204 adult horses, 22 of them (10.8%) were spent natural EVA infection. Previously, Bulut et al. (2012) were studied in Konya (19.2%, 40/208), Kayseri (34%, 30/88) and Ankara (22.6%, 19/84). The higher rate of their study in Ankara could be explained by differences in sampled population. In addition, the number of sampled animals was low in our study; obtained data from Ankara was not enough to make a healthy evaluation.

The virus could be taken via direct contact with respiratory fluids, fomites, aerosol way and semen from acute infected animals and/or carrier stallions (Guthrie et al. 2003). After primary replication, viremia occurs and the virus is spread to lung and bronchial lymph nodes within 2 days post infection (pi). The agent can be isolated from buffy coat and other secrets on days 2-28 pi (Timoney and McCollum 1993). After acute infection, mares and geldings eliminate the virus within maximum 60 days. Seldomly, carrier state can be seen in respiratory system in prepubertal colts until 6 months old age. However, nearly 30-60% of the infected stallions could be stay carrier for a long time or lifetime. They shed the virus in the semen, but not in blood, respiratory secretions and urine (Timoney et al. 1986; Neu et al. 1987). This situation restricts the international horse movements and semen importation without laboratory controls in most of the countries of the world (Ahlsvede et al. 1998; Balasuriya et al. 1998). The role of imported stallions or frozen semen in the outbreaks was outlined by many researchers (Metcalf 2001). In the present study, all of the mares were breeding by stallions naturally; artificial insemination was not in question. Breeding practices were totally traditional in the small private farms. Stallions can be used from the other stud farms in natural breeding season, also. In the organized horse farm, there were very few numbers of stallions but they have been keeping in separate units from the mares. According to transmission dynamics, incidence can be increase rapidly within farms. Horse racing conditions and contact with other horses in course of usage as a pack animal during daily works creates risk for exposure. Therefore, all of the transmission ways stated above could be valid in the sampling performed farms in this study. Because of horse breeding practices in Turkey, mares have been preferred for their mild temperament for the pack animal; this predilection was not valid in the purebred race horse farms.

EIAV infection was described initially in 1843 (Lignee 1843), later on, the clinical features was well defined in 1904 (Vallee and Carre, 1904). Today, the infection has been declared from America, parts of Europe, the Middle and Far East, Russia and South

Africa (APHIS 2006, DEFRA 2006). In Turkey, the first declaration of the EIA was in a horse according to pathological findings in Ankara (Akçay 1953). The first outbreak was reported in 1952 in Sultansuyu state stud horse farm (Noyan 1958). In 1955, the infection was also detected in horses from different locations histopathologically (Hakioğlu 1955). After that, the infection was disappeared as a result of implemented proper precautions strictly, as it's supposed to be. Years later the infection was studied as serologically from various part of Turkey. Total of 294 sera from pure bred horse breeding state farms were found to be negative (Burgu et al. 1989). Following studies conducted on horse, mule and donkeys; 404 sera from Marmara Region (Turan et al. 2002), 406 serum from Central Anatolia (Yapıkçı et al. 2007), 476 samples from North-East Anatolia (Kırmızıgül et al. 2009), 8.947 samples from Ardahan province (Albayrak and Ozan, 2010) and 346 samples from provinces at Marmara and Aegean Regions (Marenzoni et al. 2013) were controlled for EIA and all of them were verified as negative. In the present study, all of the samples from different farms in three provinces were determined as negative for the EIAV infection as expected.

EVA outbreaks could be seen time to time despite strict control measurement like vaccination, controlled semen usage, to prevent the importation of uncontrolled horses and testing all breeding stallions in developed countries. In Turkey, organized pure bred stud horse farms have been taking all necessary precautions. Even though total eradication has not been succeeded, economic and fertility disorders were reduced as much as possible.

EIAV infection has not seen since mid 1950's, although considering newly introduced arboviral infections and increase in incidence of vector borne infections in Turkey, there might be risk for following years via live animal transportation and widen in vector habitat. Countrywide routine health monitoring survey system has not been held as it should be. Traditional breeding habits in rural areas in horses and donkeys creates obstacle in front of the control and total eradication of these and similar infections in the country.

#### REFERENCES

**Ahlswede L, Leyk W, Zurmuhlen K.** Studies on equine viral arteritis: serological investigations, virus detection in semen and aborted fetuses, and vaccination. *Prakt Tierarzt.* 1998; 24:18-25.

**Akçay S.** Yurdumuz atlarında anemi enfeksiyözün zuhuru ve anatomo-histopatolojik teşhisinin değeri. *Türk Vet Hek Dern Derg.* 1953; 76-77:479-505.

**Albayrak H, Ozan E.** Serosurveillance for equine viral infectious anemia in Ardahan province of Turkey. *Trop Anim Health Prod.* 2010; 42(8):1593-1595.

**APHIS.** Equine infectious anemia: uniform methods and rules effective. The United States

Department of Agriculture Publications, 2006, USA.

**Balasuriya UB, Evermann JF, Hedges JF, McKeirnan AJ, Mitten JQ, Beyer JC, McCollum WH, Timoney PJ, MacLachlan NJ.** Serologic and molecular characterization of an abortigenic strain of equine arteritis virus isolated from infective frozen semen and an aborted equine fetus. *J Am Vet Med Assoc.* 1998; 213:1586-9, 1570.

**Bryans JT, Doll ER, Knappenberger RE.** An outbreak of abortion caused by the equine arteritis virus. *Cornell Vet.* 1957; 47(1):69-75.

**Bulut O, Yavru S, Yapıcı O, Kale M, Avcı O.** The serological investigation of Equine Viral Arteritis infection in Central Anatolia of Turkey. *J Anim Vet Adv.* 2012; 11(7):924-926.

**Burgu İ, Akça Y, Toker A, Alkan F.** Atlarda enfeksiyöz aneminin serolojik olarak araştırılması. *A Ü Vet Fak Derg.* 1989; 36(1):123-128.

**Cavanagh D.** Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. *Arch Virol.* 1999; 142(3):629-633.

**DEFRA.** Equine infectious anemia: potential risk factors for the introduction of the virus the Great Britain from EU member states and countries neighbouring the EU. *International Disease Monitoring Units Qualitative Risk Assessment.* 2006, 1:1-16.

**Del Piero F, Wilkins PA, Lopez JW, Glaser AL, Dubovi EJ, Schlafer DH, Lein DH.** Equine arteritis virus in newborn foals: clinical, pathological, serological, microbiological and immunohistochemical observations. *Equine Vet J.* 1997; 29(3):178-185.

**Eichhorn W, Heilmann M, Kaaden OR.** Equine viral arteritis with abortions: serological and virological evidence in Germany. *J Vet Med* 1995; 42:574-576.

**Gregg K, Polejaeva I.** Risk of equine infectious anemia virus disease transmission through in vitro embryo production using somatic cell nuclear transfer. *Theriogenology,* 2009; 72(3):289-299.

**Guthrie AJ, Howell PG, Hedges JF, Bosman AM, Balasuriya UB, McCollum WH, Timoney PJ, MacLachlan NJ.** Lateral transmission of equine arteritis virus among Lipizzaner stallions in South Africa. *Equine Vet J.* 2003; 35(6):596-600.

**Gür S, Çabalar M, Kaya A, Gürçay M.** Van ilinde equine viral arteritis enfeksiyonunun serolojik olarak araştırılması. *Kocatepe Vet J.* 2015; 8:36-40.

**Hakioğlu F.** Yurdumuz atlarında anemia infectiose hastalığının teşhisi için karaciğerde histopatolojik araştırmalar. *A Ü Vet Fak Yay.* 1955; No:61. A Ü Basımevi, Ankara.

- Hasan S.** Investigations on the frequency and diagnosis of Equine Arteritis Virus (EAV) infection in horses by virus isolation, molecular and serological techniques in the Marmara region. PhD thesis. Istanbul University Health Science Institute, Turkey, 2008.
- Holyoak GR, Knight-Sherod J, Timoney PJ, McCollum WH, Spatz M.** The presence of equine viral arteritis in reproductive tissues and follicular fluid from experimentally infected mares. In: Proceedings of the Society for Theriogenology Conference, p. 6.
- Holyoak GR, Balasuriya UBR, Broaddus CC, Timoney PJ.** Equine viral arteritis: Current status and prevention. *Theriogenology* 2008; 70:403-414.
- Huntington PJ, Forman AJ, Ellis PM.** The occurrence of equine arteritis virus in Australia. *Aust Vet J.* 1990; 67(12):432-435.
- Issel CJ, Foil LD.** Studies on equine infectious anemia virus transmission by insects. *J Am Vet Med Assoc.* 1984; 184(3):293-297.
- Kırmızıgül AH, Yıldırım Y, Gökçe G.** Kars ve Ardahan yöresindeki atlarda Equine Viral Arteritis enfeksiyonunun seroprevalansının belirlenmesi. *Kars Univ Vet Fak Derg.* 2007; 13:171-175.
- Kırmızıgül AH, Yıldırım Y, Gökçe E, Ataseven VS.** Serologic evaluation of the equine infectious anemia in Kars and Ardahan-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2009; 15:77-80.
- Kondo T, Fukunaga Y, Sekiguchi K, Sugiura T, Imagawa H.** Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for serological survey of Equine Arteritis Virus in racehorses. *J Vet Med Sci.* 1998; 60(9):1043-1045.
- Lignee M.** Memoire et observations sur une maladie de sang, connue sous le nom d'anemie hydroemie cachexie aqueuse du cheval. *Rec Med Vet.* 1843; 20:30.
- MacLachlan NL, Balasuriya UB, Rossitto PV, Hullinger PJ, Patton JF, Wilson WD.** Fatal experimental equine arteritis virus infection of a pregnant mare: immune histochemical staining of viral antigens. *J Vet Diagn Invest.* 1996; 8:367-374.
- Marenzoni ML, Cuteri V, De Parril F, Danzetta ML, Yılmaz Z, Yaramış ÇP, Kennerman E, Or ME, Marchi S, Casciari C, De Mia GM, Valente C, Costarelli S.** A pilot study on the epidemiological status of equine infectious anaemia, equine viralarteritis, glanders, and dourine in Turkey. *Turk J Vet Anim. Sci.* 2013; 37:76-80.
- McGuire TC, Crawford TB, Henson JB.** Immuno fluorescent localisation of equine infectious anemia virus in tissue. *Am J Pathol.* 1971; 62:283-294.
- Metcalfe ES.** The role of international transport of equine semen on disease transmission. *Anim Reprod Sci.* 2001; 68:229-237.
- Montagnier L.** Lymphadenopathie-associated virus: from molecular biology to pathogenicity. *Ann Intern Med.* 1985; 103:689-693.
- Montelaro RC, Ball JM, Rushlow KE.** Equine Retroviruses. In: Levy JA, eds. *The Retroviridae.* Plenum press; 1993. p: 257-360.
- Nejat S, Momtaz H, Yadegari M, Nejat S, Safarpour Dehkordi F, Khamesipour F.** Seasonal, Geographical Age and Breed Distribution of Equine Viral Arteritis in Iran. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2015; 21:11-116.
- Neu SM, Timoney PJ, McCollum WH.** Persistent infection of the reproductive tract in stallions experimentally infected with equine arteritis virus. In: Proceedings of the 5th International Conference Equine Infectious Diseases, 1987, p.149-154.
- Newton JR, Wood JL, Castillo-Olivares FJ, Mumford JA.** Serological surveillance of equine viral arteritis in the United Kingdom since the outbreak in 1993. *Vet Rec.* 1999; 145:511-516.
- Noyan A.** Anemia infectiosa equorumlu safkan arap atlarında hematolojik araştırma. *A Ü Vet Fak Derg.* 1958; 5:209-241.
- Pagamjav O, Kobayashi K, Murakami H, Tabata Y, Miura Y, Boldbaatar B, Sentsui H.** Serological survey of equine viral diseases. *Microbiol Immunol.* 2011; 55:289-292.
- Paweska JT, Barnard BJH.** Serological evidence of equine arteritis virus in donkeys in South Africa. *Onderstepoort J Vet Res.* 1993; 60:155-158.
- Paweska JT, Aitchison H, Chirnside ED, Barnard BJ.** Transmission of the South African asinine strain of equine arteritis virus (EAV) among horses and between donkeys and horses. *Onderstepoort J Vet Res.* 1996; 63:189-196.
- Paweska JT, Binns MM, Woods PS, Chirnside ED.** A survey for antibodies to equine virus in donkeys, mules and zebra using virus neutralisation (VN) and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Equine Vet J.* 1997; 29:40-43.
- Pronost S, Pitel PH, Miszczak F, Legrand L, Marcillaud-Pitel C, Hamon M, Tapprest J, Balasuriya UB, Freymuth F, Fortier G.** Description of the first recorded major occurrence of equine viral arteritis in France. *Equine Vet J.* 2010; 42:713-720.
- Rola J, Larska M, Rola JG, Bělak S, Autorino GL.** Epizootiology and phylogeny of equine

- arteritis virus in hucul horses. *Vet. Microbiol.* 2011; 148:402-407.
- Snijder EJ, Meulenberg JJ.** The molecular biology of arteriviruses. *J Gen Virol.* 1998; 79:961-979.
- Stein CD, Mott LO.** Equine infectious anemia in brood mares and their offspring. *Vet Med.* 1946; 41:274-278.
- Stein CD, Mott LO.** Equine infectious anemia in the United State with special reference to the recent outbreak in New England. *Proc US Livestock Sanitary Association.* 1947; 37:52.
- Timoney PJ, McCollum WH, Roberts AW.** Detection of the carrier state in stallions persistently infected with equine arteritis virus. *Proc Am Assoc Equine Pract.* 1986; 32:57-65.
- Timoney PJ, McCollum WH, Murphy TW, Roberts AW, Willard JG.** The carrier state in equine arteritis virus infection in the stallion with specific emphasis on the venereal mode of virus transmission. *J Reprod Fert Suppl.* 1987; 35:95-102.
- Timoney PJ, McCollum WH.** Equine viral arteritis- epidemiology and control. *J Equine Vet Sci.* 1988; 8:54-59.
- Timoney PJ, McCollum WH.** Equine viral arteritis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1993; 9:295-309.
- Turan N, Yılmaz H, Uysal A, Arslan M.** Seronegative findings on the investigations of equine infectious Anemia in the Marmara Region of Turkey. *Turk J Vet Anim Sci* 2002; 26:299-302.
- Ün H, Özgünlük İ, Çabalar M.** Şanlıurfa ilinde equine viral arteritis enfeksiyonunun serolojik araştırılması. XI. Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Kongresi, Kemer, Antalya, 21-24 Ekim 2014; 308-309.
- Wada R, Kondo T, Fukunaga Y, Kanemaru T.** Histopathological and immunofluorescent studies on the uterus of aborted mares experimentally infected with equine arteritis virus. *J Equine Sci.* 1995; 5:41-43.
- Weber H, Beckmann K, Haas L.** Case report: equine arteritis virus (EAV) as the cause of abortion in alpacas? *DTW* 2006; 113:162-163.
- Valle H, Carre H.** Sur la nature infectieuse de L'anemie du cheval. *C R Acad Sci.* 1904; 139:331-333.
- Yapıkçı O, Yavru S, Kale M, bulut O, Şimşek A, Şahna KC.** An investigation of equine infectious anemia infection in the Central Anatolia region of Turkey. *Tyskr S Afr Vet Ver.* 2007; 78:12-14.
- Yıldırım Y, Kırmızıgül AH, Tan MT, Gökçe E, Irmak K.** Seroprevalence of Equine Viral Arteritis in donkeys in Kars district Turkey. *J Anim Vet Adv.* 2008; 7:1110-1112.
- Yılmaz H, Özgür NY, Ilgaz A.** Serological investigation on the equine viral arteritis. 1st international Veterinary Microbiology Congress, September 25-27, 1996, İstanbul/Turkey.

## A serological investigation for Feline Panleukopenia Virus in Cats in Afyonkarahisar

Sibel GÜR<sup>1\*</sup>, Keziban AVDATEK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, 03200, Afyonkarahisar /TURKEY

<sup>2</sup>Afyonkarahisar Directorate of Provincial Food Agriculture and Livestock, Afyonkarahisar, 03100 /TURKEY

Corresponding author e-mail: sibelgur@aku.edu.tr

# The study was granted by Afyon Kocatepe University, Scientific Research Projects Commission with number 06.VF.03.

### ABSTRACT

Feline Panleukopenia Virus (FPLV) infection was one of the most important viral infections of cats with worldwide dissemination. It's presence was reported in many domestic and wild carnivore species. In this study, blood samples were collected from 151 clinically healthy stray cats in the aged among 3 months and 6 years old from five different localisation at the Afyonkarahisar province, Turkey. The obtained samples were controlled using indirect FPLV ELISA test kit and 24 (15.9%) samples were found to be antibody positive. Of the sampling performed district, all of the samples collected from İhsaniye and Sandıklı were detected as negative and 27.7% (5/18) and 16.6% (1/6) values were found to be in Bolvadin and İncehisar, respectively. The most of the samples was obtained from center of the province, out of 115 cats, 18 (15.6%) were determined as positive for FPLV specific antibody. Even though presence of FPV infection has been known for a long time, this is the first serological report in Turkey.

**Key Words:** ELISA, Feline, Parvovirus

### Afyonkarahisar'da Kedilerde Feline Panleukopenia Virusunun Serolojik Olarak Araştırılması

#### ÖZ

Feline Panleukopenia Virus (FPLV) enfeksiyonu kedilerin dünya çapında yaygınlığı olan en önemli viral enfeksiyonlarından biridir. Varlığı birçok evcil ve vahşi karnivor türünde bildirilmiştir. Bu çalışmada Afyonkarahisar ilinde 5 farklı noktadan, yaşları 3 ay ile 6 yaş arasında değişen klinik olarak sağlıklı toplam 151 sokak kedisinden kan örnekleri toplandı. Elde edilen örnekler indirekt FPLV ELISA test kiti kullanılarak kontrol edildi ve 24 örneğin (%15.9) antikor pozitif olduğu tespit edildi. Örnekleme yapılan ilçelerden İhsaniye ve Sandıklı'dan elde edilen tüm örnekler negatif idi ve Bolvadin ve İncehisar'dan toplanan örneklerde ise sırasıyla %27.7 (5/18) ve %16.6 (1/6) oranlarında pozitiflik belirlendi. Örneklerin büyük çoğunluğu il merkezinden sağlanmış olup, 115 kedinin 18'inin (%15.6) FPLV spesifik antikor pozitif olduğu görülmüştür. Enfeksiyonun varlığı uzun süredir bilinmesine rağmen, Türkiye'deki ilk serolojik bildirim bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** ELISA, Kedi, Parvovirus

To cite this article: **Gür S, Avdatek K.** A serological investigation for Feline Panleukopenia Virus in Cats in Afyonkarahisar. *Kocatepe Vet J.* 2016; 9(3):165-170.

## INTRODUCTION

Feline Panleukopenia virus (FPLV) is highly contagious acute disease characterised with fever, leukopenia, diarrhea, dehydration in cats. Genome is a linear single stranded DNA belonging to the Parvovirus genus of Parvoviridae family (Steinel et al. 2000). Parvovirus capsids are non-enveloped and icosahedral symmetry.

FPLV is an important pathogen of felids (Truyen and Parrish 1992) and has been seen worldwide in cats since its emergence in the 1928 (Verge and Christofoni 1928). The first isolation of the FPLV was accomplished from a leopard (*Panthera pardus*) (Johnson 1964). Many species of the families Mustelidae, Procyonidae and Viverridae are susceptible to the virus (Barker et al. 1983). Seropositivity detected species are wolf (*Canis lupus*) (Goyal et al. 1986), red fox (*Vulpes vulpes*) (Barker et al. 1983), blue fox (*Alopex lagopus*) (Veijaleinen 1986), grey fox (*Urocyon cinereoargenteus*), coyote (*Canis latrans*) (Davidson et al. 1992), mink (Macpherson 1956) and jackal (*Canis aureus*, *C. Mesomelas*, *C. Adustus*) (Alexander et al. 1994). Clinical disorders were also observed in racoon (*Procyon lotor*) (Waller, 1940) and lion (*Panthera leo*) (Studdert et al. 1973).

The virus is excreted in high concentration in faeces, urine, saliva and vomit. It is resistant to many chemicals and has a wide temperature tolerance. Transmission usually occurs through direct contact between susceptible and infected cats but can also occur indirectly through contact with contaminated objects. Symptoms onset suddenly, fever, loss of appetite, gastrointestinal disorders, dehydration, leukopenia are general findings and prognosis is more severe especially in newborns and young animals. Mortality and morbidity rates are very high (Baker et al. 1983, Steinel et al. 2001). A variant virus, Canine Parvovirus (CPV) was emerged in 1978 in dogs (Appel et al. 1979), but a retrospective study proved previous presence of the virus (Koptopoulos et al. 1986). Sequences of the FPLV and CPV were found to be 98% identical (Martyn et al. 1990). Cats can also be infected by CPV (2a, 2b and 2c) (Mochizuki et al. 1996, Decaro et al. 2010, Clegg et al. 2012). FPV and CPV strains can not be discriminated serologically, antibodies gives cross-reaction (Nakamura et al. 2001).

Presence of the infection has been known clinically in Turkey for a long time but scientific report on this issue is quite limited. There is no info on prevalence. According to a genetic analysis of CPV VP2 gene, CPV 2a-2c and FPLV viruses were isolated from clinical cases in Ankara (Muz et al. 2012).

Aim of this study is to investigate the FPLV infection as serologically in Afyonkarahisar province and to obtain the first data for presence and prevalence in unowned cats.

## MATERIAL AND METHODS

### Sampled Animals

In this study, blood samples were collected from free-ranges cats in central and boroughs of Afyonkarahisar. Animals were accepted as non-vaccinated because of they are unowned and there is no routine health applies for stray cats under shelter conditions. Sampling was performed randomly. Total of 151 samples was collected; 71 male, 79 female and sex was not noted 1 cat (table 1). Big majority of the samples was obtained from city center (115), rest of them collected from boroughs (Bolvadin 18, İhsaniye 9, İscehisar 6 and Sandıklı 3) (table 1). Age of the animals was between 3 month old and 6 years old. Age distribution was given in table 2.

All of the cats were clinical healthy during sampling, however low body weight was observed in some of them probably due to malnutrition.

Blood samples were taken from *Vena Cephalica* into vacutainer serum tubes and transferred to the lab in cool-chain. After centrifugation in 3000rpm for 10 min., serum fraction was transferred to the stock tubes and kept in -80°C, until to the test.

### Method

#### Serological Test

The obtained sera samples were tested for FPLV virus specific antibodies using an indirect ELISA test (EVL, Netherlands). The test was performed according to producer's instructions. Plates were read in 450nm, and each one OD values were calculated.

## RESULTS

As a result of the ELISA, out of 151 samples, 24 cat (15.9%) was found to be seropositive for FPLV specific Abs. Positivity was found to be 15.6% (18/115) in the center. Out of 4 boroughs, Ab detected in only two as 16.6% and 27.7% (table 1).

**Table 1:** Sampled animals and FPLV serological test results

**Table 1:** Örneklenen hayvanlar ve FPLV serolojik test sonuçları

Locations	Animal Number	FPLV Ab(+)	FPLV (%)
Central	115	18	15.6
Bolvadin*	18	5	27.7
İscehisar*	6	1	16.6
İhsaniye*	9	-	-
Sandıklı*	3	-	-
Total	151	24	15.9

\*, Boroughs of the Afyonkarahisar

Seropositivity distribution according to ages was given in table 2. The highest proportion was found to be in the youngest group (25%). Ages of these kittens were 3-6 month old and it was considered as a result of natural infection other than maternal positivity. Second highest rate was observed in around two years old cats (22.2%, 8/36). In the other groups, determined ratios was very close to each other (12.1-12.7%). All of the samples were negative at the age 5-6 yr.

**Table 2:** Age distribution of sampled cats and seropositivity rates

**Table 2:** Örneklenen kedilerin yaş dağılımı ve pozitiflik oranları

Age	Animal Number	FPLV Ab(+)	FPLV (%)
3-6 mo.	16	4	25
6 mo-1 yr	55	7	12.7
2 yr	36	8	22.2
3 yr	33	4	12.1
4 yr	8	1	12.5
5 yr	1	-	-
6 yr	2	-	-
Total	151	24	15.9

Gender distribution of positivity was found to be almost equal, the ratio was 16.5% (13/79) in female and 15.5% (11/71) in male (table 3).

**Table 3:** Gender distribution of cats and seropositivity rates

**Table 3:** Kedilerin cinsiyet dağılımı ve pozitiflik oranları

Sex	Animal Number	FPLV Ab(+)	FPLV (%)
Male	71	11	15.5
Female	79	13	16.5
Not Defined	1	-	-
Total	151	24	15.9

## DISCUSSION

FPLV infection is widespread in many parts of the world in wild felidae species and domestic cats. Serological investigations shows that seropositivity can be reach to 53.6% in cat populations (Nakamura et al. 1999, Lickey et al. 2005).

The samples were collected from 5 different localisations in this study. Specific antibody presence was found to be in city center and two boroughs between 15.6% and 27.7%. Average proportion in these tree localisation was 17.3% (24/139). The samples from other two localisations were totally negative, but it is not easy to conclude to FPLV free status due to less number of evaluated cats.

On the looking of age distribution; out of 16 samples at the age of 3-6 month old, 4 (25%) was found to be seropositive. Considering Maternally Derived Antibody (MDA) level of duration, it is possible to say that results reflexes the natural infection. We know that kittens that borned from immune mothers can be protected untill 10 week (Reif 1976, Scott 1997). There were 55 cats at the age of 6 month and 1 year old, ratio was 12.7% (7/55). The highest value was detected in the cats between 1 and 2 years old as 22.2% (8/36). The other 3 and 4 year old cats have similar proportion, 12.1% and 12.5% respectively. There were only 3 cats in 5 and 6 years old, no Ab was determined in them (table 2). There is no noteworthy difference in the aspect of sex and infection rates (Reif 1976), similar finding was observed in this study.

Newborn kittens were not sampled to refrain MDA presence possibility. According to behavioural characteristics of mother cats, it can be said that kittens are well protected and it is not easy to meet newborns in open space. Additionally to sick ones also. By the way, frequency of the infection in infants was unknown. However, obtained serologic data in this study showed that, nearly one of the six cats have been exposed to the virus and survived. There is positive correlation between age and sensitivity to FPLV. Mortality can be reach up to 80% in kitten. However, this ratio reduces to nearly 20% in the following ages (Legeay 1988).

CPV has been accepted as variant of FPLV via direct mutation or mutated vaccine strain (Truyen, 1999). Important changes had been determined in last tree decade in parvovirus capsid proteins. The mostly supported explanation is mediator role of wild species (Truyen et al. 1998). Comparing canine and feline viruses, mutation rate is higher in CPV. First isolated CPV2 was not pathogenic for felines but following year's isolates have wider host spectrum. Moreover, it is thought that the vaccines that produced using new antigenic variants could be more protective (Ikeda et al. 2002, Truyen 2006).

FPLV can replicate in dog derived cell lines but as in-vitro, replication is ratherly limited (Chang et al. 1992, Truyen and Parrish 1992). Vice-versa situation is described for CPV2 (Parrish 1991, Truyen and Parrish 1992). Later on, CPV subtypes was isolated from healthy and sick cats (Ikeda et al. 2000). Live modified live FPLV vaccines were applied in dogs and immunisation was found to be succesfull (Carmichael 2005). Some strain of FPLV vaccines can protect cats also from CPV-2b (Chalmers et al. 1999).

Beside clinical or subclinically infected cats, dogs could be another possible source of the feline parvovirus (FPV) in the field conditions. CPV is not well investigated scientifically in Turkey, but it's presence and prevalency are well-known. Considering cross reaction of antibodies and

similarity in clinical manifestations of the CPV and FPLV, we can not say exact causative strains in the absence of virological examination in this study. In only one research, CPV 2a, 2c and FPL viruses was reported in Ankara (Muz et al. 2012). Rather than FPLV, feline parvovirus infections (FPV) term could be more suitable description in this case.

The agent is resistant to environmental conditions and many disinfectants. The most effective substances are chlorite solutions. Infected animals spreads the virus in high titer, parvoviruses can account among environmental pollutant viruses. Morbidity in a susceptible population often approach to 100%. One of the most important study on Parvovirus transmission modelling and effectiveness of FPLV on feral cat population was carried out in sub-Antarctic Marion island. Five cats were introduced to the island to help eradicate a mouse problem in 1949 (Bester and Skinner 1991). In 1977, cat population was estimated as 3.405, and some bird species gone under big risk and one specie become extinct from the island. In 1977, 96 cats were captured using traps and a virulent strain of feline parvovirus inoculated intranasally to create an epidemic as a biological control measurement (Howell 1984). The virus was disseminated between cats via direct-indirect contact and environment in a short time and number of cats was reduced to 4 from 9 sq/m<sup>2</sup>. Despite sharp decrease, some animals become immune and survived (Bester and Skinner 1991). By 1982, there were 615 remaining (Van Rensburg et al. 1987), after that cats killed with different methods like trapping, hunting and poisoning. The whole cat population was eradicated in 1991 (Bester and Skinner 1991).

Average life expectancy is nearly 12–15 years in cats, however, some cats may attain the age of 21 years or more. This life span is nearly only 5–6 years in the stray cats due to infection, accidents, fight with other animals, unbalanced nutrition, food poisoning, lack of medical care and vaccination etc. Actually, indoor cats can not be stood away from the infection. Scientific reports display indifferences in incidence according to gender, breeding styles, single or multiple households, vaccinated or not (Blanco et al. 2009).

Immunisation and hygiene are the most important preventive measurements. Feline panleukopenia is now diagnosed infrequently by veterinarians, presumably as a consequence of widespread vaccine usage. The infection rates remain high in some unvaccinated cat populations. In fact, vaccination against FPLV does not always adequately protective. In Germany, several outbreaks were reported in 2008/2009 (Hoffmann et al. 2010) and subsequent examination was revealed that 36.7% of the kitten did not have protective antibody level despite routine vaccinations at the ages of 8, 12 and 16 weeks, probably due to MDA. According to a

recent study, MDA can be interfered the primary vaccination and kittens failed to develop active immunity following recommended routine vaccination scheme until nearly 20. week (Jakel et al. 2012). Importance of serological examinations on the determination of individual vaccination schedule was pointed out in the same study. Low titres of MDA do not always protective from natural infection, but they may still interfere the vaccination (Scott et al. 1970). Evaluation of best starting point for primary vaccination by Ab testing in individual kittens accepted as the best option but this method is generally not preferring in field conditions.

In an experimental study, kittens were vaccinated with trivalent vaccine in 8 and 12. weeks and kept isolated from field conditions for a next three years. After that, virulent field virus inoculated but clinical symptoms were not observed (Gore et al. 2006). In another study, vaccinated cats were found to be immune at least for 6 years (Scott and Geissinger 1997). Considering stray cats lives nearly 6 years in the field conditions (Pontier 1993), it can be stated that recovered cats would be protected lifetime.

Presence of the FPLV and CPV infections have been known for a long time in Turkey, but there is no scientific report related history of the infection. Un-owned cats and dogs live freely in the stray conditions. There is local barn and shelters but capacity is not adequate in Turkey. Vaccination applies are only limited with rabies for both species. Exposure risk for FPLV may be better understood considering environmental viral load and reciprocal transmissions.

Spatial distribution, social organisation and population dynamics are quite variable in cats (Lieberg et al. 2000). Studied locations is not close to each other in this study, detected variable ratios are confirm this. The another important point taking attention in this study is disparity between proportions and age. Young and 1-2 year old cats have higher values, this animals are obviously recovered ones. There is no information on mortality by reason of focused population. Owned cats are generally breeding as semi-indoor, by the way these cats are also under risk of infection via environmental viral load from clinical-subclinically infected cats and dogs together. Vaccination is still the most effective preventive tool on control of the infection, with carefully considering MDA levels. Increase in shelter facilities for cats is also a need in the province like many place.



## REFERENCES

- Alexander KA, Kat PW, Wayne RK, Fuller TK.** Serological survey of selected canine pathogens among free-ranging jackals in Kenya. *J Wildl Dis.* 1994; 30:486-491.
- Appel MJG, Scott FW, Carmichael LE.** Isolation and immunisation studies of a canine parvovirus-like virus from dogs with hemorrhagic enteritis. *Vet Rec.* 1979; 105:156-159.
- Barker IK, Povey RC, Voigt DR.** Response of mink, skunk, red fox and raccoon to inoculation with mink virus enteritis, feline panleukopenia and canine parvovirus and prevalence of antibody to parvovirus in wild carnivores in Ontario. *Can J Comp Med.* 1983; 47(2):188-197.
- Bester MN, Skinner JD.** The Marion Island cat programme. *S Afr J Antarct Res.* 1991; 20:1-4.
- Blanco KL, Prendas J, Cortes R, Jimenez C, Dolz G.** Seroprevalence of viral infections in domestic cats in Costa Rica. *J Vet Med Sci.* 2009; 71(5):661-663.
- Carmichael LE.** An annotated historical account of canine parvovirus. *J Vet Med B, Infect Dis Vet Public Health* 2005; 52(7-8):303-311.
- Chalmers WSK, Truyen U, Greenwood NM, Baxendale W.** Efficacy of feline panleukopenia vaccine to prevent infection with and isolate of CPV2b obtained from a cat. *Vet Microbiol.* 1999; 69:41-45.
- Chang SF, Sgro JY, Parrish CR.** Multiple amino acids in the capsid structure of canine parvovirus coordinately determine the canine host range and specific antigenic and hemagglutination properties. *J Virol.* 1992; 66(12):6858-7567.
- Clegg SR, Coyne KP, Dawson S, Spibey N, Gaskell RM, Radford AD.** Canine Parvovirus in asymptomatic feline carriers. *Vet Microbiol.* 2012; 157:78-85.
- Davidson WR, Appel MJ, Doster GL, Baker OE, Brown JF.** Diseases and parasites of red foxes, gray foxes and coyotes from commercial sources selling to fox-chasing enclosures. *J Wildl Dis.* 1992; 28:581-589.
- Decaro N, Buonavoglia D, Desario C, Amorisco F, Colaianni ML, Parisi A, Terio V, Elia G, Lucente MS, Cavalli A, Martella V, Buonavoglia C.** Characterisation of canine parvovirus strains isolated from cats with feline panleukopenia. *Res Vet Sci.* 2010; 89(2):275-278.
- Gore TC, Lakshmanan N, Williams JR, Jirjis FF, Chester ST, Duncan KL, Coyne MJ, Lum MA, Sterner FJ.** Three-year duration of immunity in cats following vaccination against feline rhinotracheitis virus, feline calicivirus, and feline panleukopenia virus. *Vet Ther.* 2006; 7(3):213-222.
- Goyal SM, Mech LD, Rademacher RA, Khan MA, Seal US.** Antibodies against canine parvovirus in wolves of Minnesota: a serological study from 1975 through 1985. *J Am Vet Med Assoc.* 1986; 189:1092-1094.
- Hoffmann A, Schönborn E, Mergel A, Cußler K.** Pharmakovigilanzreport Tierimpfstoffe: Analyse der im Jahr 2008 und 2009 im Paul-Ehrlich-Institut eingegangenen Meldungen. *DTBl.* 2010; 6:766-775.
- Howell PG.** An evaluation of the biological control of the feral cat *Felis Catus* (Linnaeus, 1758). *Acta Zool Fenn.* 1984; 172:111-113.
- Ikeda Y, Mochizuki M, Naito R, Nakamura K, Miyazawa T, Mikami T, Takahashi E.** Predominance of canine parvovirus (CPV) in unvaccinated cat populations and emergence of new antigenic types of CPVs in cats. *Virology* 2000; 278(1):13-19.
- Ikeda Y, Nakamura K, Miyazawa T, Tohya Y, Takahashi E, Mochizuki M.** Feline Host Range of Canine Parvovirus: Recent emergence of New antigenic types in cats. *Emerg Infect Dis.* 2002; 8(4):341-346.
- Jakel V, Cussler K, Hanschmann KM, Truyen U, König M, Kamphuis E, Duchow K.** Vaccination against Feline Panleukopenia: Implications from a field study in kitten. *BMC Vet Res.* 2012; 8:62.
- Johnson RH.** Isolation of a virus from a condition stimulating feline panleucopaenia in a leopard. *Vet Rec.* 1964; 76:1008-1012.
- Koptopoulos G, Papadopoulos O, Papanastastasopoulo M, Cornwell HJC.** Presence of antibodies cross-reacting with canine parvovirus in the sera of dogs from Greece. *Vet Rec.* 1986; 118(12):332-333.
- Legeay Y.** Le point sur les maladies infectieuses felines. *ENV Nantes. J Nantaises Pathol Feline* 1988, 1-14.
- Lickey ALA, Kennedy M, Patton S, Ramsay EC.** Serologic survey of domestic felids in the Peten region of Guatemala. *J Zoo Wildl Med.* 2005; 36:121-123.
- Lieberg O, Sandell M, Pontier D, Natoli E.** Density, spatial organisation and reproductive tactics in the domestic cat and other felids. In *The domestic cat: the biology of its behaviour*, (2nd edn (ed. Turner, D.C., Bateson, P.), pp 119-147, Cambridge University Press, 2000.
- Macpherson LW.** Feline enteritis virus- its transmission to mink under natural and experimental conditions. *Can J Comp Med Vet Sci.* 1956; 20(6):197-202.
- Martyn JC, Davidson BE, Studdert MJ.** Nucleotide sequence of feline panleukopenia virus: comparison with canine parvovirus

- identifies host-specific differences. *J Gen Virol.* 1990; 71:2747-2753.
- Mochizuki M, Horiuchi M, Hiragi H, San Gabriel MC, Yasuda N, Uno T.** Isolation of canine parvovirus from a cat manifesting clinical signs of feline panleukopenia. *J Clin Microbiol.* 1996; 34(9):2101-2105.
- Muz D, Oguzoglu TC, Timurkan MO, Akın H.** Characterisation of the partial VP2 gene region of canine parvoviruses in domestic cats from Turkey. *Virus Genes* 2012; 44:301-308.
- Nakamura K, Ikeda Y, Miyazawa T, Nguyen NT, Duong DD, Le KH, Vo SD, Phan LV, Mikami T, Takahashi E.** Comparison of prevalence of feline herpesvirus type 1, calicivirus and parvovirus infections in domestic and leopard cats in Vietnam. *J Vet Med Sci.* 1999; 61(12):1313-1315.
- Nakamura K, Ikeda Y, Miyazawa T, Tohya Y, Takahashi E, Mochizuki M.** Characterisation of cross-reactivity of virus neutralising antibodies induced by feline panleukopenia virus and canine parvoviruses. *Res Vet Sci.* 2001; 71(3):219-222.
- Parrish CR.** Mapping specific functions in the capsid structure of canine parvovirus and feline panleukopenia virus using infectious plasmid clones. *Virology* 1991; 183(1):195-205.
- Pontier, D.** Analyse des traits d'histoire de vie chez les mammifères. In: *Memoire d'habilitation a diriger les recherches.* France: Universite Lyon I, 1993.
- Reif JS.** Seasonality, natality and herd immunity in feline panleukopenia. *Am. J. Epidemiol.* 1976; 103:81-87.
- Scott FW, Csiza CK, Gillespie JH.** Maternally derived immunity to feline panleukopenia. *J Am Vet Med Assoc.* 1970; 156(4):439-453.
- Scott FW, Geissinger C.** Duration of immunity in cats vaccinated with an inactivated feline panleukopenia, herpesvirus and calicivirus vaccine. *Feline Pract.* 1997; 25:12-19.
- Steinel A, Munson L, Van Vuuren M, Truyen U.** Genetic characterization of feline parvovirus sequences from various carnivores. *Gen Virol.* 2000; 81:345-350.
- Steinel A, Parrish CR, Bloom ME, Truyen U.** Parvovirus infections in wild carnivores. *J Wildl Dis.* 2001; 37(3):594-607.
- Studdert MJ, Kelly CM, Harrigan KE.** Isolation of panleukopenia virus from lions. *Vet Rec.* 1973; 93:156-159.
- Truyen U, Geissler K, Parrish CR, Hermanns W, Siegl G.** No evidence for a role of modified live virus vaccines in the emergence of canine parvovirus. *J Gen Virol.* 1998; 79:1153-1158.
- Truyen U, Parrish CR.** Canine and feline host ranges of canine parvovirus and feline panleukopenia virus. Distinct host cell tropisms of each virus in vitro and in vivo. *J Virol.* 1992; 66:5399-5408.
- Truyen U.** Emergence and recent evolution of canine parvovirus. *Vet Microbiol.* 1999; 69:204-208.
- Truyen U.** Evolution of canine parvovirus. A need for new vaccines? *Vet Microbiol.* 2006; 117(1):9-13.
- Van Rensburg PJJ, Skinner JD, Van Aarde RJ.** Effects of feline panleukopenia on the population characteristics of feral cats on Marion Island. *J Appl Ecol.* 1987; 24:63-73.
- Veijalainen P.** A serological survey of enteric parvovirus infections in Finnish fur-bearing animals. *Acta Vet Scand.* 1986; 27:159-171.
- Verge J, Christofoni N.** La gastroenterite infectieuse des chats; est-elle due a un virus filtrable? *Comptes Rendus des Sciences del Societe de Biologie et de ses filiales.* 1928; 99:312.
- Waller EF.** Infectious gastroenteritis in racoons (*Procyon lotor*). *J Am Vet Med Assoc.* 1940; 96:266-268.

## Determination of Effects on Oxidant Antioxidant Balance and Some Biochemical Parameters Consumption of Bottled, Distilled and Deionized Thermal Water in Rats

Cahide ÇEVİK<sup>1</sup>, Elmas ULUTAŞ<sup>2</sup>, Hasan Hüseyin DEMİREL<sup>3</sup>, Sinan İNCE<sup>4</sup>, Abdullah ERYAVUZ<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Afyon Health Training School, Afyon Kocatepe University, 03200 Afyonkarahisar, TURKEY

<sup>2</sup>Department of Physiology, Faculty of Veterinary of Afyon Kocatepe University, 03200 Afyonkarahisar, TURKEY

<sup>3</sup>Bayat Vocational School, Afyon Kocatepe University, 03200 Afyonkarahisar, TURKEY

<sup>4</sup>Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary of Afyon Kocatepe University, 03200 Afyonkarahisar, TURKEY

Corresponding author e-mail: eryavuz@aku.edu.tr

#This study was supported by Afyon Kocatepe University Scientific Research Project Coordination Unit (AKÜBAPK11.VF.01).

### ABSTRACT

The objective of this research is to determine the effects of the consumption of the bottled, distilled and deionized versions of thermal water taken from the Gazlıgöl district in the city of Afyonkarahisar on the oxidant – antioxidant balance and on certain biochemical parameters, along with possible effects on liver and kidney tissue.

The research involved 6 rats in each group. The experiment group was given fresh, bottled, deionized and distilled thermal water for 30 days whereas the control group was given normal water. At the end of the experiment, rats' blood samples as well as liver, kidney and heart tissue samples were taken. The research determined that the hemoglobin level in rats that consumed bottled thermal water is considerably lower than those that consumed fresh and deionized water ( $p<0,05$ ). The zinc level was meaningfully lower in rats that consumed distilled water than those in the other groups ( $p<0,05$ ).

There was no meaningful difference among the groups in terms of the liver and kidney tissues' MDA, GSH and SOD levels. Nevertheless, it was observed that the heart tissues' MDA level was higher in rats that consumed bottled and deionized water than those in other groups ( $p<0,01$ ) whereas the GSH and SOD levels did not change. The histopathological examination of liver and kidney tissue showed certain pathological changes. The conclusion of the research is that thermal water does not have a positive effect on the organism.

**Key Words:** Biochemical Parameters, Oxidant Antioxidant Balance, Thermal Water.

## Sıçanlarda Bekletilmiş, Distile ve Deiyonize Kaplıca Suyu Tüketilmesinin Oksidan Antioksidan Denge ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

### ÖZ

Bu çalışmada, Afyonkarahisar ilinin Gazlıgöl bölgesinden alınan kaplıca suyu ve bu suyun bekletilerek, distile ve deiyonize edilerek tüketilmesinin oksidan-antioksidan denge ve bazı biyokimyasal parametreler ile karaciğer ve böbrek dokusuna etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada her grupta 6 sıçan yer almıştır. 30 gün boyunca, deney grubundaki sıçanlara taze, bekletilmiş, deiyonize ve distile edilmiş kaplıca suyu, kontrol grubundakilere ise normal su verilmiştir. Deneme sonunda sıçanlardan kan numuneleri ile karaciğer, böbrek ve kalp doku örnekleri alınmıştır. Hemoglobün değeri bekletilmiş kaplıca suyu tüketen sıçanlarda taze ve deiyonize tüketen sıçanlara göre önemli oranda düşük olduğu gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Distile edilmiş kaplıca suyu tüketen sıçanlarda Çinko değerinde diğer gruplara göre anlamlı ( $p<0,05$ ) bir düşüş oluşmuştur. Karaciğer ve böbrek dokusu MDA, GSH ve SOD düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Buna karşın, kalp dokusunda MDA düzeylerinin bekletilmiş ve deiyonize kaplıca suyu tüketen sıçanlarda diğer gruptakilere göre daha yüksek olduğu ( $p<0,01$ ), GSH ile SOD düzeylerinin ise değişmediği saptanmıştır. Karaciğer ve böbrek dokusu hispatolojik incelemesinde birtakım patolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Sonuç olarak çalışmada kullanılan kaplıca suyunun organizmada olumlu bir etki yaratmadığı kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Biyokimyasal Parametre, Oksidan Antioksidan Denge, Kaplıca Suyu.

To cite this article: Çevik C, Ulutaş E, Demirel HH, İnce S, Eryavuz A. Determination of Effects on Oxidant Antioxidant Balance and Some Biochemical Parameters Consumption of Bottled, Distilled and Deionized Thermal Water in Rats. *Kocatepe Vet J*. 2016; 9(3):171-178.

## INTRODUCTION

Thermal spring waters have long been used for medicinal purposes and common wisdom has it that they cure all kinds of ailments (Mergen et al., 2006). Thermal tourism started when Romans first built facilities near thermal sources. Today, it is widely practiced in many countries the world over, including Turkey (Erer, 2004). The use of these waters for prophylactic and therapeutic purposes is called spa treatment and the curative effect stems from the heat of the water as well as its mineral content (Karagülle and Karagülle, 2000; Vaccarezza and Vitale, 2010). A recent study showed that in children with chronic rhinosinusitis a 15 minute/15 day inhalation of thermal water containing sulfate, sodium and chloride results in the reduction nasal mucosal inflammatory mediators (Passariello et al., 2012). Yet other studies show that many mineral waters, especially those rich in bicarbonate, have an effect on lipoprotein levels and that their consumption causes a reduction in total serum cholesterol and LDL cholesterol levels (Schoppen et al., 2004). Costantino et al. (2012) observed a reduction of the blood glucose levels in hunger in type 2 diabetic patients who consumed sulfur thermal water in addition to their diabetes medications for 2 weeks. Granados et al. (2010) found that the serum glucose levels show a tendency to drop in people who consume a liter of bicarbonate mineral water daily for 8 weeks and maintained that this finding may be due to the relation between glucose and lipid mechanism. Benedetti et al. (2009) argue that the plasma samples taken from people who were given sulfur mineral water for 2 weeks show considerable reductions in the protein and lipid oxidation products caused by free radicals. It is claimed that the consumption of thermal waters alters the oxidant-anti-oxidant level in the blood (Benedetti et al., 2009; Çevik et al., 2011). However, it has also been determined that lipid peroxidation does not change in rats who consume thermal water whereas the glutathione levels rise (Çevik et al. 2011).

One of Turkey's popular spots for thermal tourism is the Gazlıgöl district of the city of Afyonkarahisar. Visitors to the thermal source by undergo bath treatments as well as drink the thermal water on site and bottle it for later consumption. This way they also benefit from a drinking cure. When one takes into consideration the effects of the changes in oxidant-antioxidant balance on the organism and the fact that people consume bottled water that sits, bottled, distilled and deionized thermal water may well affect the oxidant-antioxidant balance of the body as well as the tissues through other biochemical parameters. Therefore, in order to understand the effects of the minerals found in thermal water on the organism, it is important to identify the changes in biochemical parameters along with the oxidant-

antioxidant balance caused by the deionization and demineralization of cooled thermal water.

This study was planned in order to find out the effects of the consumption of cooled, distilled and deionized thermal water on the oxidant-antioxidant balance as well as on liver and kidney tissues through certain biochemical parameters and to uncover the mechanisms involved in the cause-effect relationship.

## MATERIAL AND METHOD

This project has been carried out with approval no 96 dated 03 October 2011 granted by Afyon Kocatepe University's (AKU) Animal Research Local Ethics Board.

In this research, 30 250-300 gr, male Sprague-Dawley rats were used. The animals were housed in cages in groups of 3, on a 12:12 light - dark cycle and were fed ad libitum. They were separated into five groups with each group containing 6 animals. The thermal water used in the experiment has been taken from a widely used public source in the Gazlıgöl district of the city of Afyonkarahisar. The chemical and physical properties of the water are given in table 1 as reported by the Afyon Municipality Yüntaş Thermal Facility Directorate.

The experiment has been implemented according to the below groups

Group 1: Identified as the control group and was given commercial drinking water (Yıldız<sup>R</sup>).

Group 2: Given fresh thermal water transported daily from the source.

Group 3: Thermal water was given to the animals after sitting in a bottle for a week.

Group 4: Thermal water was given to the animals after it was deionized.

Group 5: Thermal water was given to the animals after it was distilled.

30 days after these applications, following a 50mg/kg Ketamine and 10mg/kg Xylazine HCl injection, animals' blood was drawn intracardially and liver and kidney were removed for histopathological examination. For plasma, blood was collected in EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) hemogram tubes and for serum it was collected in capped tubes. Immediately after collection blood was centrifuged in 4° C at 5000 RPM for 10 minutes to produce serum and plasma. The serum was then tested for the following parameters: aspartate amino transaminase (AST), alanine amino transaminase (ALT), Urea, Creatine, Total Cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, Triglyceride, Calcium, Phosphorus, Glucose. A whole blood erythrocyte package was prepared and Glutathione (GSH), Malondialdehyde (MDA) levels measured. Serums (for total antioxidant activity (TAOA) and SOD measurements) and kidney, liver and heart tissues (for MDA, GSH and SOD measurements) were preserved at -20°C and measured later. Zinc and

copper levels were measured using the ISP via service procurement from Düzen Laboratories in Ankara. AST, ALT, Urea, Creatine, Total Cholesterol, HDL Cholesterol, LDL Cholesterol, Triglyceride, Calcium, Phosphorus and Glucose levels were measured with a Roche Cobas c501 autoanalyzer (using the following kits in respective order of catalogue number: 0764949, 0764957, 4460715, 4810716, 3039773, 4399803, 0767107, 5061482, 3183793, 4404483) at the AKU, Faculty of Medicine biochemistry laboratory.

Full Blood count has been measured using the AKU Animal Hospital's blood count machine (Mindray BC-2800). MDA assay of the tissue follows the method of Draper and Hardley (1990); GSH assay of tissue and blood follows that of Beutler (1984); Superoxide Dismutase Activity assay follows Sun et al. (1988) and Total Antioxidant Activity Assay follows Koracevic et al. (2001).

For Histopathological assay, kidney and liver tissues were analyzed in tamponed 10% formal saline. Then, they were treated in an automatic tissue processor (Leica TP 1020) with alcohol and xylol series and paraffin blocs were prepared. Out of the latter, 5 µm sections were then cut and stained according to the Hematoxylin and Eosin Method (Luna, 1968). The stained slides were analyzed under a binocular light microscope (Olympus BX 51).

#### Statistical Analysis

The statistical analyzes were performed using in the SPSS for Windows version 20. Differences in variables among groups were assessed using Kruskal-Wallis H analysis. P values below 0,05 were considered statistically significant. In order to determine from which groups the variance stemmed, a post-hoc analysis was conducted using the conover inman test.

### RESULTS

The experiment showed that the parameters under observation had no effect on the AST, ALT, Urea, Creatine, LDL, HDL, total cholesterol, triglyceride, glucose, leukocyte, erythrocyte, thrombocyte, hematocrit, calcium, phosphorus and copper along with the GSH, SOD, TAOA and MDA levels (Table 2).

The hemoglobin level was significantly lower in rats that consumed bottled thermal water as opposed to those that consumed fresh and deionized water ( $p=0,015$ ). In comparison with other groups, there was a meaningful drop in the zinc level of the rats that consumed distilled thermal water ( $p=0,022$ ) (Table 2).

There was no meaningful variance among the groups with respect to the MDA, GSH and SOD levels. In spite of this finding, the MDA level in heart tissue was higher in rats that consumed bottled and deionized thermal water than those in other groups

( $p=0,009$ ) whereas the GSH and SOD levels remained the same (Table 3).

The analysis of groups' liver and kidney tissues showed the following: degenerative changes in the liver tissue (Figure 1) and hyaline casts in their renal tubular lumen were observed in rats that consumed distilled thermal water (Figure 2); The rats that consumed deionized thermal water were observed to undergo degenerative and necrotic changes in hepatocytes (Figure 3) and had hyaline casts in their renal tubular lumen (Figure 4)

### DISCUSSION

This article looks at the effects of rats' consumption of fresh, bottled, deionized and distilled versions of thermal water from the Gazlıgöl district of Afyonkarahisar on the oxidant-antioxidant balance and on selected biochemical parameters. Its objective is to determine the possible effects of the minerals in the water and of the bottling process (water sitting) on the organism.

The research shows that the ALT and AST levels, which are among the most widely used enzymes in the analysis of tissue metabolism changes and whose serum levels rise in all diseases that cause liver damage were not affected by the experiment. The values obtained in the research are compatible with normal values in regards to the ALT levels reported in rats ([www.jcam.com.tr/files/KATD-604.pdf](http://www.jcam.com.tr/files/KATD-604.pdf). 17.12.2015) whereas observed AST levels were higher than normal. The findings of this research support a previous statement that ALT levels do not change in rats that consume thermal water (Çevik et al., 2011). Nonetheless, despite the fact that AST and ALT levels did not change, the histopathological examination of the rats' livers shows that the consumption of deionized thermal water causes degenerative changes in hepatocytes (Figure 1), whereas distilled thermal water consumption causes degenerative and necrotic changes in hepatocytes (Figure 3). While it is assessed that the changes in the hepatocytes may not have caused an enzyme leak that would have elevated the serum enzyme levels, It is obvious that more research is needed to uncover the mechanisms of these changes in hepatocytes that do not affect the serum enzyme levels.

The research also shows that the experiment had no effect with respect to the level of urea that is synthesized (Sözbilir and Bayşu, 2008) in the liver for the detoxification and removal of ammonia from the body, the latter produced from protein metabolism in the organism and highly toxic for cells. Additionally, the experiment did not have an effect on the creatine levels, which were analyzed in order to ascertain whether kidney functions were regular. The findings obtained in this research are compatible with those of the earlier study (Çevik et al., 2011) and suggest that the consumption of the fresh, bottled, deionized and distilled forms of thermal

water did not have an effect on the serum urea and creatine levels that were measured to determine the effects of the water on kidney functions. At the same time, despite the fact that the urea and creatine levels remained unchanged, the histopathological examination of kidney tissue found hyaline casts in the renal tubular lumen of the distilled and deionized thermal water groups (Figures 2 and 4).

Research conducted on mice suggests that the consumption of distilled water may cause an increase in urinary excretion, extracellular fluid volume and water consumption. It is also suggested that when the mineral requirement cannot be met through food consumption minerals are increasingly excreted from the body and a general disorder may follow.

Further, it is emphasized that there may be morphological changes in the kidneys that can amount to glomerular atrophy (World Health Organization 2004). In light of the data at hand, kidney tissue changes that took place in the distilled and deionized groups can be related to the insufficient mineral intake that results from the absence of minerals in the water. Further, the fact that the kidney function indicators have not changed despite the change in kidney tissue may well mean that the tissue changes have not yet had an effect on the indicators. The possible effects of demineralized water on kidney tissue need to be explored in further research.

In contrast to research that states that the HDL and LDL levels are affected by the consumption of mineral-rich water (Nasuti et al., 2005). and that, depending on the duration of consumption, the total cholesterol and LDL cholesterol levels decrease while HDL levels increase (Granados et al., 2010), this research found that the consumption of either fresh, bottled, deionized and deionized water does not affect the blood total cholesterol, HDL and LDL cholesterols. This finding supports an earlier research that argued that a 4-week consumption of thermal water does not affect the blood total cholesterol, HDL and LDL levels in rats (Çevik et al., 2011). Similarly, it was determined in the present research that the experiment did not affect the blood glucose levels. This finding is not compatible with that which argues that in humans who consume 1 liter of sodium-bicarbonate rich water everyday for 8 weeks, the level of insulin hormone remains unchanged whereas the glucose level tends to decrease (Granados et al., 2010). Granados et al. (2010) argue that the decrease in the glucose level with a steady level of blood insulin hormone in the sodium-bicarbonate rich water intake is due to the relationship between glucose and lipid metabolism. The present research observed that the serum glucose levels obtained from all of the groups remain within the normal levels reported for rats ([www.jcam.com.tr/files/KATD-604.pdf](http://www.jcam.com.tr/files/KATD-604.pdf) 17.12.2015). These findings indicate that the level of

minerals in the thermal water was not enough to affect the bodily cholesterol and glucose metabolism. Contrary to other research that argues that thermal water, especially of the sulfured variety shows an antioxidant effect (Benedetti et al., 2009; Çevik et al., 2011; Costantino et al., 2012) the present research found that the water used had no effect on the levels of the following indicators based on an analysis of the blood to determine the changes in the oxidant – antioxidant balance in blood and tissue: Lipid Peroxidation indicators: MDA and Antioxidant indicators: GSA, SOD and TAOA.

In the liver, kidney and heart tissues, MDA, GSH and SOD levels were also not affected. These findings indicate that the mineral level of thermal water used in the experiment was not enough to affect the bodily oxidant – antioxidant balance. The fact that in the present research the MDA levels in heart tissue were higher in rats that consumed bottled water suggests that the changes that may have happened while the water was sitting may have produced an oxidative effect and affected the heart tissue.

The present research found that the experiment did not affect rats' levels of serum calcium, phosphorus and copper. It was further observed that the measured serum calcium and phosphorus levels were within the normal values reported for rats (Sharp and Regina, 1998). Nonetheless, the copper and zinc levels were below the reported normal values. Taking into account the argument that calcium-rich mineral waters increase the serum-calcium level but that this increase is dependent on the water's mineralization level (Albertini et al., 2007), it can be argued that the mineral level in the thermal water was not enough to affect the blood mineral levels of the rats. Indeed, previous research (Çevik et al., 2011) indicated that the serum copper and zinc levels do not change in rats that consumed thermal water for 4 weeks. This research is in parallel with our present study in its argument that the copper level does not change. Despite the fact that these minerals remain unchanged, the level of serum copper decreased meaningfully in rats that consumed distilled thermal water. Because the minerals in the water were removed following its distillation, this decrease causes only the minerals in the diet to be absorbed through the digestive tract. Even though the level of minerals in rats' feed was not measured for this research, it is possible that the decrease in the serum zinc levels of the rats that consumed distilled thermal water may be due to the low level of zinc in the feed. Our research shows that with regards to blood cells, leucocyte, erythrocyte and thrombocyte as well as hematocrit levels were not different; the hemoglobin level was lower in rats that consumed bottled thermal water than that of the rats that consumed fresh and deionized water. The hemoglobin level for the latter group was within the normal values

reported for rats (Sharp and Regina, 1998). It is concluded that the difference is insignificant.

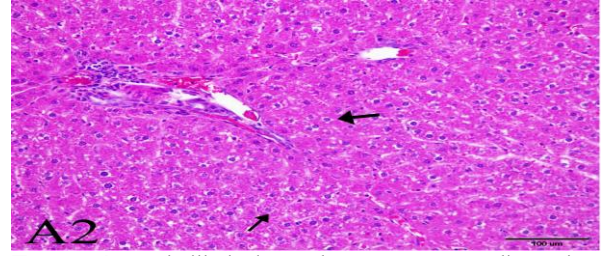
### CONCLUSION

The present research determined that thermal water taken from a publicly used source in the Gazlıgöl district of Afyonkarahisar did not affect the parameters used in the experiment. It has been further concluded that these findings will contribute to further scientific evaluations of the benefits of thermal water. However, it is also assessed that more research is needed to determine the histopathological effects of the long-term consumption of thermal water particularly on tissues.

**Table 1:** Physical and chemical properties of water received from Gazlıgöl-Afyonkarahisar Region

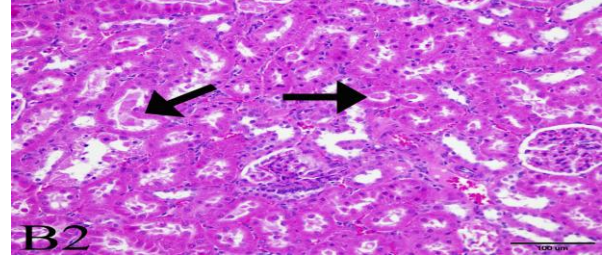
**Tablo 1:** Gazlıgöl Bölgesindeki su kaynağından alınan suyun kimyasal ve fiziksel özellikleri

Physical and chemical properties	Value (mg/L)
Color	0
Turbidity in ntu	3.8
pH	7.3
Total permanent hardness	270
TDS	2670
Anionic	<0.02
Magnesium ion	22
Calcium ion	72
Manganese ion	<0.1
Iron ion	0.3
Nitrogen from nitrite	0.001
Nitrogen from nitrate	<0.05
Nitrogen from ammonia	<0.02
Sulfate ion	<10
Fluoride ion	1.3
Cadmium ion	<0.0005
Chromium ion	<0.05
Cyanide ion	<0.001
Silver ion	<0.05
Lead ion	<0.05
Copper ion	<0.5
Zinc ion	<0.1
Chloride ion	145
Chlorine	<0.018
Carbondioxide	232
Phenol	<0.001



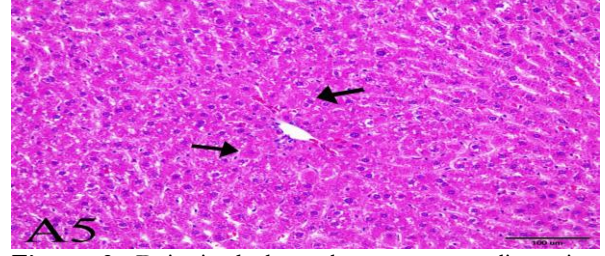
**Figure 1:** Distilled thermal water group liver tissue histopathologic appearance: Degenerative changes in hepatocytes.

**Şekil 1:** Distile kaplıca suyu grubu karaciğer dokusu histopatolojik görünüm: Hepatositlerde dejeneratif değişiklikler.



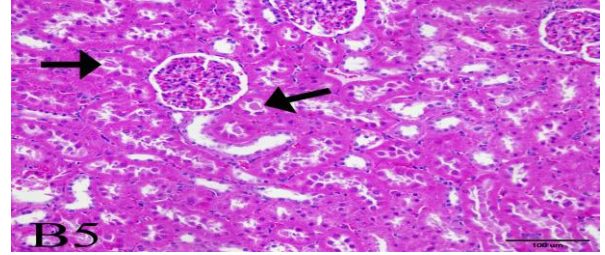
**Figure 2:** Distilled thermal water group kidney tissue histopathologic appearance: Tubulus lumen hyaline cylinders

**Şekil 2:** Distile kaplıca suyu grubu böbrek dokusu histopatolojik görünüm: Tubulus lumenlerinde hyalin silindirleri



**Figure 3:** Deionized thermal water group liver tissue histopathologic appearance: Degenerative and necrotic changes in hepatocytes.

**Şekil 3:** Deiyonize kaplıca suyu grubu karaciğer dokusu histopatolojik görünüm: Hepatositlerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler.



**Figure 4:** Deionized thermal water group kidney tissue histopathologic appearance: Tubulus lumen hyaline cylinders

**Şekil 4:** Deiyonize kaplıca suyu grubu böbrek dokusu histopatolojik görünüm: Tubulus lumenlerinde hyalin silindirleri.

**Table 2:**Blood parameters after water application

**Tablo 2:** Su uygulamaları sonrasında kan parametreleri

	Control Mean Rank Median (25%-75% quartile)	Fresh thermal water Mean Rank Median (25%-75% quartile)	Bottled thermal water Mean Rank Median (25%-75% quartile)	Deionized thermal water Mean Rank Median (25%-75% quartile)	Distilled thermal water Mean Rank Median (25%-75% quartile)	p
<b>ALT (U/L)</b>	13,00 43,40 (41,57-51,82) 15,83	16,67 46,20 (45,32-49,12) 22,33	14,92 45,30 (40,37-55,30) 15,50	14,75 46,60 (41,27-50,32) 12,67	18,17 48,80 (42,47-57,50) 11,17	0,876 0,223
<b>AST(U/L)</b>	124,30 (112,90-213,75)	161,45 (142,27-186,35)	133,35 (112,15-204,95)	128,25 (104,85-141,97)	118,70 (101,27-148,65)	
<b>CREATININE (mg/dL)</b>	16,17 0,31 (0,27-0,35) 10,33	15,42 0,32 (0,27-0,35) 14,33	14,08 0,30 (0,26-0,35) 16,00	20,00 0,34 (0,29-0,39) 21,00	11,83 0,30 (0,25-0,32) 15,83	0,588 0,337
<b>UREA(mg/dL)</b>	56,55 (54,05-64,90)	56,65 (54,45-60,25)	57,25 (52,75-63,32)	66,20 (54,72-69,32)	67,40 (61,50-72,90)	
<b>TOTAL CHOLESTEROL (mg/dL)</b>	16,83 56,65 (50,60-59,12)	12,00 52,60 ( 47,82-58,15)	14,92 51,60 (50,50-59,02)	21,33 61,30 (53,32-66,85)	12,42 51,15 (48,00-59,27)	0,344
<b>TRIGLYCERIDE (mg/dL)</b>	10,33 49,00 (43,67-54,00) 18,92	14,33 53,15 (42,52-71,85) 12,67	16,00 59,40 (43,57-67,77) 12,67	21,00 68,00 (58,67-85,27) 21,08	15,83 51,75 (48,50-79,12) 12,17	0,337 0,246
<b>HDL(mg/dL)</b>	44,45 (40,47-45,80) 17,17	40,15 (37,02-43,95) 14,58	38,45 (37,52-45,10) 15,17	45,45 (40,85- 51,95) 17,50	38,55 (35,07-45,45) 13,08	0,902
<b>LDL(mg/dL)</b>	9,25 (8,17-11,10) 11,83	9,10 (7,52-10,20) 11,17	9,50 (6,65-10,75) 13,67	10,65 (6,12-11,92) 19,50	7,85 (6,72-11,20) 21,33	0,157
<b>GLUCOSE (mg/dL)</b>	171,60 (147,20-186,77) 23,17	169,25 (134,10-201,72) 14,92	164,95 (145,20-224,55) 15,00	200,80 (163,52-241,65) 13,25	221,35 (189,15-243,00) 11,17	0,168
<b>MDA(nmol/mL)</b>	2,59 (2,15-5,17) 14,08	1,95 (1,59-3,52) 18,75	2,09 (1,76-2,45) 7,92	1,90 (1,85-2,15) 17,92	1,77 (1,63-2,38) 18,83	0,150
<b>GSH(g/L)</b>	30,80 (26,57-34,40) 11,42	33,80 (29,35-5402) 12,83	25,65 (19,52-29,22) 16,42	38,70 (25,27-47,82) 16,50	36,45 (27,50-75,35) 20,33	0,434
<b>TAOA(mmol/L)</b>	0,72 (0,48-0,95) 13,50	0,84 (0,50-0,92) 21,17	0,93 (0,59-0,99) 16,83	0,84 (0,62-1,17) 8,50	0,96 (0,73-1,28) 17,50	0,134
<b>SOD(U/mgHb)</b>	1,84 (0,78-3,38) 19,17	2,61 (2,09-5,53) 9,92	1,97 (1,15-5,53) 14,00	1,26 (0,96-1,62) 46,50	2,21 (1,49-3,20) 15,67	0,426
<b>CALCIUM(mg/dL)</b>	10,20 (9,97-10,39) 18,75	9,74 (9,46-10,10) 18,33	10,05 (9,63-10,30) 19,33	10,22 (9,64-10,33) 13,50	9,92 (9,79-10,55) 7,58	0,101
<b>PHOSPHORUS (mg/dL)</b>	8,32 (7,75-8,75) 20,33	8,23 (7,71-8,85) 15,92	8,41 (7,74-8,75) 15,92	7,88 (7,26-8,54) 15,75	7,32 (7,18-7,91) 9,58	0,326
<b>COPPER(µg/dL)</b>	110,00 (102,50-117,50) 23,00	105,00 (100,00-107,50) 16,08	105,00 (95,00-111,25) 14,25	105,00 (85,00-116,25) 17,67	85,00 (80,00-110,00) 6,50	0,022
<b>ZINC(µg/dL)</b>	140,00 (135,00-140,00) <sup>a</sup>	130,00 (122,50-136,25) <sup>a</sup>	120,00 (116,25-137,50) <sup>ab</sup>	137,50 (107,50-141,25) <sup>a</sup>	112,50 (100,00-120,00) <sup>b</sup>	
<b>LEUKOCYTE m/mm<sup>3</sup></b>	10,00 8,59 (7,83-15,28)	18,25 8,35 (6,59-11,49)	14,42 7,26 (6,50-8,71)	18,17 9,43 (8,24-11,53)	16,67 9,32 (7,50-10,94)	0,451
<b>ERYTHROCYTES m/mm<sup>3</sup></b>	8,17 8,05 (7,87-8,52) 14,67	21,25 8,98 (8,38-9,19) 17,67	13,75 8,41 (8,29-8,67) 16,67	17,58 8,69 (8,41-8,79) 14,33	16,75 8,47 (8,35-8,95) 14,17	0,115 0,943
<b>PLATELET m/mm<sup>3</sup></b>	1044,50 (759,25- 1276,75)	1070,00 (987,50 - 1237,25)	1105,50 (984,50 -1241,50)	1001,00 (938,75 - 1201,50)	1015,50 (890,75 - 1222,75)	
<b>HEMOGLOBIN g/dl</b>	12,90 17,30 (16,65-17,65) <sup>ab</sup>	22,08 17,70 (17,47-18,45) <sup>a</sup>	6,25 16,85 (16,50-17,20) <sup>b</sup>	19,00 17,75 (17,15-18,25) <sup>a</sup>	14,42 17,20 (17,15-17,80) <sup>ab</sup>	0,015
<b>HEMATOCRIT %</b>	9,92 44,95 (42,25-46,07)	20,25 46,90 (45,30-48,75)	14,83 46,00 (44,72-46,82)	17,50 46,25 (45,30-47,25)	15,00 45,60 (44,57-47,00)	0,339



**Table 3:** Kidneys, liver, and heart tissue GSH, SOD and MDA levels after water applications**Tablo3:** Su uygulamaları sonunda , böbrek, karaciğer ve kalp dokusunda GSH, SOD ve MDA düzeyleri

	Control Mean Rank Median (25%-75% quartile)	Fresh thermal water Mean Rank Median (25%-75% quartile)	Bottled thermal water Mean Rank Median (25%-75% quartile)	Deionized thermal water Mean Rank Median (25%-75% quartile)	Distilled thermal water Mean Rank Median (25%-75% quartile)	P
<b>KIDNEY TISSUE</b>						
GSH (U/g tissue)	12,17 3,58 (2,35-4,74)	15,25 4,03 (3,58-4,33)	13,33 3,50 (2,39-5,37)	20,83 5,00 (3,58-5,74)	15,92 4,03 (2,84-5,19)	0,484
SOD (U/ µg protein)	16,58 11,15 (8,97-15,79)	17,83 11,27 (9,53-15,8)	18,17 12,9 (9,3-14,88)	8,92 8,65 (6,69-11,08)	16,00 11,75 (7,03-19,49)	0,350
MDA (nmol/g tissue)	21,33 4,49 (3,59-4,77)	9,75 3,03 (2,53-3,46)	16,83 3,22 (3,18-4,43)	12,25 3,18 (2,96-3,57)	17,33 3,72 (2,79-4,75)	0,170
<b>LİVER TISSUE</b>						
GSH (U/g tissue)	10,42 2,54 (1,08-2,91)	16,33 3,06 (2,39-3,84)	18,58 3,73 (1,86-4,48)	15,17 2,98 (1,60-4,21)	17,00 3,21 (1,15-4,66)	0,561
SOD (U/ µg protein)	18,33 16,21 (8,43-19,91)	8,33 10,21 (6,41-11,84)	16,83 13,19 (10,74-16,54)	19,00 14,63 (11,68-17,99)	15,00 13,32 (10,37-14,91)	0,222
MDA (nmol/g tissue)	13,33 1,08 (0,56-1,92)	21,17 2,01 (1,00-2,30)	11,17 0,94 (0,81-1,26)	15,42 1,01 (0,92-1,82)	16,42 1,31 (1,13-1,42)	0,358
<b>HEART TISSUE</b>						
GSH (U/g tissue)	15,75 3,95 (2,90-5,11)	16,17 4,33 (2,12-5,25)	15,33 4,25 (2,27-5,22)	16,67 3,80 (3,05-5,25)	13,58 3,88 (2,54-4,62)	0,980
SOD (U/ µg protein)	15,33 28,25 (13,54-37,03)	17,50 26,53 (16,93-45,19)	17,17 21,29 (17,85-77,88)	9,83 17,18 (13,02-26,18)	17,67 28,13 (18,09-38,58)	0,497
MDA (nmol/g tissue)	7,33 0,65 (0,46-0,86) <sup>c</sup>	10,00 0,77 (0,70-0,81) <sup>bc</sup>	23,25 1,23 (1,08-1,74) <sup>a</sup>	18,33 1,13 (0,76-1,29) <sup>ab</sup>	16,30 0,93 (0,74-1,20) <sup>abc</sup>	0,009

## REFERENCES

- Albertini M. C, Dachà M, Teodori L, Conti M E.** Drinking mineral waters: biochemical effects and health implications – The State-of-The-Art. *Int. J. Environmental Health.* 2007; 1(1): 153–69.
- Benedetti S, Benvenuti F, Nappi G, Fortunati NA, Marino L, Aureli T, De Luca S, Pagliarani S, Canestrari F.** Antioxidative effects of sulfurous mineral water: protection against lipid and protein oxidation. *European Journal Of Clinical Nutrition.* 2009; 63(1):106.
- Beutler E.** “Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods,” 3rd. Ed: Grune and Stratton.1984.
- Costantino M, Giampaolo C, Filippelli A.** Effects of Drinking Spa Therapy on Oxidative Stres. *Clin Ter.* 2012; 163(1):e13-7.
- Çevik C, Eryavuz A, Ulutaş E, Küçük Kurt İ, Bülbül A, Demirel HH, Taşkıran N, Aslan R.** Determination of Influences of Long Time Consumption of Thermal Water and Thermal Water With Vitamin C for Oxidant-Antioxidant Balance and Some Biochemical Parameters in Rats. *KVD.* 2011; 4(2):23-22.
- Draper HH, Hardley M.** Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990; 186:421-431.
- Erer S.** The historical development and the importance of Bursa Kükürtlü baths from the points of view of the Turkish History of Medicine. *J Med Ethics.* 2004; 12:189-195.
- Granados AMP, Carretero SN, Schoppena S, Vaquer MP.** Reduction in cardiovascular risk by sodium-bicarbonated mineral water in moderately hypercholesterolemic young adults. *Journal of Nutritional Biochemistry.* 2010; 21: 948–953.
- Karagülle MZ, Karagülle M.** Balneotherapy and spa therapy in Elderly. *Turkish Journal Of Geriatrics.* 2000; 3: 120.
- Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrejevic S, Cosic V.** Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J Clin Pathol.* 2001; 54: 356-361.
- Luna LG.** Manual of histologic staining methods of the armed forces Institute of Pathology, 3rd Ed., mcgraw-Hill Book Co., New York, 1968; pp: 32-46.

- Mergen H, Mergen EB, Erdoğan AB.** Geothermal Energy and Balneotherapy Applications. FTR Bil Der J PMR. 2006; 9(3):108-113.
- Nasuti C, Gabbianelli R, Cantalamessa F.** Giancarlo Falcioni erythrocyte plasma membrane perturbations in rats fed a cholesterol-rich diet: effect of drinking sulphurous mineral water. Ann Nutr Metab. 2005; 49:9–15.
- Passariello A, DI Costanzo M, Terrin G, Iannotti A, Buono P, Balestrieri U, Balestrieri G, Ascione E, Pedata M, Canani FB, Canani RB .** Crenotherapy Modulates The Expression Of Proinflammatory Cytokines And Immunoregulatory Peptides In Nasal Secretions Of Children With Chronic Rhinosinusitis. Am J Rhinol Allergy. 2012; 26(1):e15-9.
- Schoppen S, Granados AMP, Carbajal A, Oubiña P, Sánchez Muniz FJ, Gómez-Gerique Ja, Pilar Vaquero M.** A sodium-rich carbonated mineral water reduces cardiovascular risk in postmenopausal women. J Nutr. 2004; 134:1058–1063.
- Sharp PE, La Regina MC.** The Laboratory Rat. 1998; pp:29,50.
- Sözbilir BN, Bayşu N.** Biochemistry. 2<sup>th</sup> edition, Ankara.2000; pp: 228, 361-363.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y .** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem, 1988; 34: 497-500.
- Vaccarezza M, Vitale M.** Crenotherapy: a neglected resource for human health now re-emerging on sound scientific concepts. Int J Biometeorol, 2010; 54:491–493.
- İssi M., Gül Y.** Blood and Sampling Techniques in Animal Experiments. JCAM. Online ISSN : 1309-2014. (www.jcam.com.tr/files/KATD-604.pdf. Accessien date: 17.12.2015)
- World Health Organization.** Health Risks From Drinking Demineralized Water. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/nutrientschap12.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/nutrientschap12.pdf); Accessien date: 17.12.2015.

## Sivas İlinde Bazı Hayvancılık İşletmelerinde Kullanılan Sığır Besi Yemlerinde Okratoksin-A Düzeylerinin Belirlenmesi

Kurşat YILMAZ<sup>1</sup>, Dilek AKSU ELMALI<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Sivas İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü, Sivas/TÜRKİYE

<sup>2</sup>Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Antakya-Hatay/TÜRKİYE

Corresponding author e-mail: daksuelmali@hotmail.com

# Bu çalışma, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 10802 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

### ÖZ

Bu çalışmada Sivas yöresinde hayvancılık faaliyeti gösteren besi sığır işletmelerinin kullandıkları karma yem ve arpa örneklerinde okratoksin A'nın varlığı ve miktarı araştırıldı. Bu araştırmaya esas olarak, aralık, şubat ve nisan aylarında işletmelerden 39' ar adet karma yem, 32' şer adet arpa örnekleri alınarak, okratoksin A analizleri spektrofotometrik yöntemle, test kitinde belirtilen protokollere uyularak tespit edildi. Karma yemlerde okratoksin A düzeyleri, aralık, şubat ve nisan olmak üzere dönemlere göre sırasıyla ortalama 0.025, 0.024 ve 0.024 ppm olarak belirlendi. Ortalama okratoksin A düzeyleri arasında aylara göre anlamlı bir farklılık belirlenemedi. Arpada ise aralık, şubat ve nisan olmak üzere dönemlere göre sırasıyla ortalama okratoksin A düzeyleri 0.022, 0.020 ve 0.021 ppm olarak belirlendi. Dönemler arasında önemli bir fark bulunamadı. Karma yemlerdeki okratoksin A düzeyleri aynı dönemdeki arpa okratoksin A düzeylerinden aralık, şubat ve nisan aylarında daha yüksek olup, anlamlı bir farklılık tespit edildi. Sivas ili besi çiftliklerinde kullanılan karma yem ve arpa numunelerinde belli bir düzeyde okratoksin A tespit edildi. İnsan ve hayvan sağlığı açısından yem ve yem ham maddelerinin üretim ve tüketime kadar her aşamada uygun şartların sağlanmasının zaruri olduğuna kanaat edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Arpa, Spektrofotometrik Metot, Okratoksin A, Yem

### Determination of Ochratoxin A Levels in Feeds of Beef Cattle From Some Livestock Enterprises in Sivas

#### ABSTRACT

In this study, presence and amount of ochratoxin A were researched in mixed feed and barley samples used by beef cattle enterprises in Sivas district. In this research, 39 mixed feed and 32 barley samples were received separately from the establishments in December, February and April, and ochratoxin A analyses were conducted through the spectrophotometric method complying with the protocols defined in the test kit. In feeds of beef cattle, ochratoxin A levels were respectively discovered as 0.025, 0.024 and 0.024 ppm on average according to the periods of December, February and April. No significant difference was found between the ochratoxin A levels according to months. In barley, ochratoxin A levels were respectively discovered as 0.022, 0.020 and 0.021 ppm on average according to the periods of December, February and April. No significant difference was found between the periods. The ochratoxin A levels of mixed feeds were found higher than barley within the same period in December, February and April; significant difference was observed. Consequently, a certain level of ochratoxin A was discovered in the mixed feed and barley samples used in the beef cattle enterprises in Sivas. It has been agreed that it is necessary to provide the appropriate conditions at each stage from the production to the consumption of the feeds and feed raw materials for human and animal health.

**Key Words:** Barley, Spectrophotometric Method, Ochratoxin A, Feed

To cite this article: Yılmaz K, Elmali DE. Sivas İlinde Bazı Hayvancılık İşletmelerinde Kullanılan Sığır Besi Yemlerinde Okratoksin-A Düzeylerinin Belirlenmesi. *Kocatepe Vet.J. 2016; 9(3):179-184.*

Yemlerde mikotoksin kirliliği tüm dünyada önemli bir problemdir. *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* türü mantarlar tarafından sentezlenen (Şahindokuyucu Kocası ve Erdemli 2014), biyolojik orijinli metabolitlere “mikotoksin” (Tiryaki ve ark 2011), mikotoksinlerle kirlenmiş yemleri tüketen hayvanlarda görülen zehirlenme olgularına ise “mikotoksikozis” denir (Tayar ve Yarsan 2014).

Ürünler tarlada hasat öncesi (Elden Taydaş ve Aşkın 1995, Şahindokuyucu Kocası ve Erdemli 2014) ve sonrası mikotoksinlerle kirlenebilir (Ayaz ve Yurttagül 2008, Şahindokuyucu Kocası ve Erdemli 2014). Mikotoksin oluşumunda fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörler etkili olup (Erzurum 2001, Tiryaki ve ark 2011), sıcaklık ve nem önemli etkenlerdendir (Bacon ve ark 1973, Ayaz ve Yurttagül 2008).

Okratoksinler, *Aspergillus ochraceus* ve *Penicillium viridicatum* olmak üzere, bu iki cinse bağlı 10’ dan fazla tür tarafından hazırlanan mikotoksin grubudur (Kaya ve ark 1998). Bunlardan genellikle okratoksin A’ ya yem ve yem ham maddelerinde rastlanmakta (Kaya ve ark.1998, Abrunhosa ve ark 2010) ve özellikle okratoksin A’ nın kuvvetli bir toksik etkisi bulunmaktadır (Karagözlü ve Karapınar 1994, Ayaz ve Yurttagül 2008).

Okratoksin A ısıya dayanıklı olup, alkali çözeltileri soğutucuda 1 yıldan uzun süreyle saklanabilir ve otoklav ısısında 3 saat süreyle tutulan tarım ürünlerinde önemli bir parçalanma oluşmaz. Okratoksin üreten mantar türleri çok düşük sıcaklıklarda toksin sentezleyebilmektedir. Özellikle soğuk iklimin hüküm sürdüğü kuzey ülkelerindeki tarım ürünleri ve yemlerde sıklıkla karşılaşılan bir mikotoksin grubudur. Bu nedenle soğuk ülkelerdeki tahıllar ve bunlardan hazırlanan yemler bu toksinlerle genellikle doğal olarak bulaşmıştır (Kaya ve ark 1998).

Okratoksin A halk sağlığı ve tarımsal açıdan büyük öneme sahip mikotoksinlerdendir (Duarde ve ark 2011). Sık sık zehirlenmelere neden olmakta (Kaya ve ark 1998), nefrotoksik, kanserojenik (Höhler 1998, Kabak ve Var 2006), hepatotoksik, teratojenik (Höhler 1998, Denli ve Perez 2010) ve immünyüpresif etkileri bulunmaktadır (Höhler 1998). Bunların yanı sıra, hayvanlarda okratoksinin canlı ağırlık üzerine de olumsuz etkileri bulunmaktadır (Gibson ve Bailey 1990).

Yemlerde okratoksin A varlığı, hayvan sağlığının yanı sıra insan sağlığını da olumsuz etkilediğinden, bu çalışmada Sivas ilinde besi sığır işletmelerinde kullanılan karma yem ve arpalarda okratoksin A’ nın var olup olmadığı araştırılmıştır. Mevcut çalışmadan elde edilecek bulgular, okratoksin A’ dan kaynaklanabilecek problemlerin önlenmesi ve mikotoksinlerin Sivas ilinde ne derecede yaygın olduğu hususu hakkında katkı sağlayabilecektir.

Sivas ilinde rastgele seçilen besi sığır işletmelerinden karma yem ve arpa örnekleri Ergün ve ark (2013)’ ın belirttikleri yönteme göre toplandı. 2013 yılı aralık, 2014 yılı şubat ve nisan aylarında olmak üzere 1’ er ay arayla 3 farklı dönemde; her bir ayda 39 adet karma yem ve 32 adet arpa olmak üzere toplam 71 adet örnek alındı. Alınan örnekler analizleri yapılmaya dek derin dondurucuda saklandı.

Örnekleme tekniğine göre numuneler öğütülerek, %70’ lik metanol solüsyonunda, numune/ekstraksiyon solüsyonu 1/5 olacak şekilde çözdürüldü. En az iki dakika karıştırma işleminin ardından whatman#1 filtre kağıdı ile süzülür. Bu işlemler, çalışmada kullanılan kitin ekstraksiyon prosedürüne göre yapıldı. Numunelerde okratoksin-A analizleri spektrofotometrik yöntemle tespit edildi. Okratoksin-A tespiti amacıyla uygulanan yöntem ticari test kitinde belirtilen spektrofotometrik analiz test protokolüne göre yapıldı. Ochratoxin A Assay Elisa Kit (Helica Biosystem Inc; 9410CH01M-96) kullanıldı.

Araştırmada yem örneklerinde aylara göre farklılık olup olmadığını belirlemek için, tekrarlı ölçümlerde varyans analizi, karma yem ve arpa grupları karşılaştırılırken de bağımsız örneklemler t-testi yapıldı. Sıklık, minimum-maksimum değerlerin belirlenmesinde ve elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, SPSS (2002) istatistik paket programından yararlanıldı.

## BULGULAR

### Karma Yemlerdeki Okratoksin A Düzeyleri:

Karma yemlerde aralık, şubat ve nisan olmak üzere üç (3) dönem halinde okratoksin A düzeyleri belirlendi. Okratoksin A düzeyleri 0.020 ppm temel alınarak (Yıldız 2009) sıklıkları ve yüzdeleri Tablo 1’ de belirtilmektedir.

**Table 1:** The ochratoxin A frequency levels of mixed feeds

**Table 1:** Karma yem örneklerinde okratoksin A sıklık düzeyleri

Örnek	Dönem	n	≤ 0.020 ppm		> 0.020 ppm	
			Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Karma Yem	Aralık	39	5	12.82	34	87.18
	Şubat	39	10	25.64	29	74.36
	Nisan	39	0	0	39	100

Örnek alımlarının son ayı olan nisan ayında, örneklerin %100’ nde de okratoksin A düzeylerinin 0.020 ppm’ den daha yüksek olduğu görülmektedir.

**Table 2:** The average ochratoxin A levels of mixed feeds according to months (ppm)

**Table 2:** Karma yem örneklerinde aylara göre ortalama okratoksin A düzeyleri (ppm)

Örnek	Dönem	n	Minimum	Maksimum	X±Sx
Karma Yem	Aralık	3	0.018	0.029	0.025±0.003
	Şubat	3	0.017	0.030	0.024±0.004
	Nisan	3	0.021	0.030	0.024±0.003

Dönemler arasında fark önemli değildir (P > 0.05).

Aralık, şubat ve nisan olmak üzere dönemlere göre sırasıyla ortalama okratoksin A düzeyleri (ppm) 0.025, 0.024 ve 0.024 olarak belirlendi. Ortalama okratoksin A düzeyleri arasında aylara göre anlamlı bir farklılık belirlenemedi (Tablo 2).

**Arpadaki Okratoksin A Düzeyleri:** Arpa örneklerinde aralık, şubat ve nisan olmak üzere üç (3) dönem halinde okratoksin A düzeyleri belirlendi. Sıklıkları ve yüzdeleri 0.020 ppm temel alınarak Tablo 3' te belirtilmektedir.

**Table 3:** The ochratoxin A frequency levels of barley samples

**Table 3:** Arpa örneklerinde okratoksin A sıklık düzeyleri

Örnek	Dönem	n	≤ 0.020 ppm		> 0.020 ppm	
			Sayı	Yüzde	Sayı	Yüzde
Arpa	Aralık	32	6	18.75	26	81.25
	Şubat	32	19	59.37	13	40.63
	Nisan	32	7	21.87	25	78.13

**Table 4:** The average ochratoxin A levels of barley samples according to months (ppm)

**Table 4:** Arpa örneklerinde aylara göre ortalama okratoksin A düzeyleri (ppm)

Örnek	Dönem	n	Minimum	Maksimum	X±Sx
Arpa	Aralık	32	0.008	0.025	0.022±0.005
	Şubat	32	0.014	0.028	0.020±0.004
	Nisan	32	0.013	0.025	0.021±0.004

Dönemler arasında fark önemli değildir (P > 0.05).

Aralık, şubat ve nisan olmak üzere dönemlere göre sırasıyla ortalama okratoksin A düzeyleri (ppm) 0.022, 0.020 ve 0.021 olarak belirlendi. Ortalama okratoksin A düzeyleri arasında aylara göre anlamlı bir farklılık belirlenemedi (Tablo 4).

**Karma Yem ve Arpada Okratoksin A Düzeylerinin Karşılaştırılması:** Karma yemlerdeki ve arpada her üç dönemde de ayrı ayrı okratoksin A düzeyleri karşılaştırıldı. Aralık, şubat ve nisan ayı olmak üzere her üç dönemde de karma yemlerdeki okratoksin A düzeylerinin arpadaki düzeylerinden yüksek olduğu belirlendi (sırasıyla P<0.01; P<0.001; P<0.01). Aylara göre karma yem ve arpa örneklerinde okratoksin A düzeyleri Tablo 5' te verilmektedir.

**Table 5:** The ochratoxin A levels of mixed feeds and barley (ppm)

**Table 5:** Karma yem ve arpada okratoksin A düzeyleri (ppm)

Aylar	Gruplar	
	Karma Yem (n = 39) X±Sx	Arpa (n = 32) X±Sx
Aralık*	0.025±0.003	0.022±0.005
Şubat**	0.024±0.004	0.020±0.004
Nisan*	0.024±0.003	0.021±0.004

\* P<0.01 \*\* P<0.001 Gruplar arasında anlamlı düzeyde fark vardır.

## TARTIŞMA

**Besi Sığırlarının Tüketimine Sunulan Karma Yemlerde Okratoksin A:** Okratoksin A' nın belirlenen miktarı 20 ppb temel alındığında, aralık, şubat ve nisan aylarında alınan örneklerde sırasıyla %87.18, %74.36 ve %100' ünün 20 ppb' den büyük miktarlarda olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Nitekim Yıldız (2009) araştırma sonucunda, sığır besi yemlerinin %20.69' unda okratoksin A tespit edememişken, %31.03' ünde okratoksin A seviyelerinin 20 ppb' den daha yüksek olduğunu belirlemiştir. Bunun yanı sıra ruminant karma yemlerinde %80.65 (1.10-975.00 ppb) okratoksin A tespit edildiği bildirilmiştir. Yıldız (2009)'ın araştırmasında, örneklerin alındığı bölgeler çok geniş bir alanı kapsadığından, ortalama değerler de bu çalışma verilerinden daha geniş bir aralıkta seyretmiş olabilir. Nitekim Yıldız (2009) araştırmasında ruminant karma yemlerinde okratoksin A kirliliğini maksimum 975.00 ppb olarak bildirmiştir. Bunların yanı sıra Marmara ve Ege bölgesinde 20 ppb' den yüksek okratoksin A kirliliğini sırasıyla %52.94 ve %46.67 olarak belirtmektedir.

Okratoksin A' nın yemlerdeki düzeyleri üzerine bir çok faktör etki etmektedir. Mikotoksin oluşumunda, nem, sıcaklık, mekanik etkiler gibi fiziksel faktörler; karbondioksit, oksijen, substratın kimyasal yapısı, yapılan kimyasal uygulamalar, gübreleme gibi kimyasal faktörler ve bitki dayanıklılığı, genetik gibi biyolojik faktörler rol almaktadır (Erzurum 2001). Özellikle, bu çalışmada örneklerin Sivas ilinden elde edildiği göz önüne alındığında ve bununla birlikte bölgesel farklılıklar, mevsim, nem gibi değişkenler Yıldız (2009)' un çalışmasındaki verilerden daha farklı olmasına neden olabilir.

Grajewski ve ark (2012) 2006-2009 yılları arasında tahıl karışımlarında okratoksin A düzeylerini ortalama 675 ppb olarak bildirmektedir. Bu çalışmada ise, karma yemlerde şubat ve nisan aylarında maksimum 30 ppb olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Mevcut bölgesel farklılıkların yanı sıra (Elden Taydaş ve Aşkın 1995), ham maddeler işleme esnasında da kontamine olabilmektedir (Kabak ve

Var 2006). Karışımlarda kullanılan ham madde farklılıkları da okratoksin A' nın yemlerde oluşan düzeyleri üzerine etkili olabilir. Bu nedenlerle, çalışmada okratoksin A düzeyleri Grajewski ve ark (2012)' in bildirdiklerinden daha düşük belirlenmiş olabilir.

Özkazanç ve ark (1992), 1987 - 1989 tarihlerinde sığır besi yemlerinde okratoksin A' ya rastlama sıklığını %15.3 olarak bildirmiş ve 1987-1989 tarihlerinde sığır besi yemlerinde ortalama okratoksin A düzeyini 120 ppb olarak belirtmiştir. Yine karma yem ve yem ham maddelerinde bölgelere göre okratoksin A düzeyi ortalama olarak 31.6 ppb olarak bildirilmiştir. Özkazanç ve ark (1992) çalışmalarında, okratoksin düzeylerini yapılan bu çalışmadan çok yüksek olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada daha düşük okratoksin A belirlenmesi, zamanla ürün zincirindeki gelişmelerden kaynaklanmış olabilir.

Erzurum ilinde yemlerde okratoksin seviyeleri ortalama 4.93-7.09 ppb aralığında bildirilmiştir (Polat 2012). Bu çalışmada bulgular Polat (2012)' in sonuçlarından daha yüksek olarak belirlenmiştir. Nitekim Polat (2012)' in çalışmalarından daha yüksek okratoksin A düzeylerinin elde edilmesinde nisbi hava nemi etkili olmuş olabilir. Mikotoksin oluşumunda substrat nemi, kurutmadaki hızlilik, nisbi hava nemi, mekanik yaralanma gibi faktörler; bitki dayanıklılığı, gibi biyolojik özellikler, etkili olup (Erzurum 2001), elbette küfle bulaşma ortam koşullarına bağlı olarak başlayabilir ve uygulanan işlemler esnasında artabilir (Elden Taydaş ve Aşkın 1995). Sonal ve Oruç (2000)' un çalışmalarında, karma yemlerde minimum 0.1 ppb, maksimum 7.4 ppb olmak üzere, ortalama 4.36 ppb okratoksin A, Şahindokuyucu Kocasarı ve ark (2013)' in araştırmalarında da, besi sığırları karma yemlerinin %46.7' sinde okratoksin A kirliliği belirlendiği ve okratoksin A düzeylerinin minimum 1.01 ppb, maksimum 10.76 ppb, ortalama 3.41 ppb olarak tespit edildiği belirtilmektedir. Sonal ve Oruç (2000) ile Şahindokuyucu Kocasarı ve ark (2013)' in bulguları bu çalışma verilerinden daha düşük seviyede bildirilmektedir.

Çalışmada karma yemlerde aralık, şubat ve nisan olmak üzere üç (3) dönem halinde okratoksin A düzeyleri (ppm) dönemlere göre sırasıyla ortalama 0.025, 0.024 ve 0.024 olarak belirlenmiştir. Ortalama okratoksin A düzeyleri arasında aylara göre anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir (Tablo 2).

Yapılan bir araştırmada, ilkbahar ve yaz mevsiminde yem örneklerinde sonbahar ve kış mevsimindeki yemlerden belirgin derecede daha yüksek okratoksin A kirliliği tespit edilmiştir (Polat 2012). Bilindiği gibi sıcaklık da mikotoksin üretimi üzerinde etkili olup (Bacon ve ark 1973), mantarlar genellikle geniş bir sıcaklık aralığında gelişirler (Tunail 2000). Ancak sıcaklığın yanı sıra mantar türleri de mikotoksin üretiminde önemli bir husustur. Nitekim, mantar

türleri arasındaki genetik farklılık mikotoksin oluşumunda etkilidir (Erzurum 2001).

### **Besi Sığırlarının Tüketimine Sunulan Arpadaki Okratoksin A:**

Arpa örneklerinde aralık, şubat ve nisan olmak üzere üç (3) dönem halinde okratoksin A düzeyleri (ppm) dönemlere göre sırasıyla ortalama 0.022, 0.020 ve 0.021 olarak belirlenmiştir. Bu düzeyler arasında aylara göre anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Karagözlü ve Karapınar (2000) çalışmalarında bazı buğdaygillerde okratoksin A düzeylerini 0.27-9.84 ppb aralığında bildirmektedir. Karagözlü ve Karapınar (2000)' in çalışmalarında en yüksek düzey 9.84 ppb ile mısırdaki bildirilmektedir. Nitekim Yıldız (2009), arpanın %78.57' sinde Okratoksin A tespit edilmediğini ifade etmektedir. Küfle bulaşmayı ve mikotoksinlerin üretimi üzerine birçok faktör etkili olduğundan (Bacon ve ark 1973, Elden Taydaş ve Aşkın 1995), Karagözlü ve Karapınar (2000) ve Yıldız (2009)' in çalışmalarından farklı sonuçlar elde edilmiş olabilir.

Bu araştırmada, aralık ayı numunelerinin %81.25' inde, şubat ayı numunelerinin %40.63' ünde ve nisan ayı numunelerinin ise %78.13' ünde okratoksin A 20 ppb' nin üzerinde tespit edilmiştir (Tablo 3). Yapılan başka bir çalışmada ise arpa örneklerinin %7.14' ünde, yarfıstığının %100' ünde 20 ppb' nin üzerinde okratoksin A tespit edildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada bölgelere göre yemlerdeki okratoksin A miktarlarını karşılaştırdıklarında, en yüksek düzeyde Marmara bölgesinin (%52.94) 20 ppb üzerindeyken, İç Anadolu bölgesinin (%17.86) 20 ppb üzerinde dördüncü sırada yer aldığı ifade edilmektedir (Yıldız 2009).

Bu çalışmada düzeylerin 20 ppb üzerinde olma yüzdesi Yıldız (2009)' in bildirdiğinden daha yüksektir. Bu durum çevre, sıcaklık ve nem gibi etken farklılıklarından kaynaklanabilir. Nitekim yapılan bir araştırmada, %15 nem içeren arpa örneklerinde okratoksin A tespit edilememişken, 20 haftalık süreçte, %19 nem içeren arpada okratoksin A düzeyinin 24 ppb' ye yükseldiği belirtilmektedir (Abramson ve ark 1999). Abramson ve ark (1999)' in çalışma bulguları yapılan bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Yapılan bir araştırmada, arpa örneklerinde okratoksin A belirlenmediği ifade edilmiştir (Türköz Bakırcı 2014). Olsson ve ark. (2002) arpa örneklerinde, okratoksin A düzeylerini 0-934 ppb aralığında ve ortalama 57 ppb seviyesinde bildirmiştir. Bu farklılıkların nedeni, bölgesel iklim değişiklikleri olabilir.

Veldman ve ark (1992)' in çalışmalarında analizi yapılan örneklerin %27' sinin okratoksin A ile kontamine olduğu belirtilmektedir. Okratoksin A seviyesi 18 ppb iken, en yüksek düzeyin ham maddelerden arpada olduğu ve 120 ppb olarak tespit edildiği bildirilmektedir. Veldman ve ark. (1992)' nin belirttiği ortalama okratoksin A düzeyleri bu çalışmayla benzerlik gösterirken, arpadaki okratoksin

A, bu araştırmanın verilerinden oldukça yüksek tespit edilmiştir.

## SONUÇ

Yapılan çalışma sonucunda Sivas ili besi çiftliklerinde toplanan karma yem ve arpa numunelerinde okratoksin A tespit edilmiştir. Yemlerde okratoksin A kirliliğinin önüne geçilmesi için hijyen koşullarına ve depolama şartlarına dikkat edilmesi gerektiği ve ayrıca, yem ham maddelerinin depolanmadan önce yeterli kuru madde düzeyine ulaşmasının sağlanması, bölgedeki yağış ve nem düzeyi göz önüne alınarak özellikle bahar aylarında yemlerdeki okratoksin A düzeyinin yükselmemesi için yem saklama koşullarına dikkat edilmesi gerekmektedir.

Sonuç olarak hayvan yemlerinin hijyeni hem hayvan sağlığı hem de insan sağlığı için çok önemlidir. Mikotoksinler, hayvansal gıdalar aracılığı ile insan sağlığını da tehdit edebileceği için hayvancılık işletmelerinin bilinçlendirilmesinin sağlanması ve yetiştiriciden tüketiciye dek tüm aşamalarda gerekli önlemlerin alınması hayvan ve insan sağlığı açısından faydalı olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Abramson D, Hulasare R, White NDG, Jayas DS, Marquardt RR.** Mycotoxin Formation in Hullless Barley During Granary Storage at 15 and 19% Moisture Content. *Journal of Stored Products Research*. 1999; 35: 297-305.
- Abrunhosa L, Paterson RRM, Venâncio A.** Biodegradation of Ochratoxin A for Food and Feed Decontamination. *Toxins*. 2010; 2 (5): 1078-1099.
- Ayaz A, Yurttagül M.** Besinlerdeki Toksik Öğeler-I. Sağlık Bakanlığı yayını, Klasmat Matbaacılık, Birinci basım, Ankara, 2008.
- Bacon CW, Sweeney JG, Robbins JD, Burdick D.** Production of Penicillic Acid and Ochratoxin A on Poultry Feed by *Aspergillus ochraceus*: Temperature and Moisture Requirements. *Applied Microbiology*. 1973; 26 (2): 155-160.
- Denli M, Perez JF.** Ochratoxins in Feed, A Risk for Animal and Human Health: Control Strategies. *Toxins*. 2010; 2: 1065-1077.
- Duarte SC, Lino CM, Pena A.** Ochratoxin A in Feed of Food-producing Animals: An Undesirable Mycotoxin with Health and Performance Effects. *Vet Microbiol*. 2011; 154 (1-2): 1-13.
- Elden Taydaş E, Aşkın O.** Kırmızı Biberlerde Aflatoksin Oluşumu. *Gıda*. 1995; 20 (1): 3-8.
- Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersan MK, Küçükersan S, Şehu A, Saçaklı P.** Yemler Yem Hijyeni ve Teknolojisi. 5. Baskı, Pozitif Baskı, Ankara, 2013.

- Erzurum K.** Gıdalarda Mikotoksin Oluşumunu Etkileyen Faktörler. *Gıda*. 2001; 26 (4): 289-293.
- Gibson RM, Bailey CA.** Impact of L-Phenylalanine Supplementation on The Performance of Three-Week-old Broilers Fed Diets Containing Ochratoxin A. 1. Effects on Body Weight, Feed Conversion, Relative Organ Weight, and Mortality. *Poultry Science*. 1990; 69: 414-419.
- Grajewski J, Błajet-Kosicka A, Twaruzek M, Kosicki R.** Occurrence of Mycotoxins in Polish Animal Feed in Years 2006–2009. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2012; 96 (5): 870-877.
- Höhler D.** Ochratoxin A in Food and Feed: Occurrence, Legislation and Mode of Action. *Z Ernährungswiss*. 1998; 37: 2–12.
- Kabak B, Var I.** Üzüm Üzüm suyu ve Şarapta Okratoksin A Sorunu. Türkiye 9. Gıda Kongresi. Bolu, 2006; s. 421-424.
- Karagözlü N, Karapınar M.** Okratoksikozis ve Okratoksijenik Küfler. *Gıda*. 1994; 19 (4): 277-281.
- Karagözlü N, Karapınar M.** Bazı Tahıl Ürünlerinde Okratoksin-A ve Fungal Kontaminasyon. *Turkish Journal Of Biology*. 2000; 24: 561-572.
- Kaya S, Pirinççi İ, Traş B, Bigili A, Baydan E, Akar F, Doğan A.** Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. Medisan Yayınevi, Ankara, 1998.
- Olsson J, Börjesson T, Lundstedt T, Schnürer J.** 2002. Detection and Quantification of Ochratoxin A and Deoxynivalenol in Barley Grains by GC-MS and Electronic Nose. *International Journal of Food Microbiology*. 2002; 72: 203–214.
- Özkazanç AN, Russel-Sin H, Şanlı Y, Kaya S.** Türkiye' nin Değişik Bölgelerinde Üretilen Karma Yem ve Yem Ham Maddelerinin Mikotoksinlerle Kirlenme Durumunun İncelenmesi. *A. Ü Vet. Fak. Derg*. 1992; 39 (1-2): 268-290.
- Polat N.** 2012. Erzurum ilindeki bazı süt sığırtı işletmelerinde kullanılan kaba, konsantre ve karma yemlerde total aflatoksin, aflatoksin B<sub>1</sub> ve okratoksin ile sütte aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin tespiti. Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 2012.
- Sonal S, Oruç HH.** Bursa Bölgesindeki Tavuk Çiftliklerinden Sağlanan Yemlerde Mikotoksin Düzeyleri. *YYÜ. Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2000; 11 (2): 1-6.
- SPSS Inc.** Statistical Package for Social Sciences (SPSS 11.5 for Windows). Chicago, II, USA, 2002.
- Şahindokuyucu Kocasanı F, Mor F, Oğuz MN, Karakaş Oğuz F.** Occurrence of Mycotoxins

- in Feed Samples in Burdur Province, Turkey. Environ Monit Assess. 2013; 185: 4943–4949.
- Şahindokuyucu Kocasarı F, Erdemli SB.** Mikotoksinlerin İnsan ve Hayvanlar Üzerindeki Etkileri. Ayrıntı. 2014; 2 (19): 49-54.
- Tayar M, Yarsan E.** Veteriner Halk Sağlığı. Dora Basım-Yayın Dağıtım Ltd. Şti., Bursa, 2014.
- Tiryaki O, Seçer E, Temur C.** Yemlerde Mikotoksin Oluşumu, Toksisiteleri ve Mikotoksin Kalıntı Analizleri. Anadolu. 2011; 21 (1): 44-58.
- Tunail N.** Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını, Sim matbaası, Ankara, 2000.
- Türköz Bakırcı G.** Tahıl ve Tahıl Ürünlerinin Aflatoksin, Okratoksin A, Zearalenon, Fumonisin ve Deoksinivalenol Mikotoksinleri Yönünden İncelenmesi. Akademik Gıda. 2014; 12 (2): 46-56.
- Veldman A, Borggreve GJ, Mulders EJ, Van De Lagemaat D.** Occurrence of The Mycotoxins Ochratoxin A, Zearalenone and Deoxynivalenol in Feed Components. Food Additives and Contaminants. 1992; 9 (6): 647-655.
- Yıldız G.** Türkiye' de Çeşitli Hayvancılık İşletmelerinde Kullanılan Karma Yemlerin ve Yem Ham Maddelerinin Okratoksin A Kirliliği Yönünden İncelenmesi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2009; 56: 131-135.



## Effect of Some Risk Factors on Subclinical Mastitis in Dairy Cows<sup>#</sup>

Resul KOÇYİĞİT<sup>1</sup>, Oktay YILMAZ<sup>2</sup>, Erhan ÖZENÇ<sup>2</sup>, Mehmet UÇAR<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Ministry of Food, Agriculture and Livestock, Çankaya District Offices, Ankara/TURKEY

<sup>2</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Obstetrics and Gynaecology Department, Afyonkarahisar/TURKEY

Corresponding author e-mail: mucar@aku.edu.tr

<sup>#</sup> This study was financially supported by Afyon Kocatepe University Scientific Research Commission (11.SAG.BIL.05) under thesis project.

### ABSTRACT

The present study was performed to investigate the effect of some risk factors on subclinical mastitis in dairy cows. California Mastitis Test (CMT) was performed on 774 mammary quarters of 195 Holstein Friesian, Swiss Brown and Simmental cows and at least one CMT positive 125 milk samples of 100 cows were included into the study. Milk samples were evaluated microbiologically and antibiotic sensitivity test was carried out. CMT positive cows rate was 51.28% and 63% of these animals showed positive microbiological growth. CMT positive samples percentage found 16.14% in all mammary quarters (n:774) and 60.80% of milk samples collected from CMT positive mammary quarters showed microbiological growth. *E.coli*, *Candida* spp., *S.uberis*, Coagulase Negative Staphylococcus, *S.aureus*, *Protens* spp., and *Bacillus* spp. were isolated as 28.9, 24.21, 19.53, 19.53, 3.9, 2.34 and 1.56%, respectively. According to farm localization, CMT positive cows did not show significant difference between lactation number/period and age. Moreover, farm localization, age, lactation number/period, breed and localization of mammary quarters did not affect CMT scores and microbiological results. Microbiologically positive samples showed that microorganisms were sensitive against amoxicillin+clavulanic acid and oxytetracycline, whereas those were resistant against gentamycin, ceftiofur, enrofloxacin and cefquinome. In conclusion, it is thought to be that age, breed, lactation number and lactation period of cows are not effective factors causing subclinical mastitis as much as inadequate hygiene, improper milking system and mastitis control programs. Furthermore, it is strongly suggested that ampicic antibiotic therapy can be an important risk factor for contributing antibiotic resistance.

**Key words:** Age, Antibiotic Sensitivity Test, Dairy Cow, Lactation Number, Lactation Period, Mammary Quarter's Position, Risk Factors, Subclinical Mastitis

## Sütçü İneklerde Bazı Risk Faktörlerinin Subklinik Mastitis Üzerine Etkileri ÖZ

Sunulan çalışma, süt inekçiliği işletmelerinde subklinik mastitis oluşumuna etki eden bazı risk faktörlerini araştırmak için yürütüldü. Yüzdoksanbeş Holştayn, Esmer ve Simental ırkı sütçü ineklerin 774 meme lobuna Kaliforniya Mastitis Test (CMT) uygulandı ve en az bir meme lobu CMT pozitif reaksiyon veren 100 inekğin 125 meme lobundan mikrobiyolojik yoklamalar ve antibiyotik duyarlılık testleri için süt örnekleri alındı. CMT pozitif inek oranı %51.28 olarak belirlenirken, bu hayvanların %63'ünün sütünde üreme gözlemlendi. Meme loblarının (n:774) %16,14'ünde CMT pozitif reaksiyon gözlenirken bunların %60,80'inde üreme gözlemlendi. Mikrobiyolojik yoklamalarda *E.coli* %28.9, *Candida* spp. %24.21, *S.uberis* ve Koagulaz Negatif Stafilokoklar %19.53, *S.aureus* %3.9, *Protens* spp. %2.34 ve *Bacillus* spp. %1.56 oranlarında gözlemlendi. CMT pozitif olan hayvanların yerleşim yerlerine göre laktasyon sayısı/dönemi ve yaş ortalamaları arasında istatistikî fark belirlenmedi. İneklerin yerleşim yerinin, yaşlarının, laktasyon sayılarının/dönemlerinin, ırk özelliklerinin ve numunelerin alındığı meme lobu lokalizasyonunun CMT skorlarına ve mikrobiyolojik sonuçlara etkilerinin olmadığı gözlemlendi. Çalışmada üreyen bakterilerin amoksisilin+klavulonik asit ve oksitetrasiklin gibi antibiyotiklere duyarlı oldukları, gentamisin, seftiofur, enrofloksasin ve sefkuinom'a dirençli oldukları tespit edildi. Sonuç olarak ineklerin yaşı, ırkı, laktasyon sayısı ve laktasyon dönemi gibi faktörlerin subklinik mastitis oluşumunda, yetersiz hijyen, uygun olmayan sağım sistemi ve mastitis kontrol programları kadar etkili olmadıkları düşünülmektedir. Ayrıca bilinçsizce kullanılan antibiyotik tedavilerinin bazı antibiyotiklerin bakterilere karşı dirençli hale gelmesinde önemli bir risk faktörü olduğu ileri sürülebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyotik Duyarlılık Testi, Laktasyon Dönemi, Laktasyon Sayısı, Meme Lobu Pozisyonu, Risk Faktörleri, Subklinik Mastitis, Sütçü İnek, Yaş

To cite this article: Koçyiğit R, Yılmaz O, Özenç E, Uçar M. Effect of Some Risk Factors on Subclinical Mastitis in Dairy Cows. *Kocatepe Vet J*. 2016; 9(3):185-193.

## INTRODUCTION

Mastitis is the inflammatory reaction of mammary gland and causes economic loss in dairy cattle. Breed, age, milk yield, lactation period and number, milking, season, feeding and housing conditions play key roles in aetiology of mastitis (Baştan 2010). Bacteria (*S.aureus*, *S.agalactiae*, *Mycoplasma bovis*, *Corynebacterium bovis*, environmental *streptococci* and *coliforms*) and their toxins (Murinda et al. 2002), yeast and fungi are responsible from the infection (Stanojevic and Krnjajic, 2004).

Clinical mastitis is characterized by visible inflammatory changes of udder and milk. Subclinical mastitis, the most common form of mastitis, does not cause any visible changes in udder and milk however, it is diagnosed by some clinical and chemical tests as well as bacteriology and the presence of increasing somatic cell count (SCC) (Baştan 2010).

The healthy milk consists of 200.000 somatic cell per ml (Baştan 2010). Increased SCC is a criteria for diagnosis of subclinical mastitis. California Mastitis Test (CMT) is a simple cow-side indicator of the somatic cell count and pH of milk. It provides a useful technique for detecting subclinical mastitis. It operates by disrupting the cell membrane of any cells present in the milk sample, allowing the DNA in those cells to react with the test reagent, forming a gel (Schalm et al. 1971; Philpot and Nickerson 1991). The isolation, identification and antibiotic sensitivity tests should be performed following the detection of higher SCC in milk samples (Kuyucuoğlu and Uçar 2001).

Subclinical mastitis depends on many risk factors such as location of the farms, milking procedures and conditions of cows. The study was performed to reveal the effect of location of farms and condition of animals (age, lactation number, lactation period, breed and mammary quarters) on subclinical mastitis diagnosed by CMT and bacteriology in dairy farms in Mudurnu region of Bolu, Turkey.

## MATERIALS and METHODS

The study was performed in 195 dairy cows (Holstein Friesian, Brown Swiss and Simmental) housed in 32 farms located in five settlements (named as A, B, C, D and E) in Mudurnu region of Bolu. The CMT was applied to total of 774 mammary quarters following the inspection and palpation of each udder. Accordingly, at least one mammary quarter of 100 cows displaying CMT positive reaction was evaluated. The information of age, lactation number and lactation period (month) of the animals was recorded. Moreover, CMT results

were evaluated as CMT +1, +2 and +3; mammary quarters (n: 125) were recorded as right front, right rear, left front and left rear. Sterile milk samples collected from CMT positive mammary quarters were transported to laboratory of Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ankara University, at + 4 °C.

Isolation and identification of bacteria was performed in a routine manner described by Koneman et al. (1992). Kirby-Bauer Disc Diffusion method was used to apply antibiotic sensitivity tests. In order to determine susceptibility, the discs of amoxicillin+clavulonic acid 30µg, enrofloxacin 5µg, gentamycin 10µg, oxytetracyclin 30µg, penicillin 10µg, ceftiofur 30µg, cefquinome 10µg were used and evaluated according to the primary, secondary, and tertiary zone diameters.

The statistical analysis of data obtained throughout the study was performed by using SPSS 16.0 program. Chi square test was used to determine the difference between the locations of farms. The differences between the average value of age, lactation number and lactation period as compared to locations of farms were tested by one way variance analysis (ANOVA). Tukey and Duncan tests were used to determine the significance between and in groups. The effect of location of farms, age, lactation number, lactation period, breed and udder on CMT scores (+1, +2, +3) and bacteriology (+: 1, -: 0) was evaluated by univariate variance analysis (General linear model). The relationship between CMT scores and the presence of bacteria was evaluated by Pearson correlation analysis

## RESULTS

The distribution of breed and number of 100 cows due to the locations is given in Table 1. According to the locations, there were no statistical differences between CMT positive cows and also between bacteria isolated cows (Table 2). Moreover we did not find any statistical difference between CMT positive mammary quarters and also between bacteria isolated milk samples (Table 2). However, CMT scores and percentage of bacteria isolated from those showed no significant difference as compared to location of the farms (Table 3). Furthermore, the distribution rates of isolation of bacteria in those locations (Table 4) and cows having CMT positive scores and distribution of identified bacteria as compared to udder(s) did not display significant difference (Table 5).

There was no significant difference between age, location, lactation number and lactation period of cows having CMT positive scores (Table 6). Besides,

it was observed that location of farms, age, lactation number, lactation period, breed and milk samples collected from udder(s) did not affect the CMT scores and the results of bacteriology (Table 7). The antibiotic susceptibility test showed that the all isolated bacteria were resistant against gentamycin, ceftiofur, enrofloxacin and cefquinome (Table 8).

## DISCUSSION

In the present study which subclinical mastitis was firstly researched in Bolu province, the percentage of cows showed CMT positive score(s) was 51.28 % and isolation and identification of bacteria was achieved from 63% of those cows. Ergün et al. (2004) reported that the rate of CMT positive cows was 71.8% in family-type farms in Hatay province, Turkey. The reason of highly detected CMT positive cows may be due to absence of mastitis control programs such as pre and post dipping in family farms as it was suggested in our study (Uçar et al. 1997). In contrary, Alaçam et al. (1986) stated the lower (14.11 %) rates of CMT positive cows. In the present study, the rates of CMT positive cows in different farms display no statistical difference (Table 2). These results showed that rate of CMT positive cows might be high or low, without statistical differences, related to location of farms as well as implementation of mastitis control programs.

It was detected that 16.14% of totally examined 774 mammary quarters showed CMT positive scores. Moreover, bacteria were isolated from 60.80% of those mammary quarters (Table 2). Ergün et al. (2004) reported that they had found 40.90% CMT positive mammary quarters from 640 evaluated mammary quarters. Additionally, aerobic bacteria were isolated from 76.30% of CMT positive mammary quarters. In addition to this, Özenç et al. (2008) stated that bacterial growth was detected only 30.10% CMT>0 scores. The reason of observing no isolation of bacteria from all CMT positive mammary quarters in that reports and our study (Table 2) might be related to agent of infection, some environmental factors and healing process or slightly dated of infection. Moreover, it is suggested that viral infection or aseptic mastitis may also be associated with lack of isolation (Uçar 1999).

The rate of +1, +2 and +3 CMT positive scores was 79.20 %, 16.00 % and 4.80 %, respectively (Table 3). Baştan et al. (1997) reported in their study that +1, +2 and +3 CMT scores were 21.18 %, 30.60 % and 20.20 %, respectively. In our study, we found that the incidence rate of CMT positive cows decreased, when CMT scores increased. Additionally, the rate of isolation of bacteria in +1, +2 and +3 scores were 57.58 %, 85.00 % and 66.67 %, respectively (Table 3). It was observed that unless the rate of isolation of

bacteria did not show any significant difference, the rate of bacterial isolations were higher for +2 and +3 CMT scores. This might be related to mild form nature of CMT +1 subclinical mastitis or healing process of any infection. Moreover, it is suggested that milking hygiene and personnel, optimization and management of milking may play role in increasing CMT scores (Çoban and Tüzemen 2007).

In the present study, the bacteriology of cows having positive CMT scores revealed that the isolation rate of *E.coli*, *Candida* spp., *S.uberis* and Coagulase Negative Staphylococcus (CNS), *S.aureus*, *Proteus* spp. and *Bacillus* spp. was 28.9 %, 24.21 %, 19.53 %, 3.9 %, 2.34 % and 1.56 %, respectively (Table 4). Ergün et al. (2004) reported that CNS (%42.60), *S.aureus* (25.20 %), *S.uberis* (11.30 %), *S.agalactiae* (6.5 %), *S.dysgalactiae* (6.50 %), *Bacillus* spp. (2.30 %), *P.auriginosa* (1.70), *S.faecalis* (0.90 %) and *E.coli* (1.70 %) were isolated and identified. Rişvanlı and Kalkan (2002) stated the isolation rates for *S.aureus*, *S.epidermidis*, *S.enteridis*, Yeast, *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., and *Pseudomonas* spp. as 67.17 %, 20.61 %, 4.24 %, 4.85 %, 1.81 %, 0.61 % and 0.61 %, respectively. Similar microorganisms were isolated in our study however, the rate of isolation of them showed differences. The isolation of wide range and number of bacteria in farms might be related to mastitis control programs, milking management, transfer of new cows into the herd and mostly environmental factors. In the present study, it was seen that *E.coli*, *S.uberis*, CNS and *Candida* spp. were the most dominant microorganisms causing infection, while *S.aureus*, *Proteus* spp. and *Bacillus* spp. were not isolated in some of the farms (Table 4).

The present study demonstrated that the average age, lactation number and lactation period of cows located in different farms did not show any significant difference between those parameters and location of farms (Table 6). Therefore, it is concluded that those factors might be similarly effective on occurrence of mastitis. However, it was found that location of farms was ineffective on CMT score(s) and bacteriology findings (Table 7). Çoban et al. (2007) reported that SCC did not show any discrepancies between different farms. They also concluded that the presence of similar SCC might be due to similar management strategies and location of farms.

In the present study, we found that the presence of no significant correlation between age and incidence of subclinical mastitis (Table 7). Şeker et al. (2000) stated the correlation between age and rate of CMT positive score. Sabuncuoğlu et al. (2003) and Rişvanlı and Kalkan (2002) reported the same findings that lack of correlation between age and rate of CMT positive score(s) as we found in our study. The present study also demonstrated that lactation

number of cows was different but not statistically significant (Table 7). Sabuncuoğlu et al. (2003) reported the same observation as the present study stated, however, Çoban and Tüzemen (2007), Şeker et al. (2000) and Uzman et al. (2003) found that lactation number was effective on the incidence of subclinical mastitis. The relationship between increasing lactation number and increasing SCC has been explained by the suppression of immune system associated with age, deformation capacity of milking machines on teat hence expedition of microorganisms towards teat canal (Çoban et al. 2007).

It was observed that lactation period was not effective on incidence of subclinical mastitis in the present study. The rate of isolated bacteria increased throughout nine months and then decreased (Table 7). Şeker et al. (2000) found that rate of CMT positive cows increased by progression of lactation period however it decreased between seven and nine months of lactation. Çoban et al. (2007) reported that high SCC was detectable at the beginning and end of lactation period. Çoban and Tüzemen (2007) observed that low incidence of subclinical mastitis at the beginning of lactation and the highest risk was at the end of lactation period. It is suggested that the discrepancies between the different studies may be associated with insufficient mastitis control programs, management conditions and seasonal factors.

When the breed factor on subclinical mastitis was evaluated (Table 7), it was seen that CMT and bacteriology scores were lower in Brown Swiss cows than those detected in other breeds but this difference was not significant. Sabuncuoğlu et al. (2003) and Çoban et al. (2007) reported that the breed was not an effective factor increasing subclinical mastitis, however Rışvanlı and Kalkan (2002) stated the higher SCC in Brown Swiss cows as compared to other breeds. It is suggested that breed is not causative for subclinical mastitis and all breeds have similar risk for the infection.

Milk samples (n:125) obtained from CMT positive mammary quarters were collected from right front (n:28), right rear (n:39), left front (n:25) and left rear (n:33) mammary quarters (Table 7), whereas the distribution of isolated bacteria was 32, 34, 26 and 36, respectively (Table 5). Accordingly, it was observed that CMT positivity and isolation of bacteria were higher in rear mammary quarters. This statistically non-significant finding was consistent with the results of Şeker et al. (2000). It is suggested that the high rate of CMT positivity in rear mammary quarters may be related to high milk yield of rear mammary quarters, anatomical structure and the closer distance of udders from the ground.

The bacteria isolated in the study were resistant against gentamycin, ceftiofur, cefquinome and enrofloxacin (Table 8). In addition, all bacteria except *Bacillus* spp. was sensitive against amoxicillin+clavulonic acid. Hadimli and Uçar (1999) reported the sensitivity of bacteria against amoxicillin+clavulonic acid, whereas Aydın et al. (1995) found that *S.aureus* showed resistance against ampicillin (57.40 %), kanamycin (28.57 %), enrofloxacin (10.71 %), neomycin (75.00 %), penicillin (82.40 %), streptomycine (46.42 %), tetracycline (67.85 %) and gentamycin (25.00 %). All these discrepancies possibly relate to regional differences of farms.

In conclusion, CMT of cows showed that positive results were obtained from one of every two cows. It is clear that farm localization, age, lactation number/period, breed and localization of mammary quarters of cows did not affect CMT scores and microbiological results. But functional problems of milking machine could directly affect the teat and udder health. Treatment of mastitis should be done following antibiotic susceptibility tests instead of empiric therapy. It is suggested that mastitis keeps being a problem in those family-type farms, since the lack of information about mastitis control programs is exist. Therefore, it is needed that the breeders should be trained for management, feeding, milking hygiene and mastitis control programs.

**Table 1:** The percentage of cows housed in different farms in which at least one mammary quarter showed CMT positive reaction.

**Tablo 1:** Yerleşim yerlerine göre en az bir meme lobu CMT pozitif reaksiyon veren hayvan oranları

Location	Breeds						Total
	Holstein		Brown-Swiss		Simmental		
	n	%	n	%	n	%	
A	25	86,21	2	6,9	2	6,9	29
B	11	64,71	4	23,53	2	11,76	17
C	5	62,5	1	12,5	2	25	8
D	12	37,5	16	50	4	12,5	32
E	13	92,86	1	7,14	0	0	14
<b>Total</b>	<b>66</b>	<b>66,00</b>	<b>24</b>	<b>24,00</b>	<b>10</b>	<b>10,00</b>	<b>100</b>

**Table 2:** The number of examined cows and mammary quarters; the number and percentage of CMT positive and bacteria isolated cows and mammary quarters.

**Tablo 2:** Muayene edilen hayvan ve meme lobu sayısı, CMT pozitif ve izolasyon yapılan hayvan ve meme lobu sayıları ile oranları

Location	Examined cows	CMT positive cows		Bacteria isolated cows (CMT + cows)		Examined udders	CMT positive udders		Bacteria isolated udders (CMT + mammary quarters)	
		n	%	n	%		n	%	n	%
		A	47	29	61,70		18	62,06	185	35
B	38	17	44,73	8	47,05	152	24	15,78	10	41,66
C	23	8	34,78	7	87,50	92	10	10,86	9	90,00
D	64	32	50,00	19	59,37	254	39	15,35	23	58,97
E	23	14	60,86	11	78,57	91	17	18,68	12	70,58
<b>Total</b>	<b>195</b>	<b>100</b>	<b>51,28</b>	<b>63</b>	<b>63,00</b>	<b>774</b>	<b>125</b>	<b>16,14</b>	<b>76</b>	<b>60,80</b>

**Table 3:** Percentage of CMT scores and bacterial isolation in CMT positive cows housed in different farms.

**Tablo 3:** CMT pozitif olan ineklerde yerleşim yerlerine göre CMT skor ve bakteriyel izolasyon oranları.

Location	Percentage of CMT Scores						Percentage of isolated bacteria in CMT Scores		
	+		++		+++		+	++	+++
	n	%	n	%	n	%	%	%	%
A	23	65,71	10	28,57	2	5,71	47,83	100	50
B	22	91,66	2	8,33	0	0	36,36	100	0
C	10	100	0	0	0	0	90	0	0
D	30	76,92	6	15,38	3	7,69	63,33	66,67	66,67
E	14	82,35	2	11,76	1	5,88	71,43	50	100
<b>Total</b>	<b>99</b>	<b>79,20</b>	<b>20</b>	<b>16</b>	<b>6</b>	<b>4,80</b>	<b>57,58</b>	<b>85</b>	<b>66,67</b>

**Table 4:** The number and percentage of microorganisms isolated from cows housed in different farms.

**Tablo 4:** Yerleşim yerlerine göre izole edilen mikroorganizmaların sayı ve oranları.

Location	Microorganisms												Total isolation n		
	<i>S.suberis</i>		<i>S.aureus</i>		<i>E.coli</i>		CNS		<i>Proteus spp.</i>		<i>Bacillus spp.</i>			<i>Candida spp.</i>	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		n	%
A	10	28,57	1	2,86	9	25,71	1	2,86	0	0	1	2,86	13	37,14	35
B	1	5,88	3	17,65	6	35,29	2	11,76	0	0	1	5,88	4	23,53	17
C	2	14,29	0	0	5	35,71	5	35,71	0	0	0	0	2	14,29	14
D	8	20,51	1	2,56	9	23,08	9	23,08	3	7,69	0	0	9	23,08	39
E	4	17,39	0	0	8	34,78	8	34,78	0	0	0	0	3	13,04	23
<b>Total</b>	<b>n</b>	<b>25</b>	<b>5</b>	<b>37</b>	<b>25</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>31</b>							
	<b>%</b>	<b>19,53</b>	<b>3,9</b>	<b>28,9</b>	<b>19,53</b>	<b>2,34</b>	<b>1,56</b>	<b>24,21</b>							

**Table 5:** Distribution of microorganisms according to the mammary quarters' locations.

**Tablo 5:** Meme loblarına göre mikroorganizma sayı ve dağılımları.

Mammary quarters' location	Microorganisms							Total (n)	CMT positive mammary quarters (n)	Bacteria isolated from mammary quarters (n)	Bacteria isolated from mammary quarters/ CMT positive mammary quarters %
	(n)										
	<i>S.suberis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	CNS	<i>Proteus spp.</i>	<i>Bacillus spp.</i>	<i>Candida spp.</i>				
Right front	9	0	12	4	0	0	7	32	28	15	53.57
Right rear	5	2	8	6	2	1	10	34	39	24	61.53
Left front	3	2	7	6	0	1	7	26	24	17	70.83
Left rear	8	1	10	9	1	0	7	36	34	19	55.88

Note: There are some mix infections in some mammary quarters

**Table 6:** Mean, minimum and maximum values of lactation number, lactation period and age of cows having CMT positive mammary quarters related to the location of farms.

**Tablo 6:** Meme lobları CMT pozitif olan ineklerin yerleşim yerlerine laktasyon sayıları, laktasyon dönemleri ve yaşlarının minimum, maksimum ve ortalama değerleri.

Factors	Location	Milk samples (n)	Mean±SE	Minimum	Maximum
Lactation number	A	35	3,74±0,356	1	8
	B	24	3,38±0,499	1	8
	C	10	2,3±0,367	1	5
	D	39	3,51±0,369	1	8
	E	17	4,59±0,486	1	7
Lactation period	A	35	4,49±0,368	1	10
	B	24	5,25±0,817	1	12
	C	10	6,9±0,767	2	11
	D	39	6,49±0,618	1	12
	E	17	6,00±0,522	1	9
Age	A	35	6,37±0,428	3	10
	B	24	6,62±0,712	4	14
	C	10	4,6±0,499	3	8
	D	39	6,18±0,422	3	13
	E	17	7,24±0,673	3	12

**Table 7:** The effect of some factors on CMT and bacteriology results (The least squares mean  $\pm$ SE).**Tablo 7:** Bazı faktörlerin CMT ve mikrobiyolojik sonuçlara etkisi (en küçük kareler ortalaması $\pm$ SE).

<i>Factors</i>		<i>Milk samples(n)</i>	<i>CMT scores</i>	<i>Bacteriologic isolation scores</i>	
<b>Location</b>	A	35	1,434 $\pm$ 0,165	0,58 $\pm$ 0,129	
	B	24	0,995 $\pm$ 0,182	0,388 $\pm$ 0,143	
	C	10	1,106 $\pm$ 0,234	0,797 $\pm$ 0,183	
	D	39	1,317 $\pm$ 0,148	0,644 $\pm$ 0,116	
	E	17	1,332 $\pm$ 0,215	0,811 $\pm$ 0,168	
<b>Age (year)</b>	3	17	1,706 $\pm$ 0,498	0,196 $\pm$ 0,389	
	4	27	1,424 $\pm$ 0,388	0,068 $\pm$ 0,303	
	5	15	1,317 $\pm$ 0,326	0,342 $\pm$ 0,254	
	6	15	1,335 $\pm$ 0,285	0,366 $\pm$ 0,223	
	7	8	1,494 $\pm$ 0,293	0,273 $\pm$ 0,229	
	8	14	1,114 $\pm$ 0,277	0,963 $\pm$ 0,0216	
	9	13	1,071 $\pm$ 0,354	0,943 $\pm$ 0,0276	
	10	8	1,054 $\pm$ 0,344	0,812 $\pm$ 0,269	
	12	3	0,908 $\pm$ 0,48	0,128 $\pm$ 0,375	
	13	3	1,337 $\pm$ 0,576	0,998 $\pm$ 0,0001	
	14	2	0,843 $\pm$ 0,676	0,998 $\pm$ 0,0002	
	<b>Lactation Number</b>	1	24	0,875 $\pm$ 0,486	0,955 $\pm$ 0,038
		2	27	0,985 $\pm$ 0,402	0,959 $\pm$ 0,031
		3	22	1,035 $\pm$ 0,307	0,934 $\pm$ 0,024
4		11	1,266 $\pm$ 0,288	0,464 $\pm$ 0,225	
5		8	1,229 $\pm$ 0,31	0,573 $\pm$ 0,242	
6		17	1,403 $\pm$ 0,3	0,383 $\pm$ 0,235	
7		8	1,379 $\pm$ 0,403	0,464 $\pm$ 0,315	
8		8	1,721 $\pm$ 0,426	0,42 $\pm$ 0,333	
<b>Lactation Period (month)</b>	1	13	1,232 $\pm$ 0,201	0,674 $\pm$ 0,157	
	2	16	1,149 $\pm$ 0,199	0,788 $\pm$ 0,156	
	3	9	1,125 $\pm$ 0,247	0,848 $\pm$ 0,193	
	4	10	1,081 $\pm$ 0,238	0,897 $\pm$ 0,186	
	5	10	0,97 $\pm$ 0,228	0,603 $\pm$ 0,178	
	6	20	0,88 $\pm$ 0,197	0,674 $\pm$ 0,154	
	7	17	1,405 $\pm$ 0,178	0,649 $\pm$ 0,139	
	8	6	1,64 $\pm$ 0,296	0,636 $\pm$ 0,232	
	9	7	0,875 $\pm$ 0,262	0,921 $\pm$ 0,205	
	10	2	1,395 $\pm$ 0,469	0,511 $\pm$ 0,366	
	11	5	1,42 $\pm$ 0,335	0,295 $\pm$ 0,262	
	12	10	1,668 $\pm$ 0,259	0,233 $\pm$ 0,202	
<b>Breeds</b>	Holstein	69	1,408 $\pm$ 0,13	0,696 $\pm$ 0,102	
	Brown-Swiss	42	1,08 $\pm$ 0,14	0,509 $\pm$ 0,109	
	Simental	14	1,222 $\pm$ 0,203	0,727 $\pm$ 0,159	
<b>Mammary quarters' locations</b>	Right front	28	1,296 $\pm$ 0,173	0,455 $\pm$ 0,135	
	Right rear	39	1,248 $\pm$ 0,135	0,666 $\pm$ 0,106	
	Left front	25	1,31 $\pm$ 0,166	0,882 $\pm$ 0,129	
	Left rear	33	1,093 $\pm$ 0,139	0,573 $\pm$ 0,108	

CMT scores (+;1, ++;2, +++;3); Bacteriologic isolation scores (positive isolation;1, negative isolation;0); Breeds (Holstein;1, Brown-Swiss; 2, Simental; 3); Mammary Quarters' locations (right front; 1, right rear; 2, left front; 3, left rear; 4).

**Table 8:** Antibiotic sensitivity tests.

**Tablo 8:** Antibiyotik duyarlılık testleri.

Microorganisms	Antibiotic Discs						
	Amoxicillin + Clavulanic Acid	Oxytetracycline	Penicillin	Gentamicin	Ceftiofur	Cefquinome	Enrofloxacin
<i>E.coli</i>	100% (primary)	100% (secondary)	0%	0%	0%	0%	0%
<i>S.uberis</i>	100% (secondary)	100% (primary)	0%	0%	0%	0%	0%
<i>S.aureus</i>	100% (primary)	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>KNS</i>	100% (tertiary)	100% (secondary)	100% (primary)	0%	0%	0%	0%
<i>Proteus spp.</i>	100% (primary)	100% (secondary)	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Bacillus spp.</i>	0%	100% (primary)	0%	0%	0%	0%	0%

**Note:** The sensitivity is handled due to primary, secondary and tertiary zone diameters of antibiogram tests

## REFERENCES

- Alaçam E, Tekeli T, Sezen Y, Erganiş O. 1986.** Sütçü ineklerin subklinik mastitislerinde cefoperazonun etkisi üzerinde çalışmalar. SÜ Vet Fak Derg, 2(1): 65-74.
- Aydın F, Leloğlu N, Şahin M, Çolak A, Otlı S. 1995.** Kars yöresi süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitislere neden olan mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine araştırmalar. Pendik Vet Mikrobiyol Derg, 26(1): 55-65.
- Baştan A. 2010.** İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunları, Kardelen Ofset Matbaacılık Tanıtım Hizmetleri San Tic Ltd Şti, Ankara.
- Baştan A, Kaymaz M, Fındık M, Erüenal N. 1997.** İneklerde subklinik mastitisin elektriksel iletkenlik, somatik hücre sayısı ve California mastitis test ile saptanması. AÜ Vet Fak Derg, 44: 1-5.
- Çoban Ö, Sabuncuoğlu N, Tüzemen N. 2007.** Siyah alaca ve esmer ineklerde somatik hücre sayısına çeşitli faktörlerin etkisi. Lalahan Hay Araşt Enst Derg, 47(1): 15-20.
- Çoban Ö, Tüzemen N. 2007.** Siyah alaca ve esmer ineklerde subklinik mastitis için risk faktörleri. Uludağ Univ J Fac Vet Med, 26(1-2): 27-31.
- Ergün Y, Aslantaş Ö, Doğruer G, Cantekin Z. 2004.** Hatay İlindeki aile tipi süt sığırcılığı işletmelerinde subklinik mastitislerin epidemiyolojisi. Vet Bil Derg, 20(4): 25-28.
- Hadimli HH, Uçar M. 1999.** Klinik ve subklinik mastitislerin sağtımında Amoksisilin+Klavulonik asit'in etkinliği. Hay Araş Derg, 9(1-2): 65-70.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. 1992.** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4<sup>th</sup> ed, JB Lippincott Co, Philadelphia.
- Kuyucuoğlu Y, Uçar M. 2001.** Afyon bölgesi süt ineklerinde subklinik ve klinik mastitislerin görülme oranları ve etkili antibiyotiklerin tespiti. Vet Hek Mikrobiol Derg, 1(1): 19-24.
- Murinda SE, Nguyen LT, Ivey SJ, Gillespie BE, Almeida RA, Oliver SP. 2002.** Prevalence and molecular characterization of Escherichia coli O157:H7 in bulk tank milk and fecal samples from cull dairy cows: a 12-month survey of dairy farms in East Tennessee. J Food Prot, 65:752-759.

**Özenç E, Vural MR, Şeker E, Uçar M. 2008.** An



evaluation of subclinical mastitis during lactation in Anatolian buffaloes. Turk J Vet Anim Sci, 32(5): 359-368.

**Philpot WN, Nickerson SC. 1991.** Mastitis: Counter Attack. Naperville USA: Babson, Bros Co.

**Rişvanlı A, Kalkan C. 2002.** Sütçü ineklerde yaş ve ırkın subklinik mastitisli memelerin sütlerindeki somatik hücre sayıları ile mikrobiyolojik izolasyon oranlarına etkisi. YYÜ Vet Fak Derg, 13(1-2): 84-87.

**Sabuncuoğlu N, Çolak A, Akbulut Ö, Tüzemen N, Bayram B. 2003.** Siyah alaca ve esmer ineklerde CMT skoru ile bazı süt verim özellikleri arasındaki ilişkiler. Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg, 34(2): 139-143.

**Schalm OW, Carroll EI, Jain NC. 1971.** Bovine mastitis. Lea and Febiger Co, Philadelphia.

**Stanojevic S, Krnjajic D.** Yeast mastitis in cows. <http://www.internetjfs.org/articles/IJFSv1-3.pdf> Date of access: 17.02.2012.

**Şeker İ, Rişvanlı A, Kul S, Bayraktar M, Kaygusuz O. 2000.** İsviçre esmeri ineklerde meme özellikleri ve süt verimi ile CMT skoru arasında ilişkiler. Lalahan Hay Araş Enst Derg, 40(1)29-38.

**Uçar M, Tekeli T, Şendağ S, Erdem H. 1997.** Kuru dönem tedavisine ek olarak yapılan teat-dippingin yeni enfeksiyonlar üzerine etkisi. Hay Araş Derg, 7(2); 65-68.

**Uçar M. 1999.** Kuru dönem başlangıcında ve 14.gününde meme içi antibiyotik uygulamalarının subklinik S.aureus enfeksiyonları üzerine etkisi. Hay Araş Derg, 9(1-2); 71-76.

**Uzmay C, Kaya İ, Akbaş Y, Kaya A. 2003.** Siyah alaca ineklerde meme ve meme başı formu ile laktasyon sırası ve laktasyon döneminin subklinik mastitis üzerine etkisi. Turk J Vet Anim Sci, 27: 695-701.

## Seroprevalence of Subclinical Paratuberculosis in Dairy Cattle in Manisa Region of Turkey

Mehmet BERBEROĞLU<sup>1</sup>, Turan CİVELEK<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Afyon Kocatepe, Afyonkarahisar, TÜRKİYE

Corresponding author e-mail: tcivelek@aku.edu.tr

# The presented research was edited from the postgraduate thesis by Mehmet Berberoğlu. The presented study was conducted with the approval of Afyon Kocatepe University the Board of Local Ethics for Animal Experiments (12.06.2014 - 49533702/84).

### ABSTRACT

The purpose of the study was to determine the seroprevalence of subclinical paratuberculosis in dairy cattle in Manisa region of Turkey. Within this research, sampling was performed in a total of six districts including the central district of Manisa and 40 different cowsheds. The study material consisted of 442 clinically healthy multiparous Holstein dairy cattle. Live weights, the previous lactation milk yield, and age of the animals were recorded. Seroprevalence was determined by ELISA in the collected sera samples. The seroprevalence of the disease was found to be 13% in the central district of Manisa, 28% in Turgutlu, 20% in Alasehir, 38% in Kula, 26% in Akhisar, and 22% in Salihli. Infection was determined in all samples collected from all cowsheds. The results of the study revealed that seroprevalence of subclinical paratuberculosis in dairy cattle in Manisa region of Turkey was 21.72%.

**Keywords:** Johne's disease, Manisa region, Paratuberculosis, Prevalance.

### Manisa Yöresi Süt Sığırlarında Subklinik Paratüberkülozun Seroprevalansı

#### ÖZ

Bu çalışmanın amacı Manisa yöresi süt sığırlarında subklinik paratüberküloz seroprevalansını belirlemektir. Araştırma kapsamında, Manisa merkez ilçe dahil olmak üzere altı ilçede ve toplam 40 farklı ahırdan örnekleme gerçekleştirildi. Çalışma materyalini klinik olarak sağlıklı 442 multiparoz Holstein ırkı süt sığırı oluşturdu. Hayvanların canlı ağırlıkları, önceki laktasyon süt verimleri ve yaşları kaydedilmiştir. Seroprevalans, toplanan serum örneklerinde, ELISA metodu ile belirlendi. Hastalığın seroprevalansı Manisa merkez ilçede %13, Turgutlu'da %28, Alaşehir'de %20, Kula'da %38, Akhisar'da %26, ve Salihli'de %22 olarak belirlendi. Örnekleme yapılan tüm ahırlarda enfeksiyon varlığı tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları, Manisa yöresi süt sığırlarında subklinik paratüberküloz seroprevalansının %21.72 olduğunu ortaya koydu.

**Anahtar Kelimeler:** Johne's Hastalığı, Manisa Bölgesi, Paratüberküloz, Prevalans.

To cite this article: **Berberoğlu M, Civelek T.** Seroprevalence of Subclinical Paratuberculosis in Dairy Cattle in Manisa Region of Turkey. *Kocatepe Vet J. 2016; 9(3):194-199.*

## INTRODUCTION

Paratuberculosis is an infectious disease induced by *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (MAP). It causes chronic diarrhea in ruminants. This disease is reported to be in zoonotic character in humans due to its role in the etiology of Crohn's disease (Nakase et al. 2006, Diequez et al. 2009).

Paratuberculosis (pTB) is subclinical in the infected cattle for a long time. In many cattle, the factor cannot be detected in fecal samples before the age of two (Andrews 2004, Diequez et al. 2009). At this stage, the infected cattle continue to contaminate the healthy ones with the factor (Baumgartner and Khol 2006). The infected animals not showing clinical symptoms as yet may start to disseminate the factor through their fecal matters about 15-18 months before the emergence of active infection (Smith and Bradford 2001). At this early stage of infection, clinical symptoms are not observed in ruminants (Allaker and Kapas 2003, Baumgartner and Khol 2006). With the progress of the disease, MAP spreads to regional lymph nodes and clinical symptoms arise. Typical clinical manifestations are chronic diarrhea and weight loss (Andrews 2004). pTB causes yield losses in infected animals. It is one of the most important diseases causing economic losses in dairy cattle enterprises (Collins et al. 1994). Studies on pTB have been conducted in Turkey and the issue keeps its actuality (Civelek et al. 2009, Makav and Gokce 2013, Ozturk et al. 2010, Yildirim and Civelek 2013). Current studies have generally been conducted to demonstrate the regional prevalence of the disease (Cetinkaya et al. 1999). However, the nation-wide prevalence of the disease in Turkey could not be fully determined. Subsequently, the impacts caused by this disease are not known clearly (Mecitoglu and Demir 2012).

Regional and national prevalence of MAP varies. In many countries in the world, with different prevalence rates, the presence of pTB has been reported (Collins et al. 1994, Jakobsen et al. 2000, Hacker et al. 2004).

Clinical diagnosis of paratuberculosis is usually made on the grounds of symptoms, anamnesis, and necropsy results. Diagnostic laboratory tests are utilized in patients showing no symptoms. There is not any available test with high specificity and sensitivity which can particularly be used for young cattle (Baumgartner and Khol 2006). However, different methods can be used in the diagnosis of pTB. MAP can be diagnosed by mainly utilizing culture, PCR, immunity tests, and serological tests (Muskends et al. 2003, Baumgartner and Khol 2006, Civelek et al. 2009, Mecitoglu and Demir 2012).

Thanks to serological tests, the presence of MAP is evaluated swiftly, and the diagnosis can be made (Stricklands et al. 2005). ELISA allows the identification of antibodies against MAP. Today, it is the most commonly used method in the diagnosis of

the disease (Kalis et al. 1999, Jubb et al. 2004, Yildirim and Civelek 2013). It is an extremely easy-to-apply test with fast sample analyses. It is usually used for testing serum samples (Collins et al. 2005). ELISA is the most affordable and easily applicable method to be used in herd paratuberculosis control programs. In the field studies conducted by ELISA test, 80% of the infected animals have been diagnosed before showing clinical symptoms. It was also reported that 65% of the animals not contaminating the environment with the factor through their feces yet were determined in advance (Jubb et al. 2004). ELISA is the most reliable method of determining subclinically infected animals (Stricklands et al. 2005).

There is no effective treatment of pTB, under the present circumstances. In order for disease prevention and control, the animals diagnosed as MAP-positive must be eliminated from the herd. In MAP-negative herds, necessary precautions must be taken to prevent a possible infection. In MAP-suspicious herds, the investigation of factor presence by serological tests applied at intervals and early diagnosis of subclinical patients are recommended (Baumgartner and Khol 2006).

By restricting animal movements and investigation of herds for pTB presence, MAP-free zones can be created, and the spread of paratuberculosis can be prevented (Baumgartner and Khol 2006, Yildirim and Civelek 2013).

The intensity of subclinically infected animals is directly related to observed clinical pTB rate. The animals with subclinical pTB are critical for being prone to contaminate the infection to the healthy ones. Considering the zoonotic potential and resistance to pasteurization, to reveal subclinical infection presence in regions where intensive farming of dairy cows also is important (Yildirim and Civelek 2013).

In the present study, ELISA, which is one of the cheapest and most practicable tests for herd control programs for MAP, has been used. In this research, it has been aimed to determine seroprevalence of subclinical paratuberculosis in Manisa region where intensive dairy cattle maintenance-farming is performed. Our research will also contribute to the development of effective control strategies against the disease across the region.

## MATERIALS AND METHODS

### Animal Materials

The animal material of the presented research was selected randomly from 40 different farms in Manisa region of Turkey (central district of Manisa; 10 farms, Akhisar; 5 farms, Kula; 5 farms, Alasehir; 2 farms, Turgutlu; 3 farms and Salihli; 15 farms). Research material consisted of 442 clinically healthy multiparous Holstein dairy cattle,  $3.71 \pm 1.00$  year-old,

with ongoing cyclic activities which did not have a periparturient disease (displacement abomasum, ketosis, retention and metritis) in previous lactation periods, and whose live weights were  $445.42 \pm 37.28$  kg and previous annual milk yields were  $3576.60 \pm 373.82$  kg. Distribution of the samples was as follows: Salihli, n=150; Akhisar, n=50; Kula, n=50; Turgutlu, n=25; Alaşehir, n=25 and the center of Manisa, n=142.

Blood samples were taken from each cattle collecting the material into plain biochemistry tubes. Extracted blood serums were stored at  $-20$  °C until the analysis time.

### Serologic Tests

In the diagnosis of the disease and in determining the seroprevalence, ELISA (Idexx Paratuberculosis Screening Ab Test, Part Number P07130-5 (5 plates) method was used. Applied ELISA test protocol is as follows:

Serum samples and all test kit reagents were brought to room temperature. Positive, negative control serums and serums to be tested were diluted with 1/20 sample dilution liquid (green). Being stirred, the samples were incubated at room temperature for one hour. After the incubation, control and test sera diluted to 100 µl were transferred to microplates. Two wells were used for each positive and negative control serums. After being incubated at room temperature for 45 minutes, microplates were washed three times with washing solution. After being diluted with 1/100 conjugate dilution liquid (blue), Horseradish peroxidase (HRP) conjugate was transferred to washed microplate wells as 100 µl. The microplates with conjugate were incubated at room temperature for 30 minutes; and then, washing process was repeated. 100 µl of 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) substrate were added to all wells and incubated in dark at room temperature for 10 minutes. At the end of the period, 100 µl of stop solution were added in the wells. Microplates were scanned in BIOTEK ELX800, USA at wavelength of 450 nm. Arithmetic mean (mean PC, mean NC) of optic density (OD) values of positive (PC) and negative (NC) control sera was calculated. S/P value for each of the serum samples was calculated with the formula;  $S/P = (\text{Sample OD} - \text{mean NC}) / (\text{mean PC} - \text{mean NC})$ . Calculated S/P ratios were evaluated as; S/P  $\leq 0.60$ ; Negative, S/P  $\geq 0.70$ ; Positive and S/P=0.6-0.7; Suspicious.

### Statistical Analysis

In the calculation of age, live weight and previous lactation milk yield values, non-parametric 1 Sample (K-S) test (SPSS 16.0 for Windows) was utilized.

## RESULTS

The obtained data have indicated the presence of pTB infection in all tested herds in Manisa region of Turkey. In this context, in the presented study, when the cattle that were sampled in each district were considered as a single herd, herd seroprevalence of MAP was found as 100%. While, within-herd seroprevalence was defined as 21.72%.

In the presented study, samples were collected randomly from 142 multiparous dairy cattle from five cowsheds in the central district of Manisa. 19 of the cattle were seropositive. Seroprevalence of subclinical paratuberculosis was identified as 13% in the central district of Manisa. In Turgutlu, 25 randomly selected multiparous dairy cattle from three cowsheds were sampled. Seven of the cattle were seropositive. Seroprevalence of subclinical paratuberculosis was identified as 28% in Turgutlu. In Alaşehir, 25 multiparous dairy cattle from three cowsheds were sampled. Five of the cattle were seropositive. Seroprevalence of subclinical paratuberculosis was 20% in Alaşehir. In Kula, 50 randomly selected multiparous dairy cattle from four cowsheds were sampled. 19 of the cattle were seropositive. Seroprevalence of subclinical paratuberculosis was identified as 38% in Kula. In Akhisar, 50 randomly selected multiparous dairy cattle from four cowsheds were sampled, and 13 of those were seropositive. Seroprevalence of subclinical paratuberculosis was identified as 26% in Akhisar. In Salihli, 150 randomly selected multiparous dairy cattle from 19 cowsheds were sampled. 33 of the cattle were seropositive. Seroprevalence of subclinical paratuberculosis was identified as 22%. When an overall assessment was made, in the presented study, seroprevalence of subclinical pTB in 442 clinically healthy dairy cattle tested in Manisa region was 21.72% (Table 1).

**Table 1:** Regional seroprevalence of MAP in Manisa province, Turkey.

**Tablo 1:** Manisa yöresi MAP seroprevalansı.

Manisa Province	n (total)	n (MAP +)	%
Central district	142	19	13.38
Turgutlu district	25	7	28
Akhisar district	50	13	26
Alasehir district	25	5	20
Salihli district	150	33	22
Kula district	50	19	38
Total	442	96	21.72

## DISCUSSION

The presence of paratuberculosis in our country has long been known; yet, the number of scientific research conducted on the prevalence of pTB is quite limited (Firat 1978, Cetinkaya et al. 1999, Civelek et al. 2009, Ozturk et al. 2010, Yıldırım and Civelek 2013, Makav and Gokce 2013). In the presented study, prevalence of subclinical pTB in Manisa, Turkey where dairy cattle farming is intensive has been investigated serologically using the method ELISA.

For the study, 442 clinically healthy, multiparous Holstein dairy cattle aging between 2-6 years with optimal milk yield and live weight were selected.

MAP is a strong intra-cellular pathogen. It survives in macrophage cells for a long time. Blood antibody level increases depending on the development of and the respond to infection. That makes the diagnosis of pTB difficult in the cattle under the age of two. For that reason, in the prevalence studies which blood serum is used as diagnosis material, animals under the age of two must not be selected as the material. The fact that seroprevalence of pTB has been low in the cattle under the age of two supports this case (Cetinkaya et al. 2000, Diequez et al. 2009). Besides, it has also been reported that the sensitivity and specificity of ELISA test are low in the cattle at the age of <2 years (Ozturk et al. 2010). In the present study, target population was selected as the dairy cattle at the age of >2 years.

pTB causes major economic losses particularly to dairy cattle enterprises. During the subclinical period, the animals with pTB are prone to contaminate healthy animals with the disease. The factor mainly spreads through fecal matter and milk (Moghadam et al. 2010). Therefore, determining seroprevalence of pTB in subclinic period is of vital importance for the management and health of the herd (Ozturk et al. 2010, Yıldırım and Civelek 2013). Besides, the MAP factors can also be transmitted to newborn calves in the neonatal period or immediately after birth. This period is when the calves are the most susceptible to infection. Contaminated nipple, colostrum or milk plays a role in the factor's being taken by the calf (Cetinkaya et al. 1997, Cetinkaya et al. 2000, Yıldırım and Civelek 2013).

MAP is also a potentially suspicious zoonotic factor. It is suspected to take part in the etiology of Crohn's disease in humans (Smith and Bradford 2001, Andrews 2004, Yıldırım and Civelek 2013). MAP that is resistant to heat and pasteurization can transmit to people through milk and dairy products. This disease's posing the risk of zoonosis makes the diagnosis of dairy cattle in subclinical period, in other words early diagnosis, important (Cetinkaya et al. 1997, Cetinkaya et al. 2000, Yıldırım and Civelek 2013).

In the study they conducted on the cattle in Central Anatolian Region, Atala and Akçay (2001) assessed the seroprevalence of pTB with micro and tube CFT test, and identified it as 2.3% and 2.7%, respectively. For this region seroprevalence of pTB was reported by ELISA method as 4.6%. Yıldırım and Civelek (2013) identified prevalence of subclinical pTB in fecal matter in Uşak region, Turkey as 17% by ZN staining, 9.5% by the technique of Outher PCR, and 20% by the technique of Nested PCR. Prevalence in milk samples were found as 15.5% by ZN staining, 5.5% by the technique of Outher PCR, and 17.5% by the technique of Nested PCR. Seroprevalence of pTB in milk samples in Elazığ region, Turkey was identified by Çetinkaya et al. (2000) as 5% with PCR method. The method of bacterial culture has demonstrated prevalence as 3.4%. Seroprevalence of pTB in serum samples in Kars region, Turkey has been identified as 3.5% by ELISA test (Makav and Gokce 2013).

Climate, nutrition and housing conditions are influential factors in prevalence of pTB (Cetinkaya et al. 1997, Cetinkaya et al. 2000). So, prevalence of pTB may vary in different regions.

In the studies carried out on pTB in Turkey, the prevalence in farms has not been taken into account much. Diagnosis of pTB even in one cattle in an enterprise raises the risk of infection greatly. Farm prevalence of pTB was identified as 58% in Burdur region, Turkey (Ozturk et al. 2010), and 41.6% in Kars region, Turkey (Makav and Gokce 2013). To generalize, the data demonstrates that paratuberculosis is seen in one out of every two enterprises in our country. Various studies carried out in European countries have reported that farm prevalence of pTB ranges between 0% and 75% (Diequez et al. 2009). It has been suggested that prevalence of pTB rises as the number of the animals in the farm rises (Nielsen, 2008, Ozturk et al. 2010).

Subclinical pTB has been present in all enterprises involved in the study. Prevalence of subclinical pTB is 21.72% in dairy cattle in Manisa region of Turkey. Moreover, if each one of the districts is considered as a single farm, because infection has been detected in all tested herds, seroprevalence can be identified as 100% depending on the research data.

As a result, the fact that seroprevalence of MAP infection in dairy cattle in Manisa region of Turkey has been identified as 21.72% and all farms sampled have been seropositive is of vital importance for the region where intensive dairy cattle farming is performed.

Many of the subclinically infected animals do not show clinical symptoms of pTB all their lives. The infection manifests itself clinically only in 5-10% of the subclinically infected animals in a herd (Baumgartner and Khol 2006). However, these animals play a role in the spread and contamination

of the factor to other animals. Diagnosis of the subclinical animals is critical because of their being prone to transmit the infection to healthy animals. Furthermore, considering the zoonotic potential of the infection and resistance of the factor against pasteurization (Chiodini and Hermon-Taylor 1993, Grant et al. 1996), subclinical pTB in the cattle is also critical for the public health.

Higher values of subclinical pTB identified in this study compared to other studies conducted in Turkey suggests that Manisa region carries a substantial risk in terms of infection's contamination potential. This study carried out in Manisa region will also contribute to predict economic losses caused by the disease and identify prevalence of the infection in Turkey.

## CONCLUSIONS

Consequently, the obtained data suggest that paratuberculosis posing a threat to economy in Manisa region must be taken into consideration. The results of the study emphasize the necessity of a further nation-wide research in order to reveal the presence of subclinical pTB in the country's dairy cattle population and to define its real damage to the national economy.

## REFERENCES

- Allaker RP, Kapas S.** Adrenomedullin expression by gastric epithelial cells in response the infection. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10: 546-551.
- Andrews AH.** Johne's disease (Paratuberculosis). In: *Bovine Medicine*, Ed; Eddy RG, Blackwell Scientific Publication, London, England, 2004; pp. 857-858.
- Atala N, Akcay E.** Türkiye genelinde sığır paratüberkulozu prevalansının ELIZA ile araştırılması. *Etlık Vet Mikrobiyol Derg* 2001; 12: 39-48.
- Baumgartner W, Khol JL.** Paratuberculosis (Johne disease) in ruminants ongoing story. *Slow Vet Res* 2006; 43: 5-10.
- Cetinkaya B, Erdogan HM, Morgan KL.** Risk factors for Bovine Paratuberculosis. The multiple analysis of risk ractors for Bovine Paratuberculosis. *Turk J Vet Anim Sci* 1997; 21: 303-306.
- Cetinkaya B, Ergen K, Harbour DA.** An abatoir-based study of the prevalence of subclinical Johnes disease in adult cattle in south west England. *Epidemiol Infect* 1999; 116: 373-379.
- Cetinkaya B, Muz A, Ertas HB.** Süt ineklerinde Paratüberküloz prevalansının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile saptanması. *Turk J Vet Anim Sci* 2000; 24: 371-379.
- Chiodini RJ, Hermon-Taylor J.** The thermal resistance of *Mycobacterium paratuberculosis* in raw milk under conditions simulating pasteurization. *J Vet Diagn Invest* 1993; 5: 629-631.
- Civelek T, Çelik HA, Özenc E, Avcı G, Kav K, Cıncı CC.** Effects of PCR-confirmed subclinical paratuberculosis on retinol and  $\beta$ -carotene levels in dairy cattle. *Arch Med Vet* 2009; 41: 281-284.
- Collins MT, Socket DC, Goodger WJ.** Herd prevalence and geographic distribution of, and risk factors for bovine paratuberculosis in Wisconsin. *J Am Vet Med Assoc* 1994; 204: 636-641.
- Collins MT, Wells SJ, Petrini KR.** Evaluation of five antibody detection tests for diagnosis of bovine paratuberculosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12: 685-692.
- Diequez FJ, Gonzales AM, Menendez S.** Evaluation of four commercial serum ELISAs for detection of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* infection in dairy cows. *Vet J* 2009; 180: 231-235.
- Fırat G.** Sığırlarda paratüberkülozun serolojik olarak teşhisi üzerine araştırmalar. *Pendik Vet Bak Ser Enst Dergi* 1978; 1: 18-23.
- Grant IR, Ball HJ, Neil SD.** Inactivation of *Mycobacterium paratuberculosis* in cows milk at pasteurization temperatures. *Appl Environ Microbiol* 1996; 62: 631-636.
- Hacker U, Huttner K, Konoe M.** Untersuchungen zur serologischen Prävalenz und zu Risikofaktoren der Paratuberkulose in Milchviehbetrieben in Mecklenburg Vorpommern. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 2004; 117: 140-144.
- Jakobsen MB, Alban L, Nielsen SS.** A cross-sectional study of paratuberculosis in 1155 Danish dairy cows. *Prev Vet Med* 2000; 46: 15-27.
- Jubb TF, Sergeant ES, Callinan AP.** Estimate of the sensitivity of an ELIZA used to detect johne's disease in Victorian dairy cattle herds. *Aust Vet J* 2004; 82: 569-573.
- Kalis CHJ, Hesselink JW, Barkema HW.** Comparison of culture of individual and strategically pooled bovine faecal samples for *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*. In: *Proceedings of the 6th International Colloquium on Paratuberculosis*. Madison, Wisconsin, USA, 1999; pp. 344-348.
- Makav M, Gokce E.** Kars yöresi sığırlarında subklinik paratüberkülozun seroprevalansı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2013; 19: 913-916.

- Mecitoglu Z, Demir G.** Sığırlarda paratüberkülozun tanısına ilişkin problemler. J Fac Vet Med 2012; 1: 19-23.
- Moghadam MT, Sarv S, Moosakhani F.** Detection of Mycobacterium avium Subspecies paratuberculosis in Milk and faecal Samples in Dairy Cattle by PCR and Nested-PCR. J Anim Vet Adv 2010; 9: 3055-3061.
- Muskends J, Mars MH, Elbers AR.** The results of using faecal culture as confirmation test of paratuberculosis-seropositive dairy cattle. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health 2003; 50: 231-241.
- Nakase H, Nishio A, Tamaki H.** Specific antibodies against recominant protein of insertion element 900 of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in Japanese patients with Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis 2006; 12: 62-69.
- Nielsen SS.** Transitions in diagnostic tests used for detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis. Vet Microbiol 2008; 132: 274-282.
- Ozturk D, Pehlivanoglu F, Tok AA.** Seroprevalence of paratuberculosis in the Burdur province (Turkey), in dairy cattle using the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Israel J Vet Med 2010; 65: 53-57.
- Smith S, Bradford P.** Johnes Disease. In: Large Animal Internal Medicine. Ed; Smith S, Mosby, St.Louis, Missouri, USA; 2001; pp.779-783.
- Stricklands J, Scott HM, McJordan ER.** Effects of seasonal climatic conditions on the diagnosis of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in dairy cattle. J Dairy Sci 2005; 88: 2432-2440.
- Yıldırım D, Civelek T.** Prevalence of subclinical paratuberculosis in dairy cattle in Uşak Region. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2013; 19(1): 121-126.

## Buzağlarda İntestinal Atresia'larda Klinik ve Operatif Yaklaşımlar<sup>#</sup>

Berk Alp GÖKSEL<sup>1</sup>, Zülfükar Kadir SARITAŞ<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar/TÜRKİYE

<sup>#</sup>Bu Çalışma Aynı İsimli Yüksek Lisans Tezinden Özetlenmiştir.

\* Corresponding author e-mail: zksaritas@hotmail.com

### ÖZ

2005-2014 yılları arasında kliniğimize kabul edilen 43 buzağda intestinal atresia'lar gözlenmiş ve çalışmaya dahil edilen olguların preoperatif, intraoperatif ve postoperatif bulguları değerlendirilmiştir. Atresia ani gözlenen 27 olgunun 16 sının (%59.25) erkek, 11'inin (%40,74) dişi olduğu; tüm atresia'lar içinde % 62.79 oranında gözlendiği belirlenmiştir. Değerlendirmeye alınan buzağlar içinde 11 olguda (% 25.58) atresia coli gözlenmiş, 3 olguda (% 6.97) atresia ani et rekti; 2 olguda da (% 4.65) atresia ani et rektovaginal fistül belirlenmiştir. Atresia ani et rekti gözlenen 3 olgudan 1'inin simental, 1'inin yerli-melez, 1 olgunun da Montafon ırkı olduğu belirlenmiştir. Atresia ani et rektovaginal fistül gözlenen 2 olgudan 1'i Simental, diğeri ise yerli-melez olduğu kayıtlara geçmiştir. Atresia coli olgularından 6 'sı Holstein, 3'ü Simental, 1'i yerli-melez ve 1'inin de Montafon ırkı buzağı olduğu saptanmıştır. İntestinal atresia gözlenen 43 buzağı içindeki 27 atresia ani, 3 atresia ani et rekti ve 2 atresia ani et rektovaginal fistül belirlenen olgulara operatif girişim yapılmış ve tümü hayatta kalmıştır. Atresia coli gözlenen 11 olgudan 2'si hayatta kalmış ve diğeri postoperatif kısa peryotta ölmüştür. Sonuç olarak, intestinal atresia'lar içinde atresia coli olgular hariç diğer atresia'ların operatif girişimle yaşatılabildikleri, İntestinal atresia'ların erken tanısının operatif sağaltımın başarısını arttıracığı sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Buzağı, Cerrahi Sağaltım, İntestinal Atresia.

## Clinical and Operative Approach of Intestinal Atresia in Calves

### ABSTRACT

The study cases were 43 calves accepted to our clinics between 2005-2014 evaluated for preoperative, operative and postoperative results of intestinal atresias. The atresia ani cases (n=27) were found to consists of males (n=16, %59.25) and females (n=11, %40,74) and overall rate over other type of atresias was % 62.79. In 11 cases (% 25.58) Atresia coli, 3 cases (% 6.97) were found to have Atresia ani et recti; 2 cases (% 4.65) were found to have Atresia ani et rectovaginal fistula. The cases of Atresia ani consisted of Holstein (n=19), Simental (n=7) and a mixed breed (n=1) calves. The Atresia coli cases were consisted of n=6 Holstein, n=3 Simental, n=1 local – mixed breed and n=1 Montafon calves. The selected 27 cases of atresia ani, 3 atresia ani et recti and 2 atresia ani et rectovaginal fistula cases over 43 calves were operated and survived. The Atresia coli group of 11 cases were operated but only 2 of them survived, others were lost in early postoperative period. In results, except atresia coli cases, rest of the intestinal atresia patients were able to survive after operative intervention, Early prognosis was found to be crucial for the success of operative treatment in intestinal atresias.

**Key Words:** Calves, Surgical Treatment, Intestinal Atresia.



## GİRİŞ

İntestinal atresia, intestinal sistemin anormal gelişmesi sonucu barsak lümeninin tam tıkanması ya da lümenin bir kısmının tamamen yokluğu durumuna denir (Haller ve ark. 1983, Rescorla ve Grosfeld 1985, Cho ve Taylor 1986, Johnson 1986a, Dreyfuss ve Tulleners 1989, Young ve ark. 1992, Martens ve ark. 1995, Koç ve ark. 2001). Kongenital bir defektin neden olduğu ileri sürülen intestinal atresia'nın ruminantlarda sıklıkla şekillendiği bildirilmiştir (Hofmeyr 1988, Samsar ve Akın 1998, Atalan ve ark. 2003). Gastrointestinal sistemdeki defekt tek bir yerde olduğu gibi jejunum, ileum veya tüm ince barsakların bir yerinde, kolon, rektum veya anüste oluşabilmektedir (Hofmeyr 1988, Saperstein 1993, Atalan ve ark. 2003). Kongenital anomaliler, doğumdan sonra hayvanlarda gözlenen yapı ve fonksiyon bozuklukları olarak tanımlanır (Blowey ve Weaver 2003, Ghanem ve ark. 2004, Lotfi ve Shahryar 2009, Aslan ve ark. 2009). Anomaliler embriyogenezis veya fetal gelişmenin çeşitli evrelerinde genetik, çevresel veya her iki faktörün etkilerine bağlı olarak gelişebileceği öne sürülmüştür (Newman ve ark. 1999, Ghanem ve ark. 2005, Magda ve Youssef 2007, Lotfi ve Shahryar 2009, Aslan ve ark. 2009). Kongenital anomaliler, şekillenen bozukluğun derecesine göre öldürücü olabileceği gibi, hayvanın yaşamını etkilemeyebilir veya estetik bir kusur olarak kalabilir (Magda ve Youssef 2007, Pamuk ve ark. 2010).

Kongenital atresia koli; kolon lümeninin olmaması ile karakterize, daha çok assendens kolonun spiral lobunda oluşan bir anomalidir. Buzağılarda kongenital atresia koli olgularına Aberden, Angus, Polled Hereford, Simental (Maclellan ve Martin 1956) gibi ırklarda rastlanıldığı bildirilmekle birlikte, daha çok Holstein ırkında görülür. Bu kongenital anomalinin nedenleri tam olarak açıklanamamıştır. Etiyolojisinde daha önceleri herediter faktörlerin etkili olduğu düşünülmüştür. Embriyo transferi yapılan bir inekten doğan; hemoglobin, amilaz ve transferinin, elektroforetik fenotipik değerlendirmeler sonucu identik olduğu belirlenen ikiz yavrulardan sadece birinde atresia koli saptanması hastalığın herediter olmama olasılığını ortaya koymuştur (Hoffsis ve Bruner 1977, Gökçe ve ark. 1999). Bazı yazarlar da nonherediter faktörlerin etkili olduğunu ileri sürerek bu olguların oluşumunu ve organogenezis döneminde kolonun söz konusu bölgesindeki damarların strangulasyonuna veya bir şekilde işlev yapamayına bağlamışlardır (Constable ve ark. 1989, Smith ve ark. 1991, Martens ve ark. 1995, Gökçe ve ark. 1999). Ruminantlarda en çok karşılaşılan intestinal anomali atresia ani'dir. Atresia ani anomalisi genellikle ürogenital ve iskelet-kas anomalileriyle birlikte seyredir. Yapılan bir çalışmada kuzuların erkeklerinde, buzağılarsa dişilerinde atresia ani ve rektiye daha fazla rastlandığı

bildirilmiştir (Oğurtan ve ark. 1997, Öztürk ve ark. 2005). Atresili buzağuların doğumdan hemen sonra normal olarak emebilmeleri ve anüslerinin açık olması başlangıçta bir şüphe oluşturmazken, doğumu takip eden 24-48 saat içerisinde emme refleksinin azalması, iştahın kaybolması, defekasyonun olmaması ve ilerleyici bir depresyonun varlığı önemli klinik bulgular olarak değerlendirilmiştir (Constable ve ark. 1989, Koç ve ark. 2001). Doğumdan sonra geçen süreye bağlı olarak abdominal bir şişkilğin olduğu, gaz ve mekonyum ile dolu barsak loplannın palpasyonla belirlenebildiği, perküsyon ve oskültasyonda ping ve çalkantı sesinin alındığı bildirilmektedir (Dreyfuss ve Tulleners 1989, Jubb 1990, Koç ve ark. 2001). Anal refleksin fonksiyonel olduğu, rektumun parmak ya da sonda ile muayenesinde hafif krem renginde bazen de kanla bulaşık mukus içerdiği vakalarda, rektuma uygulanan elastik sondanın 30-40 cm kadar ilerletilebildiği, bu uygulamanın aynı zamanda atresinin yerini belirlemede yararlı olduğu fakat perforasyon riskinden dolayı sıklıkla tercih edilmemesi vurgulanmaktadır (Smith ve ark. 1991, Koç ve ark. 2001). Atresia kolili olgular doğduktan sonra annelerini emerler; ancak ilk günden başlayarak iştahın azalması, dışkının olmaması, karın gerginliği, genel durumun bozulması ve ıkınma gibi ileus belirtileri gösterirler (Steenhaut ve ark. 1976, Dreyfuss ve Tulleners 1989, Gökçe ve ark. 1999). Klinik muayenede barsakların gazla dolu olması, peristaltizmin artması, dehidratasyon, depresyon, rektal tuşede sarımtırak mukuslu bir içeriğin olması gibi bulgular ön plandadır (Constable ve ark. 1989, Dreyfuss ve Tulleners 1989, Martens ve ark. 1995, Gökçe ve ark. 1999). Bu olgularda tek seçenek operatif sağaltımdır. Erken tanı ve uygun preoperatif medikal sağaltım, deneyimli operatör ve postoperatif bakım, hastalığın prognozunu direkt olarak etkileyen faktörlerdir (Steenhaut ve ark. 1976, Dreyfuss ve Tulleners 1989, Smith ve ark. 1991, Gökçe ve ark. 1999). Rektovaginal fistül saptanan olguların dışında operatif müdahaleyle tedavi edilmeyen hayvanlar genellikle ölürlere (Steenhaut ve ark. 1976, Saperstein 1993, Martens ve ark. 1995, Atalan ve ark. 2003). Ancak hayvanlarda yaşamlarının ilk günlerinde ortaya çıkan bu anomalilerin, erken tanı ve uygun cerrahi tekniklerle başarılı bir şekilde tedavi edilebileceği ve yaşamlarını sürdürebileceği bildirilmektedir (Carraro ve ark. 1996, Al-Ani ve ark. 1998, Payan-Carreira ve ark. 2008, Aslan ve ark. 2009). Tam bir atresia doğumdan hemen sonra belirgin semptomlarla dikkati çeker. Atresia ani olgularında bazen anüs bölgesi derisi altında rektum'un ıkınmalar sırasında bir çıkıntı yaptığı görülür. Atresia ani et rekti'de rektum tam gelişmediğinden böyle bir çıkıntı hissedilmeyebilir. Ancak gelişmenin yarım kaldığı olaylarda karın üzerinden yapılan palpasyon sırasında rektal kör ucu hissedilebilir (O'Connor 1956, Öktem ve Finci 1974). Atresia olgularında sağaltıma erken

başlanmalıdır (O'Connor 1956, Öktem 1964, Öktem ve Finci 1974). Erken tanı ve sağaltım girişimi bu anomalinin giderilmesi ve yavrunun yaşamını sürdürmesinde çok önemlidir. Artifiyel (yapay) anüs oluşturabilmek için yapılacak olan operasyonun seçim yeri; belirlenen kabartının bulunduğu yerdir (Görgül 2007, Görgül ve ark. 2009). Bu çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Hastanesi Cerrahi kliniğine 2005-2014 yılları arasında getirilen intestinal atresia olgularının klinik, preoperatif, intraoperatif ve postoperatif bulgularını değerlendirmek ve bu zaman periyodunda kliniğimize getirilen buzağular arasında intestinal atresia olgularının insidansını ortaya koymak amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOD

Çalışma materyalini 2005-2014 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Cerrahi kliniğine dışkısını yapamama şikayetiyle getirilen farklı ırk ve cinsiyette 43 buzağı oluşturdu.

### METOD

Tüm olgularda hayvan sahiplerinden anamnez alındı. Her bir olgu genel durum, nabız, solunum, abdominal oskültasyon ve palpasyon gibi rutin klinik muayeneye tabi tutuldu. Klinik muayene sonucunda dehidrasyon saptanan hayvanlara, operasyondan önce dehidrasyonun derecesine göre gerekli miktarlarda intravenöz yolla dengeli elektrolit (Elektrovet, Vilsan) ile % 5'lik dextroz (Dekstrovet, IE) içeren sıvılar verildi. Tanıya göre hayvanlar operasyona hazırlandı. Atresia ani tanısı konulanlarda anal bölge, atresia ani et rekti tanısı konulanlarda anal bölge ve sağ açıklık çukurluğu, atresia koli tanısı konulan 11 olgudan; 10 olguda ventral median bölge, 1 olguda sağ açıklık çukurluğu ve atresia ani et rektovaginal fistül bulunan 2 olguda ise anal ve perineal bölge operasyon için hazırlandı.

### Anestezi Protokolü

Postumbilikal median veya sağ fossa paralumbalisten laparotomi yapılacak olgularda 0,2 mg/kg im dozunda xylazin HCl (Rompun, Bayer) ile sedasyon eşliğinde bölgenin lokal infiltrasyon anestezi lidocaine HCl (%2'lik Jetokain, Adeka) ile yapıldı. Diğer olgularda anal ve/veya perineal bölgeye deri altı lokal anestezi uygulandı.

### Operasyon Tekniği

Atresia ani tanısı konulan olgularda, anal bölge operasyon için hazır hale getirildikten sonra, aseptik koşullarda anal bölgede belirlenen anüs izinde + şeklinde bir ensizyon yapıldı. Anüs izi olmayan vakalarda ise ensizyon karın bölgesine basınç uygulanmasından sonra oluşan kabartıya uygulandı. Ensizyon yapıldıktan sonra yara bölgesi ekartörlerle açıldı. Rektum görüldü ve deri altı bağ dokuları küt diseksiyonla ayırt edildi. Hayvanın karnına basınç uygulandığında rektumun kör ucunun açılan yaraya doğru kabartı yaptığı görüldü. Bu kabartı allis

penisiyle tutularak çevresindeki bağ dokudan ayırt edildi. Rektum duvarı hayvanın büyüklüğüne göre 2/0-1 numara poliglaktin 910 (Vicryl, Ethicon) iplik ile çepeçevre basit ayrı sero-muskuler dikiş tekniği uygulanarak deri altı bağ dokusuna dikildi. Sonra rektum duvarına çepeçevre konulan dikişin ortasından sirküler bir şekilde makasla kesilerek rektum açıldı. Rektum da biriken mekonyum dışarı alındı. Daha sonra rektumun kenarları hayvanın büyüklüğüne göre 2/0-1 numara poliglaktin 910 (Vicryl, Ethicon) iplik ile basit ayrı dikiş tekniği ile deri kenarlarına dikildi.

Atresia ani et rekti tanısı konulan 3 olgu sağ açıklık çukurluğu ve anal bölgesi operasyon için hazırlandıktan sonra atresia ani operasyonunda anlatılan işlemler yapılarak anüs deliği oluşturuldu. Rektuma bu bölgeden ulaşılamayan 2 olguda operasyon için hazır hale getirilen sağ açıklık çukurluğundan laparotomi yapıldı. Dikkatli bir şekilde sekum ve barsakların bir kısmı karın boşluğundan dışarıya alındı. Dışarıya alınan barsaklar karın boşluğuna red edilinceye kadar steril serum fizyolojik (Fizyol, Vilsan) ile nemlendirildi. Sekumdaki içeriği boşaltmak için apex kısmına 3 cm uzunluğunda tiflotomi yapıldı. İçerik tamamen boşaltıldıktan ve bölge steril serum fizyolojik ile temizlendikten sonra tiflotomi yapılan bölge 1 numaralı poliglaktin 910 (Vicryl, Ethicon) ile schmieden ve lembert dikiş tekniği uygulanarak kapatıldı. Daha sonra kolon takip edilmek suretiyle rektuma ulaşıldı. Kör bir kese şeklinde sonlanan rektumun çevre bağlantıları küt olarak ayırt edildikten sonra, yapay oluşturulan anüs deliğinden barsak penisiyle anal bölgeye doğru çekilerek rektum önce deri altı bağdokusuna ardından da deriye tespit edildi. Karın boşluğundan dışarıya alınan barsaklar steril serum fizyolojik ile nemlendirilerek karın boşluğuna red edildi. Karın boşluğuna, içerisinde kristalize penisilin bulunan 150 ml steril serum fizyolojik verilerek periton basit sürekli dikiş tekniğiyle, kaslar ve deri ise ayrı ayrı olarak basit ayrı dikiş tekniğiyle 1 numara poliglaktin 910 (Vicryl, Ethicon) iplik ile kapatıldı. 1 olguda ise (41 nolu olgu) atresia ani operasyonunda olduğu gibi anal bölgeden girilerek pelvis içerisinde küt diseksiyonla rektumun kör ucu ayırt edilip anal bölgeye doğru çekilerek atresia ani operasyonunda uygulanan işlemler yapılarak operasyon tamamlandı. Atresia ani et rektovaginal fistül tespit edilen 2 olguda atresia ani operasyonunda olduğu gibi anüs izinin bulunduğu yere + şeklinde deri ensizyonu yapıldı. Bunun ventralinden vulva dudaklarına doğru ensizyon uzatıldı. Daha sonra vaginadaki fistülün sonda ile yeri tespit edildi. Perirektal olarak ventralden küt diseksiyonla dokular ayrıştırılarak fistüle ulaşıldı. Rektovaginal fistül deliği rektum ile vagina mukozasından dikey geçen ayrı ayrı dikişler ile kapatıldı. Perineal bölgedeki ensizyon basit ayrı dikişler ile kapatıldıktan sonra rektum, atresia ani

operasyonundaki işlemler uygulanarak anal bölgeye tespit edildi. Atresia koli tespit edilen 11 olguda ise perineal bölgeden kolona ulaşılması olanağı olmadığı için 10 olgu median laparotomi, 1 olguda da sağ fossa paralumbalisten laparotomi yapıldı. Operatif manipülasyonları kolaylaştırmak için sekum ve ascendens kolonun ön spiral loplardaki gaz ve mekonyum, sekumun apeksine yapılan 3-4 cm'lik ensizyonla (tiflotomi) boşaltıldıktan sonra, ensizyon emilebilen dikiş materyali ile kapatıldı. Dikkatli bir şekilde karın boşluğunda yapılan eksplorasyonla kolonların ve böbreklerin yapısı da kontrol edildi. Descendens kolonun kör ucu, rektumdan uygulanan yumuşak bükülebilir bir sonda ile verilen ılık su rehberliğinde belirlendi ve sonda, anostomoz uygulanacak yere kadar kontrollü olarak ilerletilerek anostomoz sırasında rehber olarak kullanıldı. Descendens kolonu atrofik olan 7 olguda rektumu oluşturabilecek şekilde anal bölgeye doğru yaklaştırılarak yan-yan kolorektal anostomos gerçekleştirildi. Ancak atresik bölgenin arka kısmında kalan descendens kolonun çapının normalden küçük ve anostomos yapılamayacak kadar atrofik olduğu için 4 olguda kavram bölgesindeki karın duvarı içten dışa doğru 2-3 cm boyunda ensize edildi. Kapalı olan kolon ucu, dört yönden geçirilen iplikler aracılığıyla bu ensizyonun kenarlarına bir yapay anüs oluşturacak şekilde tespit edildi. Bunu takiben kolon kısmı punksiyonla açıldı ve atresia ani operasyonunda tanımlanan şekilde sero-müköz dikişlerle çepeçevre deriye dikilerek lateral colostomy (anüs preaternalis) uygulandı

#### **Postoperatif Bakım**

Operasyonlar tamamlandıktan ve her birinin anal bölge ve/veya perineal bölge serum fizyolojik ile temizlendikten sonra, operasyon yaralarına lokal olarak kristalize penisilin (Penicillin G Potasyum) uygulandı. Gerekli görülene sıvı sağaltımı ve destekleyici olarak vitamin enjeksiyonları (B kompleks ve C vitaminleri) yapıldı. İlk 12-24 saat klinikte tutularak takip edildi. Postoperatif olarak parenteral 7 gün süreyle penisilin+streptomisin ve operasyon yaralarına da lokal olarak antiseptik uygulanmasının yapılması hayvan sahiplerine önerildi. Atresia ani, atresia ani et rekti, atresia ani et rektovaginal fistül ve atresia koli olgularının postoperatif dönemde 1 ay süreyle hasta sahiplerinden durumları hakkında bilgiler alındı.

## **BULGULAR**

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Cerrahi Kliniği'ne 2005-2014 yılları arasında toplam 1320 buzağı kabul edildi. Toplam buzağular içinde 43'ü (%3.25) dışkılarını yapamama veya dışkının vulvadan geldiği şikayetiyle muayene edildi. Klinik muayeneler ve laparotomi sonuçlarına göre intestinal atresia'ların kesin tanısı yapıldı (Tablo 1). İntestinal atresia'lı buzağuların

büyük oranını (%60.46) erkek, geri kalanını ise (%39.54) dişi buzağular oluşturdu (Tablo 2). Atresia ani olguları da tüm intestinal atresialar içinde (27 olgu) %62.79 oran ile ilk sırada yer aldı. İkinci sırayı ise (11 olgu) %25.58 oran ile atresia koli olguları aldı. Kliniğimize getirilen tüm buzağularda (1320 olgu), kongenital intestinal atresiaların insidansları değerlendirildiğinde; atresia ani 27 olgu ile %2.04, atresia koli 11 olgu ile %0.83, atresia ani et rekti 3 olgu ile %0.22, atresia ani et rektovaginal fistül 2 olgu ile %0.15 oranla görüldüğü tespit edildi (Tablo 3).

#### **Anamnez Bulguları**

Atresia ani ve atresia ani et rekti bulunan 30 olgunun anemnezinde hayvan sahipleri tarafından, hayvanların yaşlarının 1-7 gün arasında olduğu, doğumdan sonra annelerini emdikleri ve sağlıklı görüldükleri fakat ilerleyen günlerde iştahsızlık, özellikle dışkı yapamama ve anüslerinin kapalı olduğunu fark ettikleri bildirildi. Atresia ani et rektovaginal fistül bulunan 2 olgunun birinin 5 günlük, diğerinin 7 günlük olduğu ve dışkının vulvadan geldiğini görmeleri üzerine kliniğe müracaat ettikleri belirtildi. Atresia koli bulunan 11 olgunun anemnezinde ise hayvan sahipleri tarafından 1-6 günlük arasında olduğu, doğumlarının normal ve doğumdan sonra annelerini emdikleri, sağlıklı ve hareketli oldukları ve anüslerinin açık olduğu, zamanla süt emmekte isteksizlik gösterdikleri ve hiç dışkı çıkarmadıkları belirtildi (Tablo 1).

#### **Klinik Bulgular**

##### **Preoperatif Bulgular**

Yapılan klinik muayenede atresia ani ve atresia ani et rekti bulunan olgularda değişik derecelerde barsak seslerinde azalma, ıkınma, abdominal gerginlik ve anüslerinin kapalı olduğu tespit edildi. Kliniğimize geç getirilen bazı olgularda taşıkardi ve değişik derecelerde dehidrasyon gözlemlendi (Tablo 1). Atresia ani bulunan 27 olguda ıkınma esnasında veya abdominal bölgeye basınç uygulandığında rektumun anal bölgeye basınç yapmasına bağlı bir kabartının şekillenmesiyle atresia ani tanısı konuldu. Anüsün kapalı olduğu 3 olguda ise hayvanın ıkınmasına ve abdominal basınç uygulanmasına rağmen anal bölgede kabartı şekillenmedi ve bu olgularda intestinal atresiadandan şüphelenildi.

Atresia ani et rektovaginal fistül bulunan 2 olguda ise diğer olguların klinik bulgularına benzer bulgular saptanırken yine anüsün kapalı olduğu ancak farklı olarak vaginada ve vulva dudaklarında dışkı kalıntıları gözlemlendi. Hayvanın ıkınmasına veya uygulanan abdominal basınç sonrası vulvadan değişik miktarlarda dışkının geldiği saptandı. Bunun üzerine sırt üstü yatırılan bu olgularda, vagina spekulum ile açıldığında dorsal duvarında fistül olduğu tespit edildi.

Atresia koli bulunan 11 olguda değişik derecelerde abdominal gerginlik ve abdominal palpasyonda gaz ve mekonyum ile dolu barsak loplari tespit edildi. Abdominal perküsyon ve oskültasyonda çınlama ve

## TARTIŞMA

çalkantı sesi duyuldu. Hayvanların doğumdan sonra anüslerinin açık olmasına rağmen geçen zaman içerisinde dışkı çıkarmamaları konstipasyon şeklinde değerlendirilip lavman için rektuma sonda uygulandığında, sondanın sarı-krem renginde mukus ile kaplandığı fark edildi ve lavman için verilen ılık suyun öne doğru gitmediği ve geriye geldiği gözlemlendi. Olguların çoğunluğunda taşıkardi ve değişik derecelerde dehidrasyon gözlemlendi (Tablo 1).

### Intraoperatif Bulgular

Çalışmada değerlendirilen tüm hayvanlar anesteziyi iyi tolere ettiler. Atresia ani bulunan olgularda + şeklinde deri ensizyonu ile hemen veya deri altı bağ dokusu aralandıktan sonra rektumla karşılaşıldı ve çevre bağlantıları kolayca diseke edildi. Atresia ani olgularının tamamı anüs ve rektumun agenezisi veya disgenezisine göre yapılan sınıflandırmaya göre tip 2 şeklinde olduğu tespit edildi (Tablo 4). Atresia ani et rekti bulunan 1 olguda (41 nolu olgu) + şeklinde deri ensizyonu ile deri altı bağ dokuları aralandıktan sonra rektumun belirlenmesinde biraz güçlüklerle karşılaşıldı. Pelvis içerisindeki dokular diseke edildikten ve karın basıncı sonrasında rektumun kör ucu belirlendi. Anüsten kranial yönde 4 cm uzaklıkta tespit edilen rektum ensizyon bölgesinden geriye doğru çekilerek deriye dikildi. Atresia ani et rekti bulunan 2 olguda + şeklinde deri ensizyonu ile anal bölgeden rektuma ulaşamadı. Sağ açlık çukurluğundan laparotomi yapıldı. Rektumun kör ucu pelvik çatı içerisinde orta kısımlarda, anal bölgeye; 39 nolu buzağıda 8 cm uzaklıkta, 40 nolu buzağıda ise 7 cm uzaklıkta sonlandığı belirlendi. Tüm atresia ani et rekti olguları, anüs ve rektumun agenezisi veya disgenezisine göre yapılan sınıflandırmaya göre tip 3 şeklindeydi (Tablo 4). Atresia koli olgularının büyük çoğunluğunda; periton sıvısının arttığı, bazı vakalarda serosanguineus özellikte olduğu, ayrıca ince ve kalın barsakların serozalarının yapışmasına neden olan fibrin yumakları bulunduğu belirlendi. İnce barsakların gaz ve sıvı ile, sekum ve assendens kolon (spiral kolon)'un mekonyum ve gaz ile dolu ve gergin oldukları, dessendens kolon ve rektumun normalden küçük ve boş, 7 olguda ise atrofik oldukları belirlendi. Kliniğe geç getirilen olgularda sekum ve assendens kolonun aşırı gergin, hiperemik, kısmen siyanotik ve frajil oldukları yer yer işemik alanların oluşmaya başladığı görüldü. 1 olguda (34 nolu olgu) sondalamaya bağlı yırtık belirlendi. Anostomoz uygulanan olguların tamamında dessendens kolonun çapının, assendens kolonun çapından daha dar olduğu belirlendi.

### Postoperatif Bulgular

Postoperatif 1 ay süreyle takip edilen olgulardan atresia kolili 9 olgunun dışında, (Tablo 5) atresia kolili 2 olgunun ve diğer olguların normal olarak yaşamları sürdürdükleri bilgisi hayvan sahiplerinden alındı.

Dünyanın birçok bölgesinde, ruminantlarda kongenital anomalilerle karşılaştığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Kongenital anomalilerin patogenezi tam olarak bilinmemektedir, ancak bu konuda genetik ve çevresel faktörleri içine alan değişik hipotezler öne sürülmüştür (Dennis 1993, Öztürk ve ark. 2005). Barsak atresilerinin gelişiminde iki teori ileri sürülmüştür. Bunlarda biri barsak lümeninin oluşum yetersizliği, bir diğeri ise, vaskularizasyon yetersizliğidir (Haller ve ark. 1983, Hatch ve Schaller 1986, Johnson 1986b, Doolin ve ark. 1987, Jubb 1990, Koç ve ark. 2001). Vasküler yetersizliğin en önemli nedeni olarakta, gebeliğin erken tanısı amacı ile tohumlamadan sonra 40 gün içinde, özellikle 35, 36 ve 37. günlerde uygulanan rektal palpasyonda amniyotik kese üzerinde yapılan basıncın, embriyo üzerinde de etkili olarak vasküler yetersizliğe neden olduğu ve organogenezi olumsuz etkileyerek barsak atresilerinin oluşmasına neden olduğu ileri sürülmüştür (Johnson 1986a, Bellows ve ark. 1987, Constable ve ark. 1989, Dreyfuss ve Tulleners 1989, Jubb 1990, Syed ve Shanks 1992, Hendrickson ve ark. 1992, Syed ve Shanks 1993, Koç ve ark. 2001). Gebeliğin 55. ve 90. günleri arasında erken gebelik tanısı ile yapılan korioallantoik palpasyonların, barsak atresisine neden olmadığı, bunun da; gebeliğin 2 ile 45. günleri arasında organogenezinin tamamlanmış olmasına yorumlayan verileri (Johnson 1986a, Constable ve ark. 1989, Koç ve ark. 2001) destekler nitelikte olduğu kanatına varılmıştır. Ancak Alkan ve ark. da (1997) çalışmalarında, suni tohumlama ile gebe kalan ve gebeliğin hiçbir döneminde rektal palpasyon yapılmayan inekten doğan bir buzağıda intestinal anomali belirlediklerini bildirmişlerdir. Ülkemizde yapılan araştırmalarda ruminantlarda kongenital anomalilerin görülme sıklığı Özyayın ve ark. (1995) %26.8, Belge ve ark. (2000) % 6.58 ve Oğurtan ve ark. (1997) ise % 2.96 olarak bildirmişlerdir (Atalan ve ark. 2003). Kongenital anomaliler içinde, sindirim sistemi anomalileri görülme sıklığı açısından ikinci sırada yer alırken (Oğurtan ve ark. 1997, Carraro ve ark. 1996), sindirim sistemi anomalileri içerisinde ise anorektal anomalilerin en fazla gözlenen anomaliler olduğu bildirilmektedir (Oğurtan ve ark. 1997, Carraro ve ark. 1996, Belge ve ark. 2000). Bu çalışmada da kliniğimize getirilen 43 intestinal atresia olguları içinde anorektal anomalilerin, diğer intestinal atresia olgularına göre daha fazla gözlemlendiği belirlenmiştir. Bu bulguda literatür bilgiyi destekler niteliktedir. Hayvan sahipleri, anorektal anomalili hayvanlarda şekillenen bozukluğu doğumdan hemen sonra fark edemezler. Genellikle atresia ani ve atresia ani et rekti'de ilerleyen günlerde hayvanın iştahının azalması ve dışkılamasının olmaması sonucu anüsün olmadığını fark ederler (Martens ve ark. 1995,

Dreyfuss ve Tulleners 1989). Atresia ani et rektovaginal fistül olgularında ise şekillenen fistülün genişliğine göre bozukluğu tespit etme süreci değişir (Carraro ve ark. 1996). Materyalimizi oluşturan anomalili hayvanlardan, hayvan sahiplerinin atresia ani et rektovaginal fistül bulunan olguları, diğer olgulardan daha geç fark ettikleri belirlendi. Bu durumda dışkılamamanın tamamen durmaması ve vulvadan değişik miktarlarda dışkının gelmeye devam etmesinin geç fark edilmenin nedeni olabileceği şeklinde yorumlandı. Birçok çalışmada (Belge ve ark. 2000, Özyayın ve ark. 1995, Carraro ve ark. 1996) anorektal anomalilerin içerisinde en sık atresia ani görüldüğü bildirilmektedir. Ayrıca ruminantlarda anomalilerin erkek hayvanlarda, dişilerden daha fazla oranda gözleendiği ifade edilmektedir (Angus 1992, Özyayın ve ark. 1995, Atalan ve ark. 2003). Aslan ve ark. Van'da yürüttükleri çalışmada, 28 anorektal anomalinin 17'sinde (%60.7) atresia ani, 6'sında atresia ani et rekti (%21.4) ve 5'inde (17.9) ise atresia ani et rektovaginal fistül tespit edildiğini bildirmişlerdir. Çalışma kapsamındaki anomalili hayvanların büyük bir bölümünü önceki literatürlerde belirtildiği şekilde (Van Der Gaag ve Tibboe 1980, Dreyfuss ve Tulleners 1989, Martens ve ark., 1995) atresia ani'li olgular oluşturdu. Uygulanan operatif teknikle atresia ani ve atresia ani et rekti olgularının tamamı normal yaşamlarına döndü. Literatürlerde söz konusu olguların hayatta kalma oranlarının % 60-70 olduğu (Steenhaut ve ark. 1976, Dreyfuss ve Tulleners 1989) ve bu oranın proksimal yondeki atresia rekti olgularında %60'dan az olduğu bildirilmiştir (Dreyfuss ve Tulleners 1989, Atalan ve ark. 2003). Bu tür olguların tedavisinde rektum'un gerilerde olduğu durumlarda anüsle birleşmesi için kaudele çekilmesinde rektum direnç gösterebilmektedir (Lenghaus ve White 1973, Singh 1989, Martens ve ark. 1995). Böyle durumlarda rektumun yaralanmaması için çevresindeki bağların iyi bir şekilde ayırt edilmesi ve aşırı bir kuvvet uygulanmaması gerekmektedir. Aksi takdirde rektum duvarında istenmeyen yaralanmalara ve gerilmeye bağlı mekanik tıkanıklıklara neden olunabilir. Bu çalışma kapsamında değerlendirilen 43 olgunun 27'sinde (%62.79) atresia ani, 11'inde atresia koli (%25.58), 3'ünde atresia ani et rekti (%6.97) ve 2'sinde atresia ani et rektovaginal fistül (%4.65) gözleendi. Cinsiyete göre değerlendirildiğinde, atresia ani ve atresia ani et rekti gözlenen 30 olgunun 19'unun (%63.33) erkek, 11'inin (%36.67) ise dişi hayvanlar olduğu saptandı. Bu bulgular diğer araştırmacıların (Özyayın ve ark. 1995, Atalan ve ark. 2003, Belge ve ark. 2000) bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Atresia'larda anemnez ve fiziksel muayene bulguları çoğunlukla birbirine benzerdir. Doğumdan sonra hayvanların normal olarak emdikleri, anüsün açık olmasına rağmen defekasyonun olmaması, karında şişkinlik, ilerleyici bir depresyon ve iştahsızlık önemli

anemnez bilgileridir. Atresia ani, doğumdan sonra beden ısısının ölçülmesi ya da lavman için sonda uygulaması sırasında perineal bölgenin gözlenmesi ile tanınır (Martens ve ark. 1995). Anüsün olmasına rağmen dışkı ya da mekonyum çıkışının olmadığı ve geçen zamana paralel olarak klinik bulguların şiddetlendiği durumlarda, atresia koliden şüphelenilir (Ducharme ve ark. 1988, Smith ve ark. 1991, Koç ve ark. 2001). Smith ve ark. (1991), atresia kolinin yerini belirlemede yumuşak bükülebilir bir sondanın rektumdan 30-40 cm ilerletilmesinin yeterli olacağını ancak bu uygulamanın bazı vakalarda rektum ve descendens kolonun yırtılmasına yol açabileceğinden dolayı da ısrarcı olmamışlardır (Koç ve ark. 2001). Bu çalışma kapsamında, (atresia kolili olgularda) rektuma uygulanan yumuşak bükülebilir bir sondanın olguların çoğunda 30-40 cm den daha fazla rahatça öne doğru ilerleyebildiği gözleendi. Rektumda herhangi bir yırtık şekillendirmemesi için zorlandığı yerde ısrarcı olunmadı. Ancak operasyon sırasında rehberlik etmesi için kontrollü ilerletildiğinde 50-60 cm'ye kadar da rahatlıkla ilerletilebildiği gözleendi. Bu bulgularda Koç ve ark. (2001) 'nın atresia kolili 22 buzağıda yaptıkları çalışmayla paralellik göstermektedir. Ayrıca Koç ve ark. (2001) lavman amacıyla rektuma sonda uygulanan buzağuların rektumlarında yırtıklarla karşılaştığı, bu uygulamanın riskli olduğunu ve çok dikkatli yapılması gerektiğini, her vakada uygulama zorunluluğunun olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmaya dahil edilen atresia koli olgularından 1 tanesinde (34 nolu olgu) sondalamaya bağlı yırtık intraoperatif olarak belirlendi. Bu bulgu Koç ve ark. (2001) destekler niteliktedir. Atresia koliden şüpheli buzağuların süt emmelerinin engellenmesi ve gastrik dekompresyon için orogastrik sonda uygulamasının buzağuların genel durumunu ve yapılacak operasyonu olumlu yönde etkileyeceği (Smith ve ark. 1991, Koç ve ark. 2001) bildirilmektedir. Abdominal şişkinlik gözlenen buzağularda preoperatif uygulanan orogastrik sonda ile abdominal şişkinliğin azaltıldığı ve buzağının klinik tablosunun olumlu etkilendiği gözleendi. İntestinal atresia'nın ayrıcı tanısında; volvulus, invaginasyon, abomasal patolojik durumlar, diffuz peritonitis ve neonatal septisemi gibi mekanik obstrüksiyona yol açabilen faktörlerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Aytuğ ve ark. 1989, Radostitis ve ark. 1994, Atalan ve ark. 2003). İrk faktörü incelendiğinde daha çok Holstein, Montafon ve Jersey ırklarının intestinal atresia lezyonlarına karşı duyarlı olduğu bildirilmiştir (Robinson 1979, Johnson 1986). Bu çalışmanın materyalini oluşturan anomalili hayvanlardan da 25 olgunun (%58.13) Holstein, 12 olgunun (%27.90) Simental, 4 olgunun (%9.30) Yerli-melez ve 2 olgununda (%4.65) Montafon ırkından olduğu belirlenmiştir. Bu veriler ışığında anomalilerin ırk faktörüyle ilişkili olmasıyla beraber, duyarlı olmayan ırklarda da rastlanması bölgede bazı çevresel ve patolojik faktörlerinde etkili

olabileceğini düşündürmektedir. Atresia kolili buzağlar operatif olarak sağaltılmadıkları takdirde 3 veya 5 gün içerisinde ölürlere (Gökçe ve ark. 1999). Buna karşın 19 güne kadar yaşayan olguların olduğu belirtilmektedir (Alkan ve ark. 1997, Gökçe ve ark. 1999). Çalışma dahilindeki atresia kolili olgulardan birinin 6 günlük olduğu tespit edildi ve preoperatif medikal sağaltımın ardından opere edildi ancak genel durumu bozuk olan bu olgu operasyon sırasında öldü. Anorektal anomalilerde klinik belirtilerin şiddeti mekonyumun retensiyon süresiyle ilgilidir (Aslan ve ark. 2009). Genellikle 3 günden daha uzun süre klinik geçmişi olan olgularda değişik derecelerde genel durum bozukluğu gözlemlendi. Anorektal anomali vakaları cerrahi olarak tedavi edilebilir. Ancak hayvanın yaşama şansı erken tanı ve başarılı cerrahi müdahaleye bağlıdır (Dreyfuss ve Tulleners 1989, Radostits ve ark. 2000, Prassinis ve ark. 2003, Al-Ani ve ark. 1998, Carraro ve ark. 1996, Martens ve ark. 1995, Atalan ve ark. 2003, Ghanem ve ark. 2005, Aslan ve ark. 2009). Anorektal anomaliler cerrahi olarak tedavi edilmez ise ölüm, fizyolojik beslenmenin bozulmasına ve endotoksemik şoka bağlı olarak gelişir (Martens ve ark., 1995; Loynachan ve ark., 2006; Aslan ve ark., 2009). İntestinal atresia olgularında ölüm 7-19 gün içinde görüldüğü (Radostits ve ark. 2000), atresia ani et rektovaginal fistül bulunan hayvanlarda ise yaşamlarını uzun süre devam ettirebildikleri (Prassinis ve ark. 2003) fakat vulvada irritasyon, sistitis, diyare ve megakolon gibi komplikasyonların gözlenebileceği ifade edilmektedir (Pratschke 2005, Rahal ve ark. 2007, Aslan ve ark. 2009). Çalışmaya dahil edilen olgularda gözlenen atresia ani, atresia ani et rekti ve atresia ani et rektovaginal fistül olgularında postoperatif dönemde ölüm gözlenmedi. Atresia ani et rektovaginal fistül olgularından birinin 5, diğerinin 7 günlük olduğu belirlendi ve komplikasyon gözlenmedi. Atresia kolinin yerinin tespiti ve girişilecek operasyon için sağ açıklık çukurluğundan yapılacak laparatominin, ventral median laparotomiye tercih edilmesi gerektiği, ayrıca genel durumu bozuk ve anostomos uygulanamayacak kadar descendens kolonun ve rektumun atrofik olduğu buzağlarda kolostomi için en uygun yerin sağ açıklık çukurluğu olduğu bildirilmektedir (Constable ve ark. 1989, Smith ve ark. 1991, Martens ve ark. 1995, Koç ve ark. 2001). Atresia kolili olgularının birinde sağ açıklık çukurluğu kullanılmış ve atresik kolon bölgesine rahat ulaşılmıştır. Diğerlerinde ise ventral median laparotomi uygulanmıştır. Atresia kolili buzağlarda ascendens kolonun kör ucu ile descendens kolonun kör ucu arasında yan-yan ya da uç-yan kolokolik anostomozun başarılı olduğu ifade edilmektedir (Ducharme ve ark. 1988, Constable ve ark. 1989, Dreyfuss ve Tulleners 1989, Smith ve ark. 1991, Martens ve ark. 1995, Koç ve ark. 2001). Bazı araştırmacılar (Constable ve ark. 1989, Dreyfuss ve Tulleners 1989) peristaltığın kalktığı ascendens

kolonun dilate proksimal kör ucundan 10-20 cm'lik kısmın parsiyel rezeksiyonunun, postoperatif obstrüksiyonu azaltarak buzağın yaşama oranını arttıracak olduğunu vurgulamaktadır. Smith ve ark. (1991), ascendens kolonun dilate olmuş kör ucunun rezeksiyonunun yapılması ile yapılmamasının hayvanın hayatta kalıp kalmaması açısından istatistiksel bir önem oluşturmadığı, sıvı emiliminde ascendens kolonun spiral lobunun önemi nedeniyle rezeke edilmemesinin hayvanın hayatta kalmasında önemli olacağını bildirmektedirler. Ducharme ve ark. (1988) ise ascendens kolonun dilate proksimal kör ucunun, anostomos yapılacak descendens kolonun normal çapı seviyesinde rezeke edilmesi gerektiğini ileri sürmüşlerdir (Aslan ve ark. 2009). Gökçe ve ark. (1999) da yaptıkları çalışmada kör olarak sonlanan 2 barsak segmentinden yapılan histolojik kesitlerde, gerek struktürel gerekse myenterik ganglionlara ilişkin bir patolojinin bulunmamasını, bir kısım kolonun rezeke edilmesinin fayda sağlamayacağını destekler nitelikte yorumlamışlardır. Bu çalışmada intraoperatif bulgular ışığında 7 olguda yan-yan kolorektal anostomos uygulandı ve 4 olguda ise lateral kolostomi uygulandı. Postoperatif dönemde, hayvanlara sıvı-elektrolit ve antibiyotik tedavilerinin devam etmesi, günlük gıda alımlarının kontrol edilmesi ve dışkı retensiyonlarına bağlı abdominal şişkinliklerde lavman yapılarak rahatlatılmasının hayvanların iyileşme sürecinde olumlu etki sağlayacağı düşünülmektedir. Alkan ve ark. (2002) 9 atresia coli belirlenen buzağıdaki klinik bulguları, operasyon yöntemini, intraoperatif bulguları ve sağ kalımı bildirdikleri literatürde; diğer verilere paralel olarak depresyon, anoreksi, abdominal gerginlik, feçes ve mekonyum yokluğu bulgularının olgularda hakim olduğunu bildirmiştir. Diğer yandan aynı araştırmacılar, operasyonu sağ fossa paralumbar bölgeden laparotomi uygulayarak gerçekleştirdiklerini bildirmekte ve 9 olgudan 2'sinin postoperatif 7. günde, 1 olgunun da 24 saat sonra öldüklerini ve bir olguda da nekrotik spiral kolon ve spiral kolonda ruptür belirlediklerini bildirmiştir. Beş olguda ise; postoperatif 53 ve 105. günler arasında sağ kalımın değiştiğini vurgulamışlardır. Bu çalışmada da tespit edilen klinik bulguların benzerlik gösterdiği yine 1 buzağıda literatürle benzer şekilde ruptür tespit edildiği ve postoperatif dönemde 11 atresia coli olgusundan 9'unun benzer zaman aralıklarında öldüğü ve 2 olgusunda 30 gün sonunda hayatta olduğu tespit edildi. Bu araştırma sonuçlarıyla Alkan ve ark. bildirmiş olduğu paralellik göstermektedir. Bu çalışmada, hayvan sahipleri ile yapılan telefon görüşmelerinde, cerrahi olarak tedavi edilen 27 atresia ani, 3 atresia ani et rekti ve 2 atresia ani et rektovaginal fistül olmak üzere toplam 32 olgunun tamamının normal yaşamlarını sürdürdükleri öğrenildi. Cerrahi olarak müdahale edilen 11 atresia coli olgusundan, 29 nolu yan-yan kolorektal anostomos yapılan ve 38 nolu lateral kolostomi

## SONUÇ

yapılan 2 olgu dışındaki olguların öldüğü öğrenildi. Anorektal anomalilerin cerrahi tedavileri sonucunda en sık gelişen komplikasyonun, ya kongenital olarak anal sfinkter fonksiyon yokluğundan yada cerrahi müdahale sırasında sfinkter kaslarının zarar görmesine bağlı olarak dışkı tutamama olduğu bildirilmektedir (Prassinis ve ark. 2003, Aslan ve ark. 2009). Anal bölgeye artı şeklinde yapılan ensizyonlar taşkın skar dokusu oluşumuna neden olarak postoperatif dönemde anal stenozu artırabileceği bildirilmektedir (Carraro ve ark. 1996, Aslan ve ark. 2009). Atresia koli dışındaki tüm olgularda anal bölgeye uygulanan + şeklindeki ensizyon uygulanması sonucu postoperatif 1 olgu dışında anal stenozu rastlanılmadı. Postoperatif dönemde hayvan sahiplerinden alınan bilgilere göre dışkı tutamama dışında başka bir komplikasyon görülmedi.

Dünyanın birçok bölgesinde, ruminantlarda kongenital anomalilerle karşılaştığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. 2005-2014 yılları arasında kliniğimize kabul edilen 43 buzağıda intestinal atresia'lar gözlenmiş ve bunların operatif sağaltımları gerçekleştirilmiştir. Atresia ani, atresia ani et rekti ve atresia ani et rektovaginal fistül olgularının erken tanısının konması ve en erken operatif girişimle olguların kazanılabileceği; Atresia koli olgularının da paralel olarak doğumdan sonra erken dönemde belirlense dahi gerçekleştirilecek operasyon sonuçlarının olumlu olmadığı görülmüştür. Sonuç olarak intestinal atresia'ların buzağılarda sık görülmesi ve erken tanı ve sağaltımla kazanılabileceği; Yetiştiricilerin bu anomaliler konusunda bilgilendirilmesinin ve olgulara erken tanı konulmasının operasyonun başarı şansını arttıracığı sonucuna varılmıştır.

**Tablo 1:** Buzağılarda kongenital intestinal anomalilerin ırk, cinsiyet, yaşlarına göre dağılımı ve klinik bulgular.

**Table 1:** Breed, gender and age distribution and clinical results of congenital intestinal anomalies in calves.

Kongenital Anomali	Olgu No	Hayvanın				Yaşı	Anormal Klinik Bulgular*
		Türü	İrki	Cinsiyeti			
Atresia ani	1	Buzağı	Simental	Dişi	1 günlük		
	2	Buzağı	Holstein	Erkek	2 günlük		
	3	Buzağı	Holstein	Dişi	1 günlük		
	4	Buzağı	Holstein	Erkek	2 günlük		
	5	Buzağı	Simental	Erkek	1 günlük		
	6	Buzağı	Holstein	Dişi	1 günlük		
	7	Buzağı	Simental	Erkek	7 günlük	Taşikardi, dehidrasyon	
	8	Buzağı	Holstein	Erkek	4 günlük	Dehidrasyon	
	9	Buzağı	Yerli-Melez	Dişi	1 günlük		
	10	Buzağı	Holstein	Erkek	1 günlük		
	11	Buzağı	Holstein	Erkek	1 günlük		
	12	Buzağı	Holstein	Erkek	1 günlük		
	13	Buzağı	Simental	Dişi	3 günlük	Dehidrasyon	
	14	Buzağı	Simental	Erkek	7 günlük	Taşikardi, dehidrasyon	
	15	Buzağı	Holstein	Erkek	7 günlük	Taşikardi, dehidrasyon	
	16	Buzağı	Holstein	Erkek	2 günlük		
	17	Buzağı	Simental	Erkek	3 günlük		
	18	Buzağı	Holstein	Erkek	4 günlük	Dehidrasyon	
	19	Buzağı	Holstein	Dişi	3 günlük		
	20	Buzağı	Holstein	Erkek	3 günlük	Dehidrasyon	
	21	Buzağı	Holstein	Erkek	5 günlük	Taşikardi, dehidrasyon	
	22	Buzağı	Holstein	Dişi	3 günlük	Dehidrasyon	
	23	Buzağı	Holstein	Dişi	1 günlük		
	24	Buzağı	Holstein	Dişi	1 günlük		
	25	Buzağı	Holstein	Dişi	2 günlük		
	26	Buzağı	Simental	Erkek	2 günlük		
	27	Buzağı	Holstein	Dişi	3 günlük	Dehidrasyon	
Atresia koli	28	Buzağı	Montofon	Erkek	2 günlük	Taşikardi	
	29	Buzağı	Holstein	Erkek	1 günlük		
	30	Buzağı	Holstein	Erkek	3 günlük	Taşikardi	
	31	Buzağı	Holstein	Erkek	2 günlük		
	32	Buzağı	Simental	Erkek	5 günlük	Taşikardi, dehidrasyon	
	33	Buzağı	Yerli-Melez	Erkek	3 günlük		
	34	Buzağı	Holstein	Erkek	6 günlük	Taşikardi, dehidrasyon	
	35	Buzağı	Holstein	Dişi	2 günlük		
	36	Buzağı	Holstein	Dişi	1 günlük		
	37	Buzağı	Simental	Dişi	3 günlük	Taşikardi	
	38	Buzağı	Simental	Dişi	4 günlük	Taşikardi, dehidrasyon	
Atresia ani et rekti	39	Buzağı	Yerli-Melez	Erkek	4 günlük	Dehidrasyon	
	40	Buzağı	Simental	Erkek	4 günlük	Taşikardi, dehidrasyon	
	41	Buzağı	Montofon	Erkek	2 günlük		
Atresia ani et rektovaginal fistül	42	Buzağı	Yerli-Melez	Dişi	5 günlük		
	43	Buzağı	Simental	Dişi	7 günlük	Taşikardi, dehidrasyon	

\*Bu bulgulara ilaveten tüm olgularda değişik derecelerde barsak seslerinde azalma, abdominal gerginlik ve ıkınma tespit edildi.

**Tablo 2.** İntestinal atresia olgularının buzağlarda cinsiyetlere göre sayı ve yüzdelik dağılımı  
**Table 2.** Numerical and Percentage distribution over gender of intestinal atresia cases

Kongenital anomali	Erkek	Dişi	Toplam
Atresia ani	16 (%59.25)	11 (%40.75)	27 (%62.79)
Atresia koli	7 (%63.63)	4 (%36.37)	11 (%25.58)
Atresia ani et rekti	3 (%100)	-	3 (%6.97)
Rektovaginal fistül	-	2 (%100)	2 (%4.65)
Toplam	26 (%60.46)	17 (%39.54)	43 (%100)

**Tablo 3.** Buzağlarda karşılaşılan kongenital intestinal atresiaların insidansları  
**Table 3.** Incidence of congenital intestinal atresia in Calves

Kongenital anomaliler	İnsidansları
Atresia ani	27 (%2.04)
Atresia koli	11 (%0.83)
Atresia ani et rekti	3 (%0.22)
Atresia ani et rektovaginal fistül	2 (%0.15)
Tüm intestinal atresialar	43 (%3.25)
Toplam olgu	1320 (%100)

**Tablo 4.** Atresia aninin sınıflandırılması (Purohit ve ark., 2004).

**Table 4.** Classification of Atresia Ani Disease (Purohit ve ark., 2004)

Atresia Ani	Anüs ve rektumun agenezisi veya disgenezisinin derecesi
Tip 1	Rektum şekillenmiştir, anüs açık olmakla birlikte dardır.
Tip 2	Çoğunlukla rektum normal olup anüs ince bir deri membranla kapalıdır. Bazende rektum kör kese biçiminde olup anüs gelişmemiştir.
Tip 3	Proksimal rektum kör kese şeklinde kranialde sonlanmıştır. Anüs ise şekillenmemiştir.
Tip 4	Proksimal rektum kör kese şeklinde kranialde sonlanmıştır. Anüs normal olarak şekillenmiştir.

**Tablo 5.** Atresia koli olgularının operasyon teknikleri ve sonuçları

**Table 5.** Surgical Methods and Results of Atresia Coli Cases

Kongenital Anomali	Olgu No	Hayvanın				Operasyon Şekli	Sonuçları
		Türü	ırkı	Cinsiyeti	Yaşı		
Atresia koli	28	Buzağı	Montofon	Erkek	2 günlük	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Operasyondan 1 saat sonra öldü.
	29	Buzağı	Holstein	Erkek	1 günlük	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Operasyondan 1 ay sonra yaşıyordu.
	30	Buzağı	Holstein	Erkek	3 günlük	Lateral Kolostomie	Operasyondan 12 saat sonra öldü.
	31	Buzağı	Holstein	Erkek	2 günlük	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Operasyondan 15 saat sonra öldü.
	32	Buzağı	Simental	Erkek	5 günlük	Lateral Kolostomie	Operasyon sırasında öldü.
	33	Buzağı	Yerli-Melez	Erkek	3 günlük	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Operasyondan 2 saat sonra öldü.
	34	Buzağı	Holstein	Erkek	6 günlük	Lateral Kolostomie	Operasyon sırasında öldü.
	35	Buzağı	Holstein	Dişi	2 günlük	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Operasyondan 8 saat sonra öldü.
	36	Buzağı	Holstein	Dişi	1 günlük	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Operasyondan 1gün sonra öldü.
	37	Buzağı	Simental	Dişi	3 günlük	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Operasyon sırasında öldü.
38	Buzağı	Simental	Dişi	4 günlük	Lateral Kolostomie	Operasyondan 1 ay sonra yaşıyordu.	



## KAYNAKLAR

- Al-Ani FK, Khamas WA, Al-Qudah KM, Al-Rawashdeh O.** Occurrence of congenital anomalies in shami breed goats: 211 cases investigated in 19 herds. *Small Rumin Res.* 1998;28:225-232.
- Alkan F, Koç Y, Ceylan C.** The surgical repair of calves with atresia coli. *Indian Vet J.* 2002; 79:841-843.
- Alkan I, Ağaoğlu ZT, Gençcelep M, Altuğ ME.** Melez buzağıda megasekum, atresiacoli, parsiyel kolon agenezisi ve megakolon olgusu. *Veteriner Cerrahi Dergisi.* 1997; 3 (2): 63-66.
- Angus K.** Congenital malformations in sheep. *Inparçt, January.* 1992; 33-35.
- Aslan L, Karasu A, Gençcelep M, Bakır B, Alkan İ.** Ruminantlarda konjenital anorektal anomali olgularının değerlendirilmesi. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.* 2009; 20(1): 31-36
- Atalan G, Özaydın İ, Kılıç E, Cihan M, Kamiloğlu A.** Buzağılarda intestinal atresia olguları ve operatif sağaltımları (54 olgu). *KAÜ. Vet. Fak. Derg.* 2003; 9(1): 113-118
- Aytuğ CN, Alaçam E, Görgül S.** Sığır Hastalıkları., Teknogarafik Matbaası. 1989. İstanbul.
- Aytuğ CN, Görgül S, Tuncer DŞ, Alaçam E, Gökçen H, Yılmaz K.** Sığır Hastalıkları. *Tümvet, 2. Baskı,* 1991. İstanbul.
- Belge A, Gönenci R, Biricik HS, Ormancı S.** Buzağılarda doğumsal anomali olguları. *YYÜ Vet. Fak. Derg.* 2000; 11 (2): 23-26.
- Bellows RA, Peterson, DJ, Burfening PJ, Phelps DA.** Occurrence of neonatal and postnatal mortality in range beef cattle. II. Factors contributing to calf death, *Theriogenology,* 1987; 28, 5: 573-587.
- Blowey RW, Weaver AD.** Congenital disorders. In: *Colour Atlas of Diseases and Disorders in cattle,* 1-9, Mosby, 2003. Edinburgh.
- Carraro DB, Dart AJ, Hudson NP, Dart CM, Hodgson DR.** Surgical correction of anorectal atresia and rectovaginal fistula in an alpaca. *Aust Vet. J.* 1996; 74(5): 352-354.
- Cho DY, Taylor HW.** Blindand atresia coli in two foals. *Cornell Vet.* 1986; 76: 11-15.
- Constable PD, Rings DM, Hull BL, Hoffsis GE, Robertson JT.** Atresia coli in calves, 26 cases (1977-1987). *JAVMA,* 1989; 195, 1: 118-123.
- Dennis SM.** Congenital defects of sheeps. *Vet. Clin North Am: Food Anim. Pract,* 1993; 9(1): 203-217.
- Doolin EJ, Ormsbee HS, Hill JL.** Motility abnormality in intestinal atresia. *Journal of Pediatric Surgery,* 1987; 22, 4: 320-324.
- Dreyfuss DJ, Tulleners EP.** Intestinal atresia in calves, 22 cases (1978- 1988). *JAVMA.* 1989; 195, 4: 508-513.
- Ducharme NG, Arighi M, Horney FD, Barker IK, Livesey MA, Hurtig MH, Johnson RP.** Colonic atresia in cattle, a prospective study of 43 cases. *Can. Vet. J.* 1988; 29: 818-824.
- Ghanem M, Yoshida C, Isobe N, Nakao T, Yamashiro H, Kubota H, Miyake Y, Nakada K.** Atresia ani with diphallus and separate scrota in a calf: a case report. *Theriogenology.* 2004; 61 (7-8): 1205-1213.
- Ghanem ME, Yoshida C, Nishibori M, Nakao T, Yamashiro H.** A case of freemartin with atresia recti and ani in Japanese Black calf. *Anim Reprod Sci.* 2005; 85(3-4): 193-199.
- Gökçe AP, Beşaltı Ö, Özak A, Tong S, Yağcı BB.** Buzağılarda atresia coli'nin operatif sağaltımı: 11 olgu (1996-1996). *Veteriner Cerrahi Dergisi.* 1999; 5(3-4): 9-13.
- Görgül OS.** Ruminant Cerrahisi, Uludağ Üniversitesi Yayınları. 2007. Bursa.
- Görgül OS, Seyrek İntaş D, Çeçen G.** Büyük Hayvan Cerrahisi, Uludağ Üniversitesi Yayınları. 2009. Bursa.
- Haller JA, Tepas JT, Pickard LR, Shermeta DW.** Intestinal atresia, current concept of pathogenesis, pathophysiology and operative management, *The American Surgeon.* 1983; 49: 385-391.
- Hatch EI, Schaller RT.** Surgical management of multiple intestinal atresias. *The American Journal of Surgery.* 1986; 151: 550-552.
- Hendrickson DA, Rakesstraw PC, Ducharme NG.** Surgical repair of atresia jejuni in two calves. *JAVMA.* 1992; 201, 4: 594-596.
- Hoffsis GF, Bruner RR.** Atresia coli in a twin calves. *JAVMA,* 1977; 171 (5): 433-434.
- Hofmeyr CFB.** The digestive system. *Textbook of large animal surgery.* Oehme FW (Ed). Second Edition, Williams and Wilkins, Baltimore. 1988; 399-500.
- Johnson R.** Intestinal atresia and stenosis, a review comparing its etiopatogenesis. *Veterinary Research Communications.* 1986a; 10: 95-104.
- Johnson R.** Intestinal atresia and stenosis, a review comparing its morphology. *Veterinary Research Communications.* 1986b; 10: 105-111.
- Jubb TF.** Intestinal atresia in Friesian calves. *Australian Vet. J.* 1990; 67, 10: 382.
- Koç Y, Alkan F, Ceylan C, Birdane FM.** Atresia kolili 22 buzağıda klinik ve operatif yaklaşımların değerlendirilmesi. *Vet. Bil. Derg.* 2001; 17, 1: 27-34.
- Lenghaus C, White WE.** Intestinal atresia in calves. *Austr. Vet. J.* 1973; 49: 587-588.

- Lotfi A, Shahryar HA.** The case report of taillessness in iranian female calf (A congenital abnormality). AJAVA.2009; 4(1): 47-51.
- Loynachan AT, Jackson CB, Harrison LR.** Complete diphallia, imperforate ani (type 2 atresia ani), and an accessory scrotum in a 5-day-old calf. J. Vet. Diagn. Invest, 2006; 18(4): 408-412.
- Maclellan M, Martin JA.** Congenital atresia of the large intestine in a calf: Successful Surgical Correction. The Veterinary Record 1956; 14: 458-459.
- Magda MA, Youssef HA.** Surgical management of congenital malformations in ruminants. [www.priory.com/vet/congenital\_malformations\_ruminants.htm.]2007. Erişim Tarihi: 10.12.2014.
- Martens A, Gasthuys F, Steenhaut M, De Moor A.** Surgical aspect of intestinal atresia in 58 calves. Vet. Rec,1995; 136(6): 141-144.
- Newman SJ, Bailey TL, Jones JC, Diggrassie WA, Whittier WD.** Multiple congenital anomalies in a calf. J Vet Diagn Invest.1999; 11(4): 368-371.
- O'connor JJ.** Dollar's Veterinary Surgery.1956; 690-693, London.
- Oğurtan Z, Alkan F, Koç Y.** Ruminantlarda kongenital anomaliler, Türk Veteriner Hekimliği Dergisi,1997; 9(4): 24-28.
- Öktem B.** Özel Şirürji, Göğüs ve Karın Hastalıkları. 1964.
- Öktem B, Finci A.** Ruminantlarda anüs ve rectum anomalileri üzerinde çalışmalar. 1974.
- Özaydın İ, Kılıç E, Okumuş Z, Cihan M.** 1992-1995 Yılları arasında Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniklerine getirilen buzağılarda doğumsal anomali olguları. Vet. Cer. Derg. 1995; 1(2): 22-25.
- Öztürk S, Aksoy Ö, Kılıç E, Sözmen M, Arancı A.** İki kuzuda ürogenital anomaliyle birlikte seyreden anüs ve rektum atrezisi. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.2005; 11(2): 171-174.
- Pamuk K, Korkmaz M, Sarıtaş ZK, Orhan İÖ.** Simental ırkı bir buzağıda hypospadiasis ve urogenital anomali. Kocatepe Vet. J.2010; 3(2): 39-42.
- Payan-Carreira R, Pires MA, Quaresma M, Chaves R, Adegá F, GuadesPinto H, Colaço B, Villar V.** A complex intersex condition in a Holstein calf. Anim Reprod Sci, 2008; 103(1-2): 154-163.
- Prassinós NN, Papazoglou LG, Adamama-Moraitou KK, Galatos AD, Gouletsou P, Rallis TS.** Congenital anorectal abnormalities in six dogs. Vet Rec.2003; 153(3): 81-85.
- Pratschke K.** Surgical diseases of the colon and rectum in small animals. In Pract, July 2005; 354-362.
- Radostits OM, Gay CC, Arundel JH, Blood DC, Hinchcliff KW.** Veterinary Medicine. WB Saunders, Philadelphia. 2000.
- Rahal SC, Vicente CS, Mortari AC, Mamprim HJ, Caporalli EH.** Recto vaginal fistula with anal atresia in 5 dogs. Can Vet J. 2007; 48(8): 827-830.
- Rescorla FJ, Grosfeld JL.** Intestinal atresia and stenosis: Analysis of survival in 120 cases. Surgery. 1985; 98, 4: 668-696.
- Robinson JT.** Differential diagnosis and surgical management of intestinal obstruction in cattle. Vet Clin North Am: Large Anim Pract.1979; 1:377-394.
- Samsar E, Akın F.** Özel Cerrahi. Tamer Matbaacılık, Yayıncılık, Tan. Hiz.1998. Ankara.
- Saperstein, G.** Congenital abnormalities of internal organs and body cavities. Vet Clin North Am: Food Anim Pract,1993; 9: 115-124.
- Singh AP.** Congenital malformations in ruminant. A review of 123 cases. Indian Vet J.,1989; 66: 981-985.
- Smith DF, Ducharme NG, Fubini SL, Donawick WJ, Erb HN.** Clinical management and surgical repair of atresia coli in calves, 66 cases (1977-1988). JAVMA, 1991; 199, 9: 1185-1190.
- Steenhaut M, De Moor A, Verschooten F, Desmet P.** Intestinal malformations in calves and their surgical correction, Vet Rec, 1976; 14: 131-133.
- Syed M, Shanks RD.** Incidence of atresia coli and relationships among the affected calves born in one herd of holstein cattle. J Dairy Science, 1992; 75, 5: 1357-1364.
- Syed M, Shanks RD.** What causes atresia coli in holstein calves. Cornell Vet., 1993; 83, 4: 261-263.
- Van Der Gaag I, Tibboe D.** Intestinal atresia and stenosis in animals: a report of 34 cases, Vet Pathol.1980; 17: 565-574.
- Young RL, Linfood RL, Olander HJ.** Atresia coli in the foal, a review of six cases.Equine Vet. J.1992; 24, 1: 60-62.

## Neonatal Buzağı İshallerinin Tedavi ve Korunmasında Kolostrum Serumlarının Parenteral Uygulamaları

Özgül Mukaddes ELİTOK<sup>1\*</sup>, Bülent ELİTOK<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Karsal Kalkınma Afyonkarabısar İl Koordinatörlüğü, Afyonkarabısar/TÜRKİYE*

<sup>2</sup> *Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarabısar/TÜRKİYE*

Corresponding author e-mail: elitok1969@hotmail.com

### ÖZ

İnfeksiyöz ve non-infeksiyöz nedenlerden kaynaklanan buzağı ishalleri genç hayvanlarda en sık bildirilen ve sığır yetiştiriciliğinde hala dünyada en önemli üretim ve ekonomik kayıp nedenlerinden birisidir. Sığır plasentası antikorların pasif transferine izin vermez. Bu nedenle, buzağılar hipogammaglobulinemik doğarlar ve kendi immun sistemleri gelişinceye kadar annelerinin sağladıkları kolostrum ile pasif bağışıklığa ihtiyaç duyarlar. Ayrıca, doğumdan sonraki 24 saatten sonra bağırsak IgG, IgA ve IgM'nin emilimine kapanır. Eğer buzağılar bu zamandan önce yeterince bu makromoleküllerden almazlarsa morbidite ve mortalite artar. Bağırsak epitellerince makromoleküllerin emiliminin kesildiği bu hipogammaglobulinemik buzağılarda bu Ig sağlayacak yeni tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır. İmmünglobulin moleküllerinin intestinal absorpsiyonunun süresi geçer geçmez, pasif immünite parenteral enjeksiyonlarla sağlanabilir. Bu makaledeki amacımız, ishali buzağılarda parenteral kolostrum serumunun ishalden korunma ve büyüme performansı üzerine etkilerini derlemektir.

**Anahtar Kelimeler:** Bölgesel Bağışıklık, Buzağı, Kolostrum Serum, Koruma, Tedavi

## Parenteral Applications of Colostrum Serums in Treatment and Prevention of Neonatal Calf Diarrhea

### ABSTRACT

Calf diarrhea caused by infectious and non infectious factors is a commonly reported disease in young animals, and still a major cause of productivity and economic loss to cattle producers worldwide. The bovine placenta does not permit the passive transfer of antibody to the fetus. Thus, calves are born hypogammaglobulinemic, and consumption of colostrum is required to provide passive immunity until the immune system of the calf matures. Additionally, mean time to gut closure in calves occurs approximately 24 h after birth for IgG, IgA, and IgM. If calves do not ingest a sufficient mass of Ig prior to cessation of macromolecular transport, morbidity and mortality may increase. New techniques are needed to provide Ig to hypogammaglobulinemic calves after cessation of macromolecular transport by the intestinal epithelia. Once the period of intestinal permeability to immunoglobulin molecules has passed, passive immunity can be provided through parenteral injections. In this article, our objective is to review the effects of colostrum whey injections on prevention of diarrhea as well as health and growth performance in calves.

**Key Words:** Regional Immunisation, Calves, Colostrum Whey, Preventive, Treatment

To cite this article: **Elitok ÖM, Elitok B.** Neonatal Buzağı İshallerinin Tedavi ve Korunmasında Kolostrum Serumlarının Parenteral Uygulamaları. *Kocatepe Vet J.* 2016; 9(3):211-214.

## GİRİŞ

Neonatal buzağı ishalleri, sığır yetiştiriciliğinde en sık karşılaşılan ve en önemli ekonomik kayıp nedenidir. Amerika Ulusal Sağlık İzleme Sistemi süt işletmelerinde 1 aylıktan küçük süttan kesilen buzağılarda ölümlerin %57'sinin ishalden kaynaklandığını bildirmektedir (USDA, 2008). Süt emen buzağılarda ishal kaynaklı benzer bir mortalite oranı (53.4%) Kore'de saptanmıştır (Hur vd., 2013). Buzağı ishali kaynaklı buzağı ölümlerinin ekonomik kayıpları yılda 280.000 buzağı üretimi olan Norveç için yılda 10 milyon dolar olarak hesaplanmıştır (Osteras vd., 2007). Ülkemizde neonatal dönemdeki buzağı kayıplarındaki ishal kaynaklı mortalite oranları çiftliklere ve bölgeye göre değişmekle birlikte, koruyucu veterinerlik hizmetlerinin uygulandığı çiftliklerde dahi yüksek olduğu bildirilmiştir (Erdoğan vd, 2009; Altuğ vd, 2013; Tokgöz vd, 2013). Türkiye'de yıllık 6 milyon buzağının doğduğu ve bunların kayıplarının en az %15 olduğu düşünüldüğünde ve buzağı maliyetinin yaşam boyu ortalaması alınarak 1000 TL fiyat belirlendiğinde, yıllık 450 milyon Euro'luk bir kayıp söz konusudur (Şahal, 2010).

Neonatal buzağı ishallerinin etiolojisinde, predispozisyon oluşturmaları nedeniyle, enfeksiyöz ajanların yanında non-enfeksiyöz etmenler de oldukça önemli rol oynamaktadır (Blood ve Radostits, 1989; Szenci ve Kiss, 1982; Sangwan vd., 1987). Buzağı kayıplarının en fazla olduğu <30 günlük neonatal dönemde ishal en önemli mortalite nedeni olup, viruslardan; bovine rotavirus (BRV) ve bovine coronavirus (BCoV), bovine viral diarrhoea virus (BVDV) bakterilerden; Salmonella (S.), Clostridium (Cl.) perfringens ve Escherichia (E.) coli ve protozoonlardan; Cryptosporidium (C.) parvum, Eimeria ve Giardia'lar bu dönemdeki ishal olgularında en baskın enterik patojenler olarak öne çıkmaktadırlar (Fenner vd., 2011; Blanchard, 2012; Foster ve Smith., 2009). Blowey (1993), ishal olgularında rotavirus, coronavirus, Cryptosporidium, E. coli (verotoksijenik veya enterotoksijenik) ve Salmonella mikroorganizmalarının sırasıyla % 42, % 14, % 23, % 13 ve % 12 oranında rol oynadığı bildirmişken, bir başka çalışmada ise Cryptosporidium spp. % 52.3, rotavirus % 42,7, E. Coli % 11.9, coronavirus % 7.3 ve Salmonella spp. % 0.9 oranında belirlenmiş, buzağı ishallerinde genelde ilk aydan itibaren % 21,9 ile % 89,8 oranları arasında Eimeria spp. belirlendiği bildirilmiştir (Oda ve Nishida., 1990).

Non enfeksiyöz sebepler ise alimenter (fermentatif, putrefaktif, yağlı ishaller), hazırlayıcı faktörler (anneye bağlı, kolostrumun kalitatif ve kantitatif eksikliği, A vitamini yetmezliği, yavruya bağlı, beslenmeye bağlı) ile çevresel ve diğer faktörleri

kapsamaktadır (genetik, toksik, hava koşulları) (Constable, 2003). Ancak yapılan çalışmalar beslenme ve bakım şartlarının tamamen sağlanması durumunda bile hastalığın şekillendiğini, doğumlarından sonraki ilk saatlerinde en az 2.25 L kolostrum almış, dezenfekte ve kontamine olmayan bokslarda barındırılan ve ilave zengin yem alan çok iyi bakım ve beslenmede bile yıllık kayıp oranının %4'ten fazla olduğu bildirilmiştir (Greene, 1983). Nitekim, her türlü iyi bakım, beslenme ve koryucu hijyenik önlemler alınmasına rağmen, hayvanlar sakrifiye edilip detaylı incelendiğinde; neonatal buzağuların bağırsaklarında E. coli, cryptosporidia, rota and corona virusların varlığı yine de tespit edilmiştir (Hammer, 2003; Greene,1983). Ağız yoluyla alınan kolostrumun farklı nedenlerle (kolostrum Ig titrasyonunun yeterli olmaması, emilimi engelleyen durumlar, bağırsaktaki enfeksiyöz ajanlar gibi) tam bir koruma sağlayamadığı görülmektedir. Prematürlerde emilimin yetersiz olması söz konusu iken, diğer buzağılarda kolostrumdaki makromoleküllerin absorpsiyonu sorunsuz olabilir. Öte yandan fetal dönemdeki gecikmeler, in vitro embryo üretimi ve stresli doğum gibi olgular kolostrumdan immunglobulinlerin emiliminde azalmaya sebep olabilmektedir (Sangild., 2003).

IgG'nin en yüksek emilme dönemi kolostrum alımınının gerçekleştiği ilk 4 saatte olmakta ve zaman ilerledikçe azalmaktadır (Matte vd., 1982). Kolostrum verilen buzağılarda serum gammaglobulin konsantrasyonlarının yaklaşık 16. saate kadar sürekli yükseldiği ve pik yaptığı, bu saatten sonra düşüşe geçtiği bildirilmiştir (Patt vd., 1972). Neonatal buzağılarda doğumdan sonraki 16. saate verilen kolostrumdaki IgG'nin %10'unun, 20. saatte %23'nün ve 24. saatte %50'sinin emilemediği gözlenmiş, IgG, IgM ve Ig A alımı için bağırsağın kapanma süresi yaklaşık doğumdan sonraki 26. saat olup, bu saatten sonra alınan kolostrum miktarı fazla olsa dahi bağırsağın kapanması nedeniyle etkili olmayacağı bildirilmiştir (Stott vd., 1979). Nitekim 48 saaten büyük buzağılarda ince bağırsaklara infuze edilen kolostrumun serum immunglobulin artışına neden olmadığı görülmüştür (Smith ve Erwin, 1959). Çiftlik hayvanlarında bağırsakların kapanmasının enerji (glukoz) mevcudiyeti ve bağırsakların olgunlaşması ile ilişkili olduğundan, normoksik buzağılarda bağırsakların 24. saate kadar kapandığı halde, hipoksik buzağılarda (pO<sub>2</sub> ~ 26 mm Hg) bağırsakların 42-48 saate kadar kapanmadığı bildirilmiştir (Tyler ve Ramsey, 1991).

Kolostrumun verilme yöntemi de Ig absorpsiyonunda etkilidir. Aynı miktarda biberonla kolostrum verilen buzağularla karşılaştırıldığında, kolostrumu emerek alan buzağılarda 12. saatte daha yüksek IgG absorpsiyon oranı ve daha yüksek serum IgG konsantrasyonları gözlenmiştir (Stott vd., 1979).

Ayrıca ek gıdaların kolostrumun yerini tutmaya yeterli olmadığı, < 100 g IgG/dozdaki ek gıdalarının >100 g IgG/dozda olması durumunda immunité oluşumuna neden oldukları bildirilmiştir (Quigley vd., 2002). Ancak kolostrum emen buzağılara göre düşük bağışıklık sağlamakla birlikte, sığır plazma tozu içeren süt ikamelerinin E. coli enfeksiyonunda klinik belirtilerin şiddetinde azalmaya ve buzağı yaşam oranında artışa katkı sağladığı bildirilmiştir (Nollet vd., 1999). Corona virus ile enfekte ve sığır serumu içeren ilave yem tüketen buzağılarda, almayanlara oranla daha az dehidrasyon ve daha fazla yem alımları gözlenmiştir (Arthington vd., 2002). Ig'ler sindirim sistemindeki proteolitik enzimlere oldukça dayanıklı olmalarına rağmen, çalışmanın konusunda ele alınan etiyolojik ajanlar villus atrofisine neden olduklarından oral kolostrum emilimi sınırlanmış olmaktadır (Roos vd., 1995).

Bir kez bağırsak permeabilitesinin Ig'lerin geçişine olanak sağlamasıyla birlikte, intravenöz (IV), intraperitoneal (IP), veya subcutaneous (SC) enjeksiyonlar da pasif immünite sağlamakta kullanılabilirler (Hammer, 2003). Kolostrum verimemiş buzağılara 20 ml plazma/kg canlı ağırlığa İ.V. verildiğinde 24. saatte, total immunglobulin %262 mg, IgG'nin %192 mg, IgG2'nin %66 mg, %IgM'nin %4 mg ve IgA'nın %0 mg arttığı gözlenmiştir. Intraperitoneal verildiğinde ise; 24. saatte, total immunglobulin %268 mg, IgG'nin %192 mg, IgGa'nın %66 mg, %IgM'nin %6 mg ve IgA'nın %0 mg arttığı gözlenmiştir. Damar içi 47 mg IgG içeren plazma uygulamalarının serum IgG düzeyinde 2,9 g/L artışa ve dolayısıyla %32'lik bir IgG retensiyonuna aracılık ettiği görülmüştür (Quigley ve Welbom, 1996). Damar içi uygulanan IgG'nin buzağı ve taylardaki yarılanma ömrünün 18-23 gün olduğu, yaklaşık %1.5'unun dışkı ile, % 2.5'unun ise idrarla günlük atıldığı, uygulanan infüzyonlardaki IgG'nin %68'inin kan yoluyla gastrointestinal sisteme transfer edildiği bildirilmiştir (Besser vd., 1988).

Rotavirus ile deneysel oluşturulan buzağılardaki enfeksiyonunda rotavirus aşısı uygulanmış annelerin kolostrumlarından elde edilen kolostrum serumlarının subkutan 1.25 L enjeksiyonlarının enfekte edilen buzağılarda serum Ig konsantrasyonlarını artırdığı, rotavirus enfeksiyonuna karşı buzağuları koruduğu, ancak oral yolla verilen kolostrumun bağırsak sistemindeki değişiklikler nedeniyle immünitenin gelişmesinde yetersiz kaldığını ve rotavirus immunizasyonu geliştirmemiş annelerden alınan kolostrumun buzağı ölümlerinin önüne geçemediği tespit edilmiştir (Thomas vd., 1988). Rotavirus ile domuzlarda yapılan çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Stapanek vd., 1982) Sonuç, hayatlarının erken dönemlerinde enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz pek çok etmenle karşı karşıya kalan agammaglobulinemik buzağuların kendi bağışıklık sistemlerinin gelişmesi için gereken yaklaşık ilk 2-2.5 aylık dönemde, emmek veya biberonla

verilmek suretiyle aldıkları kolostrumun bu dönemde hastalıklara karşı tek savunma sistemi olmakla birlikte, alımındaki gecikmeler, yetersiz miktar, Ig titrasyonundaki düşük seviyeler, bağırsaktaki fırsatçı patojenler, güç doğum gibi stres olguları ve en önemlisi bağırsağın 24. saatten sonra Ig emilimine kapanması ve kolostrumun 72. saatten sonra tamamen normal süte dönüşmesi gibi nedenler, kolostrum Ig'lerinin başka yöntemlerle dolaşıma dahil edilmesi ve yeni tekniklerin uygulanmasını zorunlu kılmıştır. Yeme katılan immunglobulin ilaveleri bağırsağın durumundan doğrudan etkilenmekte, faydalı olmakla birlikte, nispeten sınırlı kalmaktadır. Ayrıca parenteral kullanılan pek çok immenserumlar kan plazmasından elde edilmekte, titrasyon ve Ig türleri annenin hayat tecrübesiyle ilişkilidir. Buzağılarda ve diğer hayvanlarda S.C. kolostrum serumu uygulamaları ile ilgili az sayıda literatür olmasına rağmen, oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak, yaptığımız literatür taramalarına göre; şu ana kadar buzağılarda İ.V. kolostrum serumu uygulaması yapan bir çalışmaya rastlamadık. Özellikle neonatal buzağı ishallerinde S.C. ve İ.V. yolla kolostrum havuzundan elde edilecek serumların enjeksiyonu ile önemli başarılar elde edileceğine inanılmaktadır. Bu konuda yapılacak yeni çalışmalar; hem ishal nedeniyle oluşacak ekonomik kayıpların önlenmesinde, hem zootekni parametrelerinde artışa, hem de bölgesel immünizasyonun ve metodolojinin oluşturulmasına önemli katkılar sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Arthington JD, Cattell MB, Quigley JD.** Effect of dietary IgG source (colostrum, serum, or milk-derived supplement) on the efficiency of Ig absorption in newborn Holstein calves. J Dairy Sci. 200; 83:1463.
- Besser TE, Gay CC, McGuire TC, Evermann JF.** Passive immunity to bovine rotavirus infection associated with transfer of serum antibody into the intestinal lumen. J. Virol. 1988; 62:2238-2242.
- Blanchard PC.** Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. Vet. Clin. N. Am. Food A. 2012; 28: 443-464.
- Blood DC, Radostits OM.** Veterinary Medicine. 7. Edition, Bailliere Tindall, London, 1988.
- Blowey RW.** A Veterinary Book for Dairy Farmers" 2nd ed. Farming Press Ltd. Great Britain. 1993; pp. 15-77.
- Constable PD.** Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. JVIM. 2004; 18(1): 8- 17.
- Erdoğan HM, Ünver, A, Çitil M, Güneş V, Arslan MÖ, Tuzcu M, Gökçe Hİ.** Dairy farming in Kars district, Turkey: III. Neonatal calf health. Turk. J. Vet. Anim. Sci.2009; 33(3): 185-192.
- Fenner F, MacLachlan NJ, Dubovi EJ.** Fenner's

- Veterinary Virology. 4th ed, Academic Press, Burlington. 2011; pp. 288-290.
- Foster DM, Smith GW.** Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2009; 25: 13-36.
- Greene HJ.** Minimise calf diarrhoea by good husbandry: treat sick calves by fluid therapy. *Ann Rech Vet.* 1983; 14(4): 548-55
- Hammer CJ.** Effects of exogenous immunoglobulins in neonatal animals. Retrospective Theses and Dissertations. Iowa State University. 2003.
- Hur TY, Jung YH, Choe CY, Cho YI, Kang SJ, Lee HJ, Ki.** The dairy calf mortality: the causes of calf death during ten years at a large dairy farm in Korea. *Korean J Vet Res.* 2013; 53: 103-108.
- Matte JJ, Girard CL, Seoane JR.** Absorption of colostrum immunoglobulin G in the newborn dairy calf. *J Dairy Sci.* 1982; 65: 1765-1772.
- Nollet H, Laevens H, Deprez P, Sanchez R, Van Driessche E, Muylle E.** The use of non-immune plasma powder in the prophylaxis of neonatal *Escherichia coli* diarrhea in calves. *J. Vet. Med. Assn.* 1999; 46: 185-196.
- Oda K, Nishida Y.** Prevalence and distribution of bovine coccidia in Japan. *Japanese Journal of Veterinary Science.* 1990; 52(1): 71-77.
- Osteras O, Gjestvang MS, Vatn S, Solverod L.** Perinatal death in production animals in the Nordic countries -incidence and costs. *Acta Vet Scand.* 2007; 49 (1): 14-21.
- Patt JA, Zarkower A, Eberhart RJ.** Effect of histamine on intestinal absorption of gamma globulin in newborn calves. *J. Dairy Sci.* 1972; 55: 645-646.
- Quigley JD, Lago A, Chapman C, Erickson P, Polo J.** Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *J. Dairy Sci.* 2013; 96: 1148-1155.
- Quigley J.D, Welbom J.K.** Milk replacers with or without animal plasma for dairy calves. *J. Dairy Sci.* 1996; 79: 1881-1884.
- Roos N, Mahe S, Benamouzig R, Sick H, Rautureau J, Tome D.** <sup>15</sup>N-labelled immunoglobulins from bovine colostrum are partially resistant to digestion in human intestine. *J. Nutr.* 1995; 125: 1238-1244.
- Sangild PT.** Uptake of colostrum immunoglobulins by the compromised newborn farm animal. *Acta Vet Scand Suppl.* 2003; 98: 105-22.
- Sangwan ML, Anand GR, Dwarkanath PK.** Genetic and non-genetic factors affecting plasma immunoglobulin levels in crossbred calves. *Indian J Dairy Sci.* 1987; 40:140-150.
- Smith VR, and Erwin ES.** Absorption of colostrum globulins introduced directly into the duodenum. *J. Dairy Sci.* 1959; 42: 364-365.
- Stapanek J, Mensik J, Krejc JF.** Preparation of Hyperimmune Cow Colostrum Whey and Its Use in The Protection of Piglets Against Transmissible Gastroenteritis. *Acta Vet. Brno.* 1982; 51: 99-108.
- Stott GH, Fellah A.** Colostral immunoglobulin absorption linearly related to concentration for calves. *J Dairy Sci.* 1983; 66(6): 1319-28.
- Szenci O, Kiss MB.** Perinatal calf losses in large production units. *Acta. Vet. Acad. Sci. Hungaria.* 1982; 30: 85-95.
- Şahal M.** Sıcak stresinin sığırların beslenmesine etkileri. s 46-71. In: Ruminantlarda Yaz Sorunları, Beslenme ve Hastalıklar. Ed: A. Cebecioğlu. 2010.
- Thomas EB, Clive CG, Travis, CM, Evermann JF.** Society for Microbiology Passive Immunity to Bovine Rotavirus Infection Associated with Transfer of Serum Antibody into the Intestinal Lumen. *Journal of Virology.* 1988; 3: 2238-2242.
- Tokgöz BS, Özdemir R, Turgut N, Mirioğlu M, İnce H, Mahanoğlu B, Yoldaş A, Tuzcu N.** Adana Bölgesinde Görülen Neonatal Buzağı Enfeksiyonlarının Morbidite ve Mortalitepleri ve Risk Faktörlerinin Belirlenmesi. *AVKAE Derg.* 2013; 3(1): 7-14.
- Tyler H, Ramsey H.** Hypoxia in neonatal calves: effect on intestinal transport of immunoglobulins. *J Dairy Sci.* 1991; 74(6): 1953-6.
- USDA (United States Department of Agriculture).** Dairy 2007 Part II: Changes in the U.S. Dairy Cattle industry, 1991-2007. USDA-APHIS-VS, CEAH, Fort Collins, USA. 2008; pp. 57-61.

## Epidermal Büyüme Faktörü

Gül Fatma YARIM<sup>1</sup>, Filiz KAZAK<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Samsun/TÜRKİYE

Corresponding author e-mail: filiz.kazak@omu.edu.tr

### ÖZ

Epidermal büyüme faktörü, hücrelerin bölünmesi, farklılaşması, yaşaması, çoğalması, büyümesi ve hücre göçünü uyaran protein yapıda bir büyüme faktörü olup, organizmadaki pek çok fizyolojik ve patolojik süreçte rol almaktadır. EGF, anti-enflamatuar, anti-apoptotik, nörotrofik ve nöroprotektif etkilere sahiptir. Epidermal büyüme faktörü reseptörleri akciğer, mide, duodenum, pankreas, böbrek, hipofiz bezi, tiroid bezi, meme bezi, yumurtalık, uterus, plasenta, kornea ve gliya hücrelerinde bulunmaktadır. Trombositler, makrofajlar, monositler ve fibroblastlar da epidermal büyüme faktörü kaynağıdır. Epidermal büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü reseptörüne bağlanarak, MAPK, ERK 1/2, PI3K-Akt, PLC- $\gamma$ , JAK/STAT hücre içi sinyalizasyon yollarını aktive ederek etki etmektedir. Epidermal büyüme faktörü etkilerini başlıca sindirim sistemi, üreme sistemi ve sinir sistemi üzerinde göstermektedir. Fibroblastların, keratinositlerin, vasküler endotel hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını uyarıcı etkisi nedeniyle, özellikle yaraların tedavisinde epidermal büyüme faktörü uygulamaları başarı sağlamaktadır. Bu derlemenin amacı, EGF'nin yapısı, kaynakları, reseptörü, etki mekanizması, etkileri ve tedavide kullanımını özetlemektir.

**Anahtar Kelimeler:** Epidermal Büyüme Faktörü, Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

## Epidermal Growth Factor

### ABSTRACT

Epidermal growth factor is a growth factor in protein structure that stimulating division, differentiation, survival, proliferation, growth and migration of the cells which takes role in many physiological and pathological processes of the organism. EGF has anti-inflammatory, anti-apoptotic, neuroprotective and neurotrophic effects. Epidermal growth factor receptors are located on the cell surface of many tissues that include lung, stomach, duodenum, pancreas, kidney, pituitary gland, thyroid gland, mammary gland, ovary, uterus, placenta, cornea and glia. Platelets, macrophages, monocytes and fibroblasts are also source of epidermal growth factor. EGF exerts its effects through binding to EGFR mainly by activating MAPK, ERK 1/2, PI3K-Akt, PLC- $\gamma$ , JAK/STAT intracellular signaling pathways. Epidermal growth factor exerts its effect mainly on the digestive, reproductive and nervous system. Epidermal growth factor administration especially in treatment of wounds has success because of its stimulating effect on growth and proliferation of fibroblasts, keratinocytes and vascular endothelial cells. The aim of this review is to summarize the structure, sources, receptor, effect mechanism, effects and for use in therapy of epidermal growth factor.

**Key Words:** Epidermal Growth Factor, Epidermal Growth Factor Receptor





## Epidermal Büyüme Faktörünün Etkileri

EGF'nin etkileri hakkında güncel bilgilerin çoğu, mutant fare çalışmaları ile elde edilmiştir. EGFR eksik farelerde deri, akciğer, mide-bağırsak kanalı epitelinde defekt, çoklu organ yetmezliği ve nörodejenerasyon geliştiği ve bu farelerin doğumdan sonraki ilk bir ay içinde öldüğü bildirilmiştir (Miettinen ve ark. 1995, Sibilia ve Wagner 1995, Sibilia ve ark. 2003). Sibilia ve ark. (1998), EGFR eksik farelerde postnatal nörodejenerasyonun oluştuğunu göstererek, EGFR'nin astrositlerin çoğalmasında, farklılaşmasında ve postmitotik nöronların sağ kalımında spesifik bir fonksiyonu olduğunu ifade etmişlerdir. Nieto-Sampedro ve ark. (1988), beyin hasarı sonucu reaktif astrositlerde EGFR artışını rapor etmişlerdir. Kornblum ve ark. (1998), postnatal fare ön beyininin korunması ve astrositlerin normal gelişimi için EGFR ekspresyonunun önemli olduğunu ortaya koymuşlardır. EGFR'nin oligodendrosit gelişiminde de önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (Aguirre ve ark. 2007). EGF, epitel, endotel, mezodermal, fibroblast ve düz kas hücrelerinde DNA sentezini uyararak organizmanın gelişiminde rol oynamaktadır (Carpenter ve Cohen 1976). EGFR aktivasyonu, epidermal keratinositlerin hücre döngüsünün ilerlemesini ve farklılaşmasını sağlayarak sağ kalımını artırmaktadır (Jost ve ark. 2000, Safari ve ark. 2014). EGF, preimplantasyonda, embriyo gelişiminde, diş oluşumunda ve göz kapağı açılmasında görev almaktadır (Cohen 1962, Nielsen ve ark. 1991, Wei ve ark. 2001, Grazul-Bilska ve ark. 2003, Aflalo ve ark. 2007, Dadi ve ark. 2007). EGFR sinyalizasyonu, osteoprogenitor hücrelerin çoğalmasını ve sağ kalımını, dolayısı ile yeni kemik oluşumunu teşvik etmektedir (Chandra ve ark. 2013). EGF'nin, ince bağırsak hücrelerinden bazolateral membran reseptörü tirozin kinaz aracılığıyla sodyum absorpsiyonunu uyardığı bilinmektedir (Khurana ve ark. 1996). EGF, alveol epitel hücrelerinin bazolateral membranında fonksiyonel sodyum pompasının sayısının artmasına yol açan sodyum pompası mRNA ekspresyonunu ve protein sentezini artırarak aktif sodyum emilimini uyarır (Danto ve ark. 1998). Böbrek tübüllerinin bazolateral membranından kalsiyum akışını artıran EGF sodyum geri emilimini azaltmaktadır (Vehaskari ve ark. 1991). EGF, meme bezi hücrelerinin çoğalması üzerinde uyarıcı etki göstermektedir (Collier ve ark. 1993). Anne sütündeki EGF, yeni doğan yavruların bağırsak epitel hücrelerinin farklılaşmasını teşvik ederek, bağırsak fonksiyonlarının gelişiminde rol oynamaktadır (Foltzer-Jourdainne ve ark. 1993, Bruder ve ark. 2008, Dvorak 2010). EGF, sindirim sistemine ilişkin çok önemli fizyolojik etkilere sahiptir. Gastroduodenal ülser iyileşmesi ve skar oluşumunda EGF'nin önemli bir etki gösterdiği rapor edilmiştir (Konturek ve ark. 1991, Lee ve ark.

1991, Okita ve ark. 1991, Tarnawski ve ark. 1992, Tarnawski ve Jones 1998). Jeffrey ve ark. (2001), EGF'nin atlarda akut peptik ülserin iyileşmesinde önemli bir faktör olabileceğini bildirmişlerdir. Pan ve ark. (2014), Tibet öküzü testis gelişiminde ve spermatogenezinde EGF ve EGFR'nin önemli parakrin ve/veya otokrin düzenleyiciler olduğunu bildirmişlerdir. İnsan, sığır, domuz, rat gibi birçok türün yumurtalıkları üzerinde EGF bağlanma bölgeleri gösterilmiştir (Chabot ve ark. 1986a, Wandji ve ark. 1992, Maruo ve ark. 1993, Singh ve ark. 1995). İnek, koyun, kısırak, domuz, tavşan, kedi, fare gibi çeşitli memeli türlerinde follikülogenez, embriyogenez, pre- ve peri-implantasyon ile EGF arasında bir ilişki bulunmaktadır. Ayrıca gebelerde artmış olan EGF'nin, gelişen implante olmuş embriyo ve endometriyum üzerinde potansiyel büyüme destekleyici aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir (Corps ve ark. 1990, Hofmann ve Anderson 1990, Hamrouche ve ark. 1993, Fischer ve ark. 1994, Stewart ve ark. 1994, Göritz ve ark. 1996, Gharib- Lennard ve ark. 1998). EGF domuzlarda erken gebelikte peri-implantasyon dönemde, uterus luminal epitelyal hücre göçünü ERK1/2 MAPK sinyalizasyon yoluyla düzenlemektedir (Jeong ve ark. 2016). Daha önce yapılan bir çalışmada da EGF'nin erken hamilelik sırasında PI3K-Akt1 (protoonkogenik protein kinaz 1) veya ERK1/2 MAPK sinyal iletim kaskadları boyunca domuz trofoektoderm hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü tetiklediği gösterilmiştir (Jeong ve ark. 2013). Kim ve ark. (2009), gebe domuzlarda gebeliğin 12, 15, 30, 60, 90 ve 110. günlerinde uterusu EGF ve EGFR ekspresyonlarının benzer ve implantasyon zamanında ise daha yüksek ekspresyon olduğunu, sonrasında ekspresyon gerçekleşmediğini göstererek, EGF'nin gebe domuzlarda implantasyon sırasında önemli bir rol oynadığını rapor etmişlerdir. Memeli hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen birçok çalışma dişi üreme döngüsü sırasında ifade edilen EGF ve EGFR'nin, oosit maturasyon ve gelişimi, pre-implantasyon, aynı zamanda implantasyon ve plasantasyon için gebe uterusun yeniden şekillenmesinde hücrelerin çoğalması ve farklılaşması ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Chegini ve ark. 1986, Smith ve ark. 1991, Göritz ve ark. 1996, Lonergan ve ark. 1996). EGF beyinde, kök hücre çoğalmasını, nöron farklılaşmasını sağlayan ve sinaptik plastisite üzerine etkisi olan nörotrofik bir büyüme faktörüdür (Morrison ve ark. 1987, Ferrari ve ark. 1991, Ishiyama ve ark. 1991). EGF, merkezi sinir sisteminde sinir kök ve progenitor hücreleri için bilinen bir mitojendir. EGF, *in vitro* sinir hücrelerinin çoğalmasını sağlarken, rodent beyini subventriküler bölgesinde hücrelerin çoğalması ve migrasyonunu kolaylaştırmaktadır. Ratlarda travma sonrası hasarlı beyine EGF'nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, EGF ile tedavi edilen hayvanlarda hipokampal nöronal hücre kaybının azalması ile birlikte, bilişsel

fonksiyonlarda da anlamlı bir iyileşme olduğu gösterilmiştir. EGF'nin beyini hasardan korumasındaki nörojenik etkisinden ziyade, bir nöroprotektif etkisinin de olduğu rapor edilmiştir (Gritti ve ark. 1999, Sun ve ark. 2010). EGF, normal yetişkin beyininde kök veya progenitör hücreleri çoğalmaya ve migrasyona teşvik etmektedir. EGF, merkezi sinir sisteminde fizyolojik ve patolojik durumlarda nörogenezde rol oynamaktadır. EGF infüzyonunun, iskemik hasardan sonra rejenerasyonun nöron sayısını arttırdığı, hücre çoğalması, jenerasyonu ve striatal spesifik nöronların migrasyonunu kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Teramoto ve ark. 2003, Ninomiya ve ark. 2006). EGF, beyin sapı, serebral korteks, hipokampus, bazal hipotalamus, olfaktör bulbul, olfaktör tüberkül, striatum ve talamus gibi beyinin farklı bölgelerinde ve beyincikte tespit edilmiştir (Fallon ve ark. 1984, Schaudies ve ark. 1989, Lazar ve Blum 1991). Aynı zamanda EGFR'nin de beyinde yaygın bir şekilde dağılım gösterdiği bilinmektedir (Wiedermann ve ark. 1988). Chabot ve ark. (1986b), EGF'nin yetişkin rat ön hipofiz bezinde bağlanma yerlerini ve dağılımını rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda, EGF'nin fare ve rat hipofiz bezinde, hipofiz kortikotrop (Childs ve ark. 1995, Oomizu ve ark. 2000), gonadotrop (Childs ve Unabia 2001) ve laktotrop/mammatrof (Oomizu ve ark. 2000) proliferasyonunu tetiklediği ve ayrıca adrenokortikotropik hormonu (Childs ve ark. 1991), tiroid stimüle edici hormon (Altschuler ve ark. 1993) ve prolaktin (Johnson ve ark. 1980, Schonbrunn ve ark. 1980, Murdoch ve ark. 1992) salgılanmasını arttırdığı gösterilmiştir. EGF rat adenohipofizinden büyüme hormonu (GH) salgılanmasını da uyarılmaktadır (Ikeda ve ark. 1984). Beyinde bulunan EGF, çeşitli uyku arttırıcı maddelerin üretimini etkilemektedir. Tavşanlara farklı dozlarda EGF'nin intraserebroventriküler uygulaması ile tavşanlarda spontan uykuyu etkileyip etkilemediğine dair yapılan çalışmada, EGF'nin uyku düzenlemesinde rol oynadığı rapor edilmiştir (Kushikata ve ark. 1998). Futamura ve ark. (2009), şizofren hastaları ile sağlıklı bireylerin beyin dokusu ve serum EGF protein düzeylerini ölçerek karşılaştırdıklarında, şizofren hastalarının EGF protein düzeylerinin, prefrontal korteks ve striatumunda azaldığını, bunun aksine EGFR ekspresyonunun prefrontal kortekste yükseldiğini bulmuşlardır.

### **Epidermal Büyüme Faktörü ile Tedavi**

EGF'nin, fibroblast çoğalmasını uyararak, granülasyon dokusunun oluşumunu hızlandırarak, epitelizasyonu artırarak ve yeni damar oluşumunu uyararak yara iyileşmesini hızlandırdığı yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur (Marti ve ark. 1989, Malcherek ve ark. 1994, Aral ve ark. 1995, Babül ve ark. 1996, Cribbs ve ark. 1998, Su ve ark. 2014, Wu ve ark. 2015). Kornea yaralarının iyileşmesinde

EGF'nin rol aldığı saptanmıştır (Gospodarowicz ve Greenburg 1979, Wilson ve ark. 1994, Usuki ve ark. 1995). Kedilerde, kornea yaralanmalarında göz içi EGF uygulamasının, endotelial hücre rejenerasyonunu arttırarak yara iyileşmesini sağladığı ortaya konulmuştur (Rich ve ark. 1991, Raphael ve ark. 1993). EGF topikal uygulaması ile atlarda korneal epitelyal bozuklukların iyileşmesi üzerine etkisi gösterilmiştir (Burling ve ark. 2000). Diyabetik ayak yaralarının tedavisinde EGF uygulamasının başarı sağladığını gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır (Tsang ve ark. 2003, Acosta ve ark. 2006, Hong ve ark. 2006, Fernández-Montequín ve ark. 2009, Tuyet ve ark. 2009, Yera-Alos ve ark. 2013, Ertugrul ve ark. 2015). EGF'nin yaşlı deri üzerinde rejeneratif etki gösterdiği belirlenmiştir (Kim ve ark. 2015). Lokal EGF uygulamasının, lazerle indüklenmiş postenflamatuvar hiperpigmentasyonu engellediği rapor edilmiştir (Park ve ark. 2015). Dental pulpa kök hücrelerinin *in vitro* EGF ile muamele edilmesi ile bu hücrelerin osteojenik potansiyelinin arttığı ve EGF'nin implant uygulamalarında yararlı olabileceği bildirilmiştir (Del Angel-Mosqueda ve ark. 2015). EGF, gastrointestinal sistem epitel hücrelerinin farklılaşmasını ve çoğalmasını uyarması yanında hasarlı mukozanın iyileşmesinde de yararlı etkilere sahiptir (Pollack ve ark. 1987, Duh ve ark. 2000, Warner ve Warner 2005). EGF'nin ratlarda deneysel kolit ve gastroduodenal ülserde yangıyı azalttığı, mukozal iyileşmeyi kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Konturek ve ark. 1988, Luck ve Bass 1993, Procaccino ve ark. 1994). Yeni doğan tavşanlara EGF takviyesinin bağırsak kökenli enfeksiyonlara karşı direnci arttırdığı rapor edilmiştir (Okuyama ve ark. 1998). Buret ve ark. (1998), tavşanların enteropatojenik *Escherichia coli* ile enfeksiyonu sırasında oral EGF uygulanmasının *in vivo* etkilerini incelemiştir. Günlük EGF tedavisinin ishal oluşumunu, kilo azalmasını engellediğini ve enteropatojenik *E. coli* kolonizasyonuna karşı gastrointestinal sistemi koruduğunu bildirmişlerdir. Rotavirüs ile enfekte yenidoğan domuzlara oral EGF uygulamasının, ince bağırsak epitelinin ve mukozal boyutlarının yenilenmesi, enzim aktiviteleri üzerine yararlı etkileri gösterilmiştir (Zijlstra ve ark. 1994). EGF, domuzların bağırsak yaralarında gerilme direncini arttırdığı bildirilmiştir (Kingsnorth ve ark. 1990). Anne sütündeki EGF'nin, bağırsak epitelinde toll-benzeri reseptör 4 inhibisyonu ile nekrotik enteritisin oluşumuna karşı koruma sağladığı saptanmıştır (Good ve ark. 2015). Humes ve ark. (1989), ratlarda deneysel iskemik böbrek hasarı oluşturulduktan sonra eksojen EGF uygulamasının hasarı önleyerek, böbrek fonksiyonel iyileşmeyi ve rejenerasyonu hızlandırdığını ilk kez göstermiştir. Daha sonra yapılan birçok çalışmada benzer şekilde, nefrotoksisiteye ve iskemi/reperfüzyon gibi çeşitli nedenlere bağlı olarak gelişen böbrek hasarlarını önlemede EGF'nin, organ morfolojik ve fonksiyonel

bütünlüğünü koruduğu, profilaktik nefroprotektif etkisi bildirilmiştir (Coimbra ve ark. 1990, Norman ve ark. 1990, Morin ve ark. 1992, Caballero ve ark. 2000, Hussein ve ark. 2011, Rodriguez Salgueiro ve ark. 2014). Kennedy ve ark. (1997), EGF'nin üreter obstrüksiyonu izleyen renal tübüler apoptozu bastırıldığını rapor etmişlerdir. Mastitisli ineklerin meme dokusunda memedeki yangısal olaylara bağlı olarak EGF ekspresyonlarının arttığı ve bu büyüme faktörünün enfeksiyon sırasında gerçekleşen çeşitli hücresel süreçlerde ve doku onarımında önemli olabileceği ifade edilmiştir (Sheffield 1997). Ratlarda maternal EGF uygulamasının fetal büyümeyi hızlandırdığı rapor edilmiştir (Jansson ve Skarland 1990). Ratlarda akut omurilik yaralanması sonrası, EGF uygulamasının kan omurilik bariyer geçirgenliğinin bozulmasını önlediği ve lokomotor aktiviteyi arttırdığı bildirilmiştir (Zheng ve ark. 2016). Burun içi EGF tedavisinin, yeni doğan beyin hasarında progenitör hücrelerden yeni oligodendrositlerin oluşumunu artırdığı ve fonksiyonel iyileşmeyi uyardığı rapor edilmiştir (Scafidi ve ark. 2014).

## SONUÇ

EGF, hücrelerin bölünmesi, farklılaşması, yaşaması, çoğalması, büyümesi ve göçü üzerinde önemli etkilere sahiptir. EGF'nin, antienflamatuar, antiapoptotik, nörotrofik ve nöroprotektif etkileri *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar ile ortaya konulmuştur. EGF, preimplantasyonda, embriyo gelişiminde, diş oluşumunda, kemik oluşumunda ve göz kapağı açılmasında rol almaktadır. Fibroblast çoğalmasını uyurarak, granülasyon dokusu oluşumunu hızlandırarak, epitelizasyonu artırarak ve yeni damar oluşumunu uyurarak yara iyileşmesini hızlandıran EGF, yara tedavisinde kullanım alanı bulmaktadır. Deri, kornea ve diyabetik ayak yaralarının tedavisinde EGF uygulamalarına başvurulmaktadır. EGF, yangı giderici, mukoza koruyucu ve yara iyileştirici özellikleri nedeniyle kolit, ülser, enterit gibi sindirim sistemi bozukluklarında tedavi edici potansiyele sahiptir. Nörotrofik ve nöroprotektif etkilerinden dolayı omurilik ve beyin hasarında EGF uygulaması ile başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Antienflamatuar, antiapoptotik, nörotrofik ve nöroprotektif etkinliği bilimsel çalışmalar ile kanıtlanmış olan EGF'nin, yara iyileşmesinde, enflamasyon ile seyreden hastalıklar ile sinir sistemi hastalıklarının tedavisinde umut vaad ettiği anlaşılmaktadır.

## KAYNAKLAR

Acosta JB, Savigne W, Valdez C, Franco N, Alba JS, del Rio A, López-Saura P, Guillén G, Lopez E, Herrera L, Fernández-Montequín J. Epidermal growth factor

intralesional infiltrations can prevent amputation in patients with advanced diabetic foot wounds. *Int Wound J.* 2006; 3(3):232-239.

- Aflalo ED, Sod-Moriah UA, Potashnik G, Har-Vardi I. EGF increases expression and activity of PAs in preimplantation rat embryos and their implantation rate. *Reprod Biol Endocrinol.* 2007; 5:4.
- Aguirre A, Dupree JL, Mangin JM, Gallo V. A functional role for EGFR signaling in myelination and remyelination. *Nat Neurosci.* 2007; 10(8):990-1002.
- Altschuler LR, Parisi MN, Cageao LF, Chiochio SR, Fernandez-Pol JA, Zaninovich AA. Epidermal growth factor stimulates thyrotropin secretion in the rat. *Neuroendocrinology.* 1993; 57(1):23-27.
- Aral İL, Güngör N, Oygür T, Cinel L. Epidermal Büyüme Faktörünün (EGF) Deri Allogreftleri Üzerine Olan Etkilerinin Histopatolojik olarak Araştırılması. *GÜ Dışhek Fak Der.* 1995; 12(1):47-53.
- Babül A, Gönül B, Özogul C, Dinçer S, Erdoğan D, Pınar L, Çelebi N. EGF Accelerates Mice Skin Wound Healing, Proceed. 8thinler. *Pharm. Technol.* 1996; Symp. (IPTS-96), Sept. 9:1 Ankara-TURKEY.
- Bruder ED, Hoof JV, Young JB, Raff H. Epidermal growth factor and parathyroid hormone-related peptide mRNA in the mammary gland and their concentrations in milk: effects of postpartum hypoxia in lactating rats. *Horm Metab Res.* 2008; 40(7):446-453.
- Buret A, Olson ME, Gall DG, Hardin JA. Effects of orally administered epidermal growth factor on enteropathogenic Escherichia coli infection in rabbits. *Infect Immun.* 1998; 66(10):4917-4923.
- Burling K, Seguin MA, Marsh P, Brinkman K, Madigan J, Thurmond M, Moon-Massat P, Mannis M, Murphy CJ. Effect of topical administration of epidermal growth factor on healing of corneal epithelial defects in horses. *Am J Vet Res.* 2000; 61(9):1150-1155.
- Caballero ME, Calunga J, Barber E, Cruz E, López-Saura P, Boix E, Berlanga J. Epidermal growth factor-mediated prevention of renal ischemia/reperfusion injury. *Biotechnol Appl.* 2000; 17:161-165.
- Carpenter G, Cohen S. Human epidermal growth factor and the proliferation of human fibroblasts. *J Cell Physiol.* 1976; 88(2):227-237.
- Carpenter G. Receptors for epidermal growth factor and other polypeptide mitogens. *Annu Rev Biochem.* 1987; 56:881-914.

- Carpenter G, Cohen S.** Epidermal Growth Factor. *Ann Rev Biochem.* 1979; 68:194-216.
- Chabot JG, St-Arnaud R, Walker P, Pelletier G.** Distribution of epidermal growth factor receptors in the rat ovary. *Mol Cell Endocrinol.* 1986a; 44(2):99-108.
- Chabot JG, Walker P, Pelletier G.** Distribution of epidermal growth factor binding sites in the adult rat anterior pituitary gland. *Peptides.* 1986b; 7(1):45-50.
- Chandra A, Lan S, Zhu J, Siclari VA, Qin L.** Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling promotes proliferation and survival in osteoprogenitors by increasing early growth response 2 (EGR2) expression. *J Biol Chem.* 2013; 288(28):20488-20498.
- Chegini N, Rao CV, Wakim N, Sanfilippo J.** Binding of 125I-epidermal growth factor in human uterus. *Cell Tissue Res.* 1986; 246(3):543-548.
- Childs GV, Patterson J, Unabia G, Rougeau D, Wu P.** Epidermal growth factor enhances ACTH secretion and expression of POMC mRNA by corticotropes in mixed and enriched cultures. *Mol Cell Neurosci.* 1991; 2(3):235-243.
- Childs GV, Rougeau D, Unabia G.** Corticotropin-releasing hormone and epidermal growth factor: mitogens for anterior pituitary corticotropes. *Endocrinology.* 1995; 136(4):1595-1602.
- Childs GV, Unabia G.** Epidermal growth factor and gonadotropin-releasing hormone stimulate proliferation of enriched population of gonadotropes. *Endocrinology.* 2001; 142(2):847-853.
- Cohen S.** Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem.* 1962; 237:1555-1562.
- Coimbra TM, Cieslinski DA, Humes HD.** Epidermal growth factor accelerates renal repair in mercuric chloride nephrotoxicity. *Am J Physiol.* 1990; 259(3 Pt 2):F438-443.
- Collier RJ, McGrath MF, Byatt JC, Zurfluh LL.** Regulation of bovine mammary gland growth by peptide hormones: involvement of receptors, growth factors and binding proteins. *Livest Prod Sci.* 1993; 35:21-33.
- Corps AN, Brigstock DR, Littlewood CJ, Brown KD.** Receptors for epidermal growth factor and insulin-like growth factor-I on preimplantation trophoderm of the pig. *Development.* 1990; 110(1):221-227.
- Cribbs RK, Luquette MH, Besner GE.** Acceleration of partial-thickness burn wound healing with topical application of heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF). *J Burn Care Rehabil.* 1998; 2:95-101.
- Dadi TD, Li MW, Lloyd KC.** EGF and TGF- $\alpha$  supplementation enhances development of cloned mouse embryos. *Cloning Stem Cells.* 2007; 9(3):315-326.
- Danto SI, Borok Z, Zhang XL, Lopez MZ, Patel P, Crandall ED, Lubman RL.** Mechanisms of EGF-induced stimulation of sodium reabsorption by alveolar epithelial cells. *Am J Physiol.* 1998; 275(1):82-92.
- Del Angel-Mosqueda C, Gutiérrez-Puente Y, López-Lozano AP, Romero-Zavaleta RE, Mendiola-Jiménez A, Medina-De la Garza CE, Márquez-M M, De la Garza-Ramos MA.** Epidermal growth factor enhances osteogenic differentiation of dental pulp stem cells *in vitro*. *Head Face Med.* 2015; 11:29.
- Dvorak B.** Milk epidermal growth factor and gut protection. *J Pediatr.* 2010; 156:31-35.
- Duh G, Mouri N, Warburton D, Thomas DW.** EGF regulates early embryonic mouse gut development in chemically defined organ culture. *Pediatr Res.* 2000; 48(6):794-802.
- Earp HS, Dawson TL, Li X, Yu H.** Heterodimerization and functional interaction between EGF receptor family members: a new signaling paradigm with implications for breast cancer research. *Breast Cancer Res Treat.* 1995; 35(1):115-132.
- Ertugrul BM, Buke C, Ersoy OS, Ay B, Demirez DS, Savk O.** Intralesional epidermal growth factor for diabetic foot wounds: the first cases in Turkey. *Diabet Foot Ankle.* 2015; 6:28419.
- Fallon JH, Seroogy KB, Loughlin SE, Morrison RS, Bradshaw RA, Knaver DJ, Cunningham DD.** Epidermal growth factor immunoreactive material in the central nervous system: location and development. *Science.* 1984; 224(4653):1107-1109.
- Fernández-Montequín JI, Valenzuela-Silva CM, Díaz OG, Savigne W, Sancho-Soutelo N, Rivero-Fernández F, Sánchez-Penton P, Morejón-Vega L, Artaza-Sanz H, García-Herrera A, González-Benavides C, Hernández-Cañete CM, Vázquez-Proenza A, Berlanga-Acosta J, López-Saura PA; Cuban Diabetic Foot Study Group.** Intra-lesional injections of recombinant human epidermal growth factor promote granulation and healing in advanced diabetic foot ulcers: multicenter,

- randomised, placebo-controlled, double-blind study. *Int Wound J.* 2009; 6:432-443.
- Ferrari G, Toffano G, Skaper SD.** Epidermal growth factor exerts neuronotrophic effects on dopaminergic and GABAergic CNS neurons: comparison with basic fibroblast growth factor. *J Neurosci Res.* 1991; 30:493-497.
- Fischer B, Rose-Hellekant TA, Sheffield LG, Bertics PJ, Bavister BD.** Binding of epidermal growth factor and transforming growth factor- $\alpha$  in mammalian preimplantation embryos. *Theriogenology.* 1994; 41:879-887.
- Foltzer-Jourdainne C, Garaud JC, Nsi-Emvo E, Raul F.** Epidermal growth factor and the maturation of intestinal sucrase in suckling rats. *Am J Physiol.* 1993; 265:459-466.
- Futamura T, Toyooka K, Iritani S, Niizato K, Nakamura R, Tsuchiya K, Someya T, Kakita A, Takahashi H, Nawa H.** Abnormal expression of epidermal growth factor and its receptor in the forebrain and serum of schizophrenic patients. *Mol Psychiatry.* 2002; 7(7):673-682.
- Gharib-Hamrouche N, Chêne N, Guillomot M, Martal J.** Localization and characterization of EGF/TGF- $\alpha$  receptors on pre-implantation trophoblast in sheep. *J Reprod Fertil.* 1993; 98(2):385-392.
- Gómez-Pinilla F, Knauer DJ, Nieto-Sampedro M.** Epidermal growth factor receptor immunoreactivity in rat brain. Development and cellular localization. *Brain Res.* 1988; 438(1-2):385-390.
- Good M, Sodhi CP, Egan CE, Afrazi A, Jia H, Yamaguchi Y, Lu P, Branca MF, Ma C, Prindle T Jr, Mielo S, Pompa A, Hodzic Z, Ozolek JA, Hackam DJ.** Breast milk protects against the development of necrotizing enterocolitis through inhibition of Toll-like receptor 4 in the intestinal epithelium via activation of the epidermal growth factor receptor. *Mucosal Immunol.* 2015; 5:1166-1179.
- Gospodarowicz D, Greenburg G.** The effects of epidermal and fibroblast growth factors on the repair of corneal endothelial wounds in bovine corneas maintained in organ culture. *Exp Eye Res.* 1979; 28(2):147-157.
- Göritz F, Jewgenow K, Meyer HH.** Epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in the ovary of the domestic cat (*Felis catus*). *J Reprod Fertil.* 1996; 106(1):117-124.
- Grazul-Bilska AT, Choi JT, Bilski JJ, Weigl RM, Kirsch JD, Kraft KC, Reynolds LP, Redmer DA.** Effects of epidermal growth factor on early embryonic development after in vitro fertilization of oocytes collected from ewes treated with follicle stimulating hormone. *Theriogenology.* 2003; 59(5-6):1449-1457.
- Gritti A, Frölichsthal-Schoeller P, Galli R, Parati EA, Cova L, Pagano SF, Bjornson CR, Vescovi AL.** Epidermal and fibroblast growth factors behave as mitogenic regulators for a single multipotent stem cell-like population from the subventricular region of the adult mouse forebrain. *J Neurosci.* 1999; 19(9):3287-3297.
- Hofmann GE, Anderson TL.** Immunohistochemical localization of epidermal growth factor receptor during implantation in the rabbit. *Am J Obstet Gynecol.* 1990; 162(3):837-841.
- Hong JP, Jung HD, Kim YW.** Recombinant human epidermal growth factor (EGF) to enhance healing for diabetic foot ulcers. *Ann Plast Surg.* 2006;56(4):394-398.
- Humes HD, Cieslinski DA, Coimbra TM, Messana JM, Glavao C.** Epidermal growth factor enhances renal tubule cell regeneration and repair and accelerates the recovery of renal failure. *J Clin Invest* 1989; 84:1757-1761.
- Hussein Ael-A, Shokeir AA, Sarhan ME, El-Menabawy FR, Abd-Elmoneim HA, El-Nashar EM, Barakat NM.** Effects of combined erythropoietin and epidermal growth factor on renal ischaemia/reperfusion injury: a randomized experimental controlled study. *BJU Int.* 2011; 107(2):323-328.
- Ikeda H, Mitsushashi T, Kubota K, Kuzuya N, Uchimura H.** Epidermal growth factor stimulates growth hormone secretion from superfused rat adenohypophyseal fragments. *Endocrinology.* 1984; 115(2):556-558.
- Ishiyama J, Saito H, Abe K.** Epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor promote the generation of long-term potentiation in the dentate gyrus of anaesthetized rats. *Neurosci Res.* 1991; 12(3):403-411.
- Jansson T, Skarland H.** Maternally administered epidermal growth factor stimulates fetal growth in the rat. *Acta Physiol Scand* 1990; 138:245-246.
- Jeffrey SC, Murray MJ, Eichorn ES.** Distribution of epidermal growth factor receptor (EGFr) in normal and acute peptic-injured equine gastric squamous epithelium. *Equine Vet J.* 2001; 33(6):562-569.
- Jeong W, Jung S, Bazer FW, Song G, Kim J.** Epidermal growth factor: Porcine uterine

- luminal epithelial cell migratory signal during the peri-implantation period of pregnancy. *Mol Cell Endocrinol.* 2016; 420:66-74.
- Jeong W, Kim J, Bazer FW, Song G.** Epidermal growth factor stimulates proliferation and migration of porcine trophectoderm cells through protooncogenic protein kinase 1 and extracellular-signal-regulated kinases 1/2 mitogen-activated protein kinase signal transduction cascades during early pregnancy. *Mol Cell Endocrinol.* 2013; 381(1-2):302-11.
- Johnson LK, Baxter JD, Vlodavsky I, Gospodarowicz D.** Epidermal growth factor and expression of specific genes: effects on cultured rat pituitary cells are dissociable from the mitogenic response. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980; 77(1):394-398.
- Johnstone ED, Mackova M, Das S, Payne SG, Lowen B, Sibley CP, Chan G, Guilbert LJ.** Multiple anti-apoptotic pathways stimulated by EGF in cytotrophoblasts. *Placenta.* 2005; 26(7):548-555.
- Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, Garrett TP, Ward CW, Burgess AW.** Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. *Exp Cell Res.* 2003; 284(1):31-53.
- Jost M, Kari C, Rodeck U.** The EGF receptor - an essential regulator of multiple epidermal functions. *Eur J Dermatol.* 2000; 10(7):505-510.
- Kajikawa K, Yasui W, Sumiyoshi H, Yoshida K, Nakayama H, Ayhan A, Yokozaki H, Ito H, Tahara E.** Expression of epidermal growth factor in human tissues. Immunohistochemical and biochemical analysis. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1991; 418(1):27-32.
- Kelly EJ, Newell SJ, Brownlee KG, Farmery SM, Cullinane C, Reid WA, Jackson P, Gray SF, Primrose JN, Lagopoulos M.** Role of epidermal growth factor and transforming growth factor alpha in the developing stomach. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1997; 76(3):158-162.
- Kennedy WA 2nd, Buttyan R, Garcia-Montes E, D'Agati V, Olsson CA, Sawczuk IS.** Epidermal growth factor suppresses renal tubular apoptosis following ureteral obstruction. *Urology.* 1997; 49(6):973-980.
- Khurana S, Nath SK, Levine SA, Bowser JM, Tse CM, Cohen ME, Donowitz M.** Brush border phosphatidylinositol 3-kinase mediates epidermal growth factor stimulation of intestinal NaCl absorption and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange. *J Biol Chem.* 1996; 271(17):9919-9927.
- Kim D, Kim SY, Mun SK, Rhee S, Kim BJ.** Epidermal growth factor improves the migration and contractility of aged fibroblasts cultured on 3D collagen matrices. *Int J Mol Med.* 2015; 35(4):1017-1025.
- Kim YJ, Lee GS, Hyun SH, Ka HH, Choi KC, Lee CK, Jeung EB.** Uterine expression of epidermal growth factor family during the course of pregnancy in pigs. *Reprod Domest Anim.* 2009; 44(5):797-804.
- Kingsnorth AN, Vowles R, Nash JR.** Epidermal growth factor increases tensile strength in intestinal wounds in pigs. *Br J Surg.* 1990; 77(4):409-412.
- Konturek SJ, Dembinski A, Warzecha Z, Brzozowski T, Gregory H.** Role of epidermal growth factor in healing of chronic gastroduodenal ulcers in rats. *Gastroenterology.* 1988; 94(6):1300-1307.
- Konturek JW, Brzozowski T, Konturek SJ.** Epidermal growth factor in protection, repair, and healing of gastroduodenal mucosa. *J Clin Gastroenterol.* 1991; 13 Suppl 1:S88-97.
- Kornblum HI, Hussain R, Wiesen J, Miettinen P, Zurcher SD, Chow K, Derynck R, Werb Z.** Abnormal astrocyte development and neuronal death in mice lacking the epidermal growth factor receptor. *J Neurosci Res.* 1998; 53(6):697-717.
- Kushikata T, Fang J, Chen Z, Wang Y, Krueger JM.** Epidermal growth factor enhances spontaneous sleep in rabbits. *Am J Physiol.* 1998; 275(2 Pt 2):R509-514.
- Lazar LM, Blum M.** Regional distribution and developmental expression of epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha mRNA in mouse brain by a quantitative nuclease protection assay. *Brain Res Dev Brain Res.* 1991 ;60(2):145-154.
- Lee H, Hansson HA, Norström E, Helander HF.** Immunoreactivities for epidermal growth factor (EGF) and for EGF receptors in rats with gastric ulcers. *Cell Tissue Res.* 1991; 265(2):211-218.
- Lemmon MA, Schlessinger J.** Regulation of signal transduction and signal diversity by receptor oligomerization. *Trends Biochem Sci.* 1994; 19(11):459-463.
- Lennard SN, Gerstenberg C, Allen WR, Stewart F.** Expression of epidermal growth factor and its receptor in equine placental tissues. *J Reprod Fertil.* 1998; 112(1):49-57.
- Lonergan P, Carolan C, Van Langendonck A, Donnay I, Khatir H, Mermillod P.** Role

- of epidermal growth factor in bovine oocyte maturation and preimplantation embryo development *in vitro*. *Biol Reprod*. 1996; 54(6):1420-1429.
- Luck MS, Bass P.** Effect of epidermal growth factor on experimental colitis in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*. 1993; 264(2):984-990.
- Malcherek P, Schultz G, Wingren U, Franzén L.** Formation of healing tissue and angiogenesis in repair of connective tissue stimulated by epidermal growth factor. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 1994; 28(1):1-7.
- Marti U, Burwen SJ, Jones AL.** Biological effects of epidermal growth factor, with emphasis on the gastrointestinal tract and liver: an update. *Hepatology*. 1989; 9(1):126-138.
- Maruo T, Ladines-Llave CA, Samoto T, Matsuo H, Manalo AS, Ito H, Mochizuki M.** Expression of epidermal growth factor and its receptor in the human ovary during follicular growth and regression. *Endocrinology*. 1993; 132(2):924-931.
- Massagué J, Pandiella A.** Membrane-anchored growth factors. *Annu Rev Biochem*. 1993; 62:515-541.
- Miettinen PJ, Berger JE, Meneses J, Phung Y, Pedersen RA, Werb Z, Derynck R.** Epithelial immaturity and multiorgan failure in mice lacking epidermal growth factor receptor. *Nature*. 1995; 376(6538):337-341.
- Morin NJ, Laurent G, Nonclercq D, Toubeau G, Heuson-Stiennon JA, Bergeron MG, Beauchamp D.** Epidermal growth factor accelerates renal tissue repair in a model of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am J Physiol*. 1992; 263(5 Pt 2):F806-811.
- Morrison RS, Kornblum HI, Leslie FM, Bradshaw RA.** Trophic stimulation of cultured neurons from neonatal rat brain by epidermal growth factor. *Science*. 1987; 238(4823):72-75.
- Murdoch GH, Potter E, Nicolaisen AK, Evans RM, Rosenfeld MG.** Epidermal growth factor rapidly stimulates prolactin gene transcription. *Nature*. 1982; 300(5888):192-194.
- Nielsen LL, Werb Z, Pedersen RA.** Induction of c-fos transcripts in early postimplantation mouse embryos by TGF- $\alpha$ , EGF, PDGF, and FGF. *Mol Reprod Dev*. 1991; 29(3):227-237.
- Nieto-Sampedro M, Gómez-Pinilla F, Knauer DJ, Broderick JT.** Epidermal growth factor receptor immunoreactivity in rat brain astrocytes. Response to injury. *Neurosci Lett*. 1988; 91(3):276-282.
- Ninomiya M, Yamashita T, Araki N, Okano H, Sawamoto K.** Enhanced neurogenesis in the ischemic striatum following EGF-induced expansion of transit-amplifying cells in the subventricular zone. *Neurosci Lett*. 2006; 403(1-2):63-67.
- Norman J, Tsau YK, Bacay A, Fine LG.** Epidermal growth factor accelerates functional recovery from ischaemic acute tubular necrosis in the rat: role of the epidermal growth factor receptor. *Clin Sci (Lond)*. 1990; 78(5):445-450.
- Ogiso H, Ishitani R, Nureki O, Fukai S, Yamanaka M, Kim JH, Saito K, Sakamoto A, Inoue M, Shirouzu M, Yokoyama S.** Crystal structure of the complex of human epidermal growth factor and receptor extracellular domains. *Cell*. 2002; 110(6):775-787.
- Okita K, Karita M, Nakanishi N, Takemoto T.** Role of epidermal growth factor in protection and repair of gastric mucosal injury. *J Clin Gastroenterol*. 1991; 13 Suppl 1:S103-108.
- Okuyama H, Urao M, Lee D, Drongowski RA, Coran AG.** The effect of epidermal growth factor on bacterial translocation in newborn rabbits. *J Pediatr Surg*. 1998; 33:225-228.
- Oomizu S, Honda J, Takeuchi S, Kakeya T, Masui T, Takahashi S.** Transforming growth factor- $\alpha$  stimulates proliferation of mammotrophs and corticotrophs in the mouse pituitary. *J Endocrinol*. 2000; 165(2):493-501.
- Pan Y, Cui Y, Yu S, Zhang Q, Fan J, Abdul Rasheed B, Yang K.** The expression of epidermal growth factor (EGF) and its receptor (EGFR) during post-natal testes development in the yak. *Reprod Domest Anim*. 2014; 49(6):970-976.
- Park GH, Rhee do Y, Moon HR, Won CH, Lee MW, Choi JH, Moon KC, Chang SE.** Effect of an epidermal growth factor-containing cream on postinflammatory hyperpigmentation after Q-switched 532-nm neodymium-doped yttrium aluminum garnet laser treatment. *Dermatol Surg*. 2015; 41(1):131-135.
- Playford RJ, Hanby AM, Gschmeissner S, Peiffer LP, Wright NA, McGarrity T.** The epidermal growth factor receptor (EGF-R) is present on the basolateral, but not the apical, surface of enterocytes in the human gastrointestinal tract. *Gut* 1996; 39(2):262-266.
- Pollack PF, Goda T, Colony PC, Edmond J, Thornburg W, Korc M, Koldovský O.** Effects of enterally fed epidermal growth

- factor on the small and large intestine of the suckling rat. *Regul Pept.* 1987; 17:121-132.
- Prigent SA, Lemoine NR.** The type 1 (EGFR-related) family of growth factor receptors and their ligands. *Prog Growth Factor Res.* 1992; 4(1):1-24.
- Procaccino F, Reinshagen M, Hoffmann P, Zeeh JM, Lakshmanan J, McRoberts JA, Patel A, French S, Eysselein VE.** Protective effect of epidermal growth factor in an experimental model of colitis in rats. *Gastroenterology.* 1994; 107(1):12-17.
- Raphael B, Kerr NC, Shimizu RW, Lass JH, Crouthamel KC, Glaser SR, Stern GA, McLaughlin BJ, Musch DC, Duzman E.** Enhanced healing of cat corneal endothelial wounds by epidermal growth factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1993; 34(7):2305-2312.
- Rich LF, Hatfield JM, Louiselle I.** The influence of epidermal growth factor on cat corneal endothelial wound healing. *Curr Eye Res.* 1991; 10(9):823-830.
- Rodriguez Salgueiro S, González Núñez L, García Del Barco Herrera D, Santos Febles E, Maza Ares D, Millares López R, Berlanga Acosta J.** Role of epidermal growth factor and growth hormone-releasing peptide-6 in acceleration of renal tissue repair after kanamycin overdosing in rats. *Iran J Kidney Dis.* 2014; 8(5):382-388.
- Safari M, Ghahari L, Zoroufchi MD.** Effects of epidermal growth factor, platelet derived growth factor and growth hormone on cultured rat keratinocytes cells *in vitro*. *Pak J Biol Sci.* 2014; 7:931-936.
- Savage CR Jr, Hash JH, Cohen S.** Epidermal growth factor. Location of disulfide bonds. *J Biol Chem.* 1973; 248(22):7669-7672.
- Scafidi J, Hammond TR, Scafidi S, Ritter J, Jablonska B, Roncal M, Szigeti-Buck K, Coman D, Huang Y, McCarter RJ Jr, Hyder F, Horvath TL, Gallo V.** Intranasal epidermal growth factor treatment rescues neonatal brain injury. *Nature.* 2014; 506(7487):230-234.
- Schaudies RP, Christian EL, Savage CR Jr.** Epidermal growth factor immunoreactive material in the rat brain. Localization and identification of multiple species. *J Biol Chem.* 1989; 264(18):10447-10450.
- Schneider MR, Wolf E.** The epidermal growth factor receptor ligands at a glance. *J Cell Physiol.* 2009; 218(3):460-466.
- Schonbrunn A, Krasnoff M, Westendorf JM, Tashjian AH Jr.** Epidermal growth factor and thyrotropin-releasing hormone act similarly on a clonal pituitary cell strain. Modulation of hormone production and inhibition of cell proliferation. *J Cell Biol.* 1980; 85(3):786-97.
- Sheffield LG.** Mastitis increases growth factor messenger ribonucleic acid in bovine mammary glands. *J Dairy Sci.* 1997; 80(9):2020-2024.
- Sibilia M, Wagner EF.** Strain-dependent epithelial defects in mice lacking the EGF receptor. *Science.* 1995; 269(5221):234-238.
- Sibilia M, Steinbach JP, Stingl L, Aguzzi A, Wagner EF.** A strain-independent postnatal neurodegeneration in mice lacking the EGF receptor. *EMBO J.* 1998; 17(3):719-731.
- Sibilia M, Wagner B, Hoebertz A, Elliott C, Marino S, Jochum W, Wagner EF.** Mice humanised for the EGF receptor display hypomorphic phenotypes in skin, bone and heart. *Development.* 2003; 130(19):4515-4525.
- Singh B, Rutledge JM, Armstrong DT.** Epidermal growth factor and its receptor gene expression and peptide localization in porcine ovarian follicles. *Mol Reprod Dev.* 1995; 40(4):391-399.
- Smith K, LeJeune S, Harris AH, Rees MC.** Epidermal growth factor receptor in human uterine tissues. *Hum Reprod.* 1991; 6(5):619-622.
- Stewart F, Power CA, Lennard SN, Allen WR, Amet L, Edwards RM.** Identification of the horse epidermal growth factor (EGF) coding sequence and its use in monitoring EGF gene expression in the endometrium of the pregnant mare. *J Mol Endocrinol.* 1994; 12(3):341-350.
- Su Z, Ma H, Wu Z, Zeng H, Li Z, Wang Y, Liu G, Xu B, Lin Y, Zhang P, Wei X.** Enhancement of skin wound healing with decellularized scaffolds loaded with hyaluronic acid and epidermal growth factor. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2014; 44:440-448.
- Sun D, Bullock MR, Altememi N, Zhou Z, Hagood S, Rolfe A, McGinn MJ, Hamm R, Colello RJ.** The effect of epidermal growth factor in the injured brain after trauma in rats. *J Neurotrauma.* 2010; 27(5):923-938.
- Tarnawski A, Stachura J, Durbin T, Sarfeh IJ, Gergely H.** Increased expression of epidermal growth factor receptor during gastric ulcer healing in rats. *Gastroenterology.* 1992; 102(2):695-698.
- Tarnawski AS, Jones MK.** The role of epidermal growth factor (EGF) and its receptor in mucosal protection, adaptation to injury,



- and ulcer healing: involvement of EGF-R signal transduction pathways. *J Clin Gastroenterol.* 1998; 27 Suppl 1:S12-20.
- Teramoto T, Qiu J, Plumier JC, Moskowitz MA.** EGF amplifies the replacement of parvalbumin-expressing striatal interneurons after ischemia. *J Clin Invest.* 2003; 111(8):1125-1132.
- Thompson JF.** Specific receptors for epidermal growth factor in rat intestinal microvillus membranes. *Am J Physiol.* 1988; 254(3):429-435.
- Tsang MW, Wong WK, Hung CS, Lai KM, Tang W, Cheung EY, Kam G, Leung L, Chan CW, Chu CM, Lam EK.** Human epidermal growth factor enhances healing of diabetic foot ulcers. *Diabetes Care.* 2003; 26(6):1856-1861.
- Tuyet HL, Nguyen Quynh TT, Vo Hoang Minh H, Thi Bich DN, Do Dinh T, Le Tan D, Van HL, Le Huy T, Doan Huu H, Tran Trong TN.** The efficacy and safety of epidermal growth factor in treatment of diabetic foot ulcers: the preliminary results. *Int Wound J.* 2009; 6(2):159-166.
- Usuki Y, Katakami C, Yamamoto M.** The effect of Epidermal Growth Factor on Keratocytes During Healing of Corneal Penetrating Incision. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 1995; 99(11):1209-1213.
- Vehaskari VM, Herndon J, Hamm LL.** Mechanism of sodium transport inhibition by epidermal growth factor in cortical collecting ducts. *Am J Physiol.* 1991; 261(5):896-903.
- Wandji SA, Pelletier G, Sirard MA.** Ontogeny and cellular localization of 2 <sup>125</sup>I-labeled basic fibroblast growth factor and <sup>125</sup>I-labeled epidermal growth factor binding sites in ovaries from bovine fetuses and neonatal calves. *Biol Reprod.* 1992; 47:807-813.
- Wang Y, Pennock S, Chen X, Wang Z.** Endosomal signaling of epidermal growth factor receptor stimulates signal transduction pathways leading to cell survival. *Mol Cell Biol.* 2002; 22(20):7279-7290.
- Warner BW, Warner BB.** Role of epidermal growth factor in the pathogenesis of neonatal necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg.* 2005; 3:175-180.
- Wei Z, Park KW, Day BN, Prather RS.** Effect of epidermal growth factor on preimplantation development and its receptor expression in porcine embryos. *Mol Reprod Dev.* 2001; 60(4):457-462.
- Weiss FU, Daub H, Ullrich A.** Novel mechanisms of RTK signal generation. *Curr Opin Genet Dev.* 1997; 7(1):80-86.
- Wiedermann CJ, Jelesof NJ, Pert CB, Hill JM, Braunsteiner H.** Neuromodulation by polypeptide growth factors: preliminary results on the distribution of epidermal growth factor receptors in adult brain. *Wien Klin Wochenschr.* 1988; 100(23):760-763.
- Wilson SE, He YG, Weng J, Zieske JD, Jester JV, Schultz GS.** Effect of epidermal growth factor, hepatocyte growth factor, and keratinocyte growth factor, on proliferation, motility and differentiation of human corneal epithelial cells. *Exp Eye Res.* 1994; 59(6):665-678.
- Wu Z, Tang Y, Fang H, Su Z, Xu B, Lin Y, Zhang P, Wei X.** Decellularized scaffolds containing hyaluronic acid and EGF for promoting the recovery of skin wounds. *J Mater Sci Mater Med.* 2015; 1:5322.
- Yamada M, Ikeuchi T, Hatanaka H.** The neurotrophic action and signalling of epidermal growth factor. *Prog Neurobiol.* 1997; 51(1):19-37.
- Yera-Alos IB, Alonso-Carbonell L, Valenzuela-Silva CM, Tuero-Iglesias AD, Moreira-Martínez M, Marrero-Rodríguez I, López-Mola E, López-Saura PA.** Active post-marketing surveillance of the intralesional administration of human recombinant epidermal growth factor in diabetic foot ulcers. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2013; 3:14-44.
- Zeineldin R, Hudson LG.** Epithelial cell migration in response to epidermal growth factor. *Methods Mol Biol.* 2006; 327:147-158.
- Zheng B, Ye L, Zhou Y, Zhu S, Wang Q, Shi H, Chen D, Wei X, Wang Z, Li X, Xiao J, Xu H, Zhang H.** Epidermal growth factor attenuates blood-spinal cord barrier disruption via PI3K/Akt/Rac1 pathway after acute spinal cord injury. *J Cell Mol Med.* 2016 Jan 15. doi: 10.1111/jcmm.12761.
- Zijlstra RT, Odle J, Hall WF, Petschow BW, Gelberg HB, Litov RE.** Effect of orally administered epidermal growth factor on intestinal recovery of neonatal pigs infected with rotavirus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1994; 19(4):382-90.

## Sepiyolitin Buzağı İshallerindeki Terapotik Etkinliği

Bülent ELİTOK<sup>1</sup>, Özgül Mukaddes ELİTOK<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar/TÜRKİYE

<sup>2</sup>Kırsal Kalkınma Afyonkarahisar İl Koordinatörlüğü, Afyonkarahisar/TÜRKİYE

Corresponding author e-mail: elitok1969@hotmail.com

### ÖZ

Sepiyolit filossilikat grubuna ait bir kil mineralidir. Pek çok çalışma sepiyolitin hayvanlarda ishalin insidensi, şiddeti ve süresini azalttığını bildirmektedir. Bu azalmanın muhtemle sebebinin sepiyolit alan buzağuların ince bağırsaklarında bulunan *Clostridia* and *E. coli* gibi bakterilerin sayısındaki azalmadır. Ayrıca pek çok çalışma sepiyolitin mikotoksinlerin etkilerinin azalmasına da yardım ettiğini bildirmektedir. Bu derlemenin amacı sepiyolitin ishal ve hayvan verimi üzerine potansiyel iyileştirici etkilerini son zamanlardaki çalışmalar dikkate alınarak tartışılmasıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Buzağı, İshal, Oral Yol, Sepiyolit, Tedavi

## Therapeutic Efficacy of Sepiolite on Calf with Diarrhea

### ABSTRACT

Sepiolite is a clay mineral which belongs to the group of phyllosilicates. Several studies have indicated that feeding sepiolite reduces the incidence, severity and duration of diarrhea in animals. The mechanism for the reduction in diarrhea is likely due to decreases in *Clostridia* and *E. coli* in the small intestine of animals fed sepiolite. In addition, several studies have indicated that sepiolite can help mitigate the effects of mycotoxins. The aim of the present review is to focus on sepiolite which has been given attention in recent research and to discuss its potential to improve animal performance.

**Key Words:** Calves, Diarrhea, Per Os, Sepiolite, Treatment

To cite this article: **Elitok B, Elitok ÖM.** Sepiyolitin Buzağı İshallerindeki Terapotik Etkinliği. *Kocatepe Vet J.* 2016; 9(3):226-229.

## GİRİŞ

Süt işletmelerinde ve buzağı yetiştiriciliğinde en önemli sorunların başında gelen buzağı ishalleri; gelişme geriliği, ölümler ve tedavi masrafları nedeniyle ülkemizde ve dünyada önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Blood ve ark., 1991; Blowey, 1993; Foster ve Smith, 2009). Buzağılarda ishalin etiyojisine bakıldığında; *E. coli*, *Salmonella* spp., *Cl. perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Chlamydia* spp. gibi bakteriyel, Rotavirus, Coronavirus, Adenovirus, Parvovirus, Astrovirus, Calicivirus, bovin viral diyare gibi viral, *Coccidia*, *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Neoascaris vitulorum* gibi paraziter etkenler, bakım ve beslenme bozuklukları ve enzim noksanlıklarının rol oynadığı bildirilmiştir (Foster ve Smith, 2009; Blood ve ark., 1991; Song ve ark., 2012; Vondruskova ve ark., 2010; Blanchard, 2012).

Avrupa Birliğinde 2006 yılından bu yana yemlere antibiyotik ilavesi yasaklanması ile birlikte, bu olgunun kısa süre içerisinde pek çok ülkede yaygınlaşacağı öngörülmektedir. Bu durum bilim adamlarının patojen etkenlere karşı etkili, antibiyotiklere alternatif, sağlık ve verimi artırıcı yeni ürünler ve yemleme metodlarına odaklanmalarına yol açmıştır (Subramaniam ve Kim, 2015; Thacker, 2013; Vondruskova ve ark., 2010). Bu amaçla üzerinde en fazla durulan ürün sınıfı atıl durumdaki kil mineralleridir (Song ve ark., 2012; Trckova ve ark., 2009).

İspanya'da çıkarılan toplam sepiyolitinin %85'inin absorban amacıyla, %7.5'unun hayvan yemlerine katıldığı ve %4'ünün de pestisitlerin taşınmasında kullanıldığı (Clarke, 1985), Türkiye ise 3 karbon içeriğine sahip değerli ve zengin sepiyolit kaynaklarına rağmen, veteriner sahada sadece petlerde veya tavuk çiftliklerinde altlık olarak değerlendirildiği bildirilmiştir (Russel, 1991). Oysa sepiyolitinin yemlere ilave edilerek oral yolla uzun bir süre (37 hafta) kullanıldığı hayvanlarda bile herhangi bir yan etki oluşturmadan verim ve canlı ağırlık kazanımını önemli derecede arttırdığını bildiren çok sayıda bilimsel çalışmalar mevcuttur (Tortuero, 1982). Bir başka çalışmada broyler karma yemlerinde %1 düzeyinde sepiyolit bulunması canlı ağırlık kazancını artırmış, relatif abdominal yağ ağırlığı ile serum kolesterol ve trigliserit düzeylerini azalttığı bildirilmektedir (Sardi ve ark., 2004; Tortuero ve Rioperez, 1993). Yeme ilave edilen kil minerallerinin ishalin insidensi, şiddeti ve süresini azaltıcı etkilerini bildiren çok sayıda çalışma mevcuttur (Papaioannou ve ark., 2004; Song ve ark., 2012; Subramaniam, 2015; Trckova ve ark., 2009; Xia ve ark., 2005). Nitekim domuzlarda yapılan bir çalışmada yemlerine ilave edilen sepiyolitinin canlı ağırlık verim artışına yol açmasının yanı sıra, ishal olgularını %50 oranında

azalttığı bildirilmiştir (Sardi ve ark., 2004). Yemlerine 10 µg/kg düzeyinde aflatoksin karıştırılan ve aynı zamanda sepiyolit almaları sağlanan piliçlerde yapılan muayeneler sonucunda toksikozis bulgularının oluşmadığı, aflatoksin bağlama kapasitesinin tıbbi karbona göre  $\geq \% 99 \pm 1$  daha fazla olduğu ve sepiyolit ilavelerinin zootekni parametrelerinde önemli artışlar sağladığı bildirilmiştir (EFSA, 2013). Neonatal buzağı ishallerinde sıvı ile birlikte elektrolit kayıpları da hayati önem arz etmektedir. Nitekim sepiyolit 15 meq/100 g düzeyinde yüksek katyon değişim kapasitesine sahip bir maddedir (EFSA, 2013). Yapısındaki yoğun hidrofilisid silanol (-SiOH) grupları nedeniyle 1 mg'ı 540 m<sup>3</sup> absorpsiyon yapabilecek kapasitededir (EFSA, 2013). Sepiyolit yüzey yapısı ve içerdiği bileşiklerden kaynaklanan yüksek absorban kapasitesi sayesinde bakteri ve toksinleri bağlama, metal hidroksil grupları sayesinde bağırsaklarda suyu tutma, içerdiği magnezyum ve aliminyum gibi alkali mineraller sayesinde mukoza koruyucu etkiler oluşturabilmektedir (Delavarian ve ark., 2013; Nezamzadeh-Ejehieh and Kabiri-Samani., 2013; Barrera ve ark., 2005). Ayrıca, mukustaki glikoproteinlerin yıkılmasını önleyerek ve pepsin etkisini azaltarak mukus vizkozitesini artırdığı bilinmektedir (Phillips ve ark., 1988; Lindemann ve ark., 1993; Schell ve ark., 1993; Ramos ve ark., 1996). Ayrıca sepiyolitinin H<sup>+</sup> iyonlarının absorpsiyonunu sağlayarak, mide asiditesini düşürüp gastrik ülser olgularını önlemede etkilerinin de söz konusu olabileceği ortaya konulmuştur (Sardi ve ark., 2004; Vondruskova ve ark., 2010). Silva ve ark. (2015) da sepiyolitinin sindirim sistemi yangılarını önlediği ve mukozayı koruyarak, bozukluğun giderilmesinde önemli etkileri olduğunu bildirmişlerdir.

Sepiyolitinin pek çok faydasının yanında, antimikrobial ilaçların bu olumsuz etkilerini giderecek ishalin etiyojisinde rol oynayan patojenler üzerine antibakteriyel ve antiprotozoal etkileri olan alternatif bir maddedir (Hrenovic ve ark., 2012). Nitekim, Hrenovic ve ark. (2012) kontamine suda yaptıkları çalışmada sepiyolit gibi metal oksit yeteneği bulunan clinoptilolite'nin 1 saat gibi kısa bir sürede *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* gibi bakteriler üzerine antibakteriyel ve *Paramecium caudatum* ve *Euplotes affinis* gibi protozoonlar üzerine kuvvetli antiprotozoal etki göstererek yok ettiğini bildirmişlerdir. Magana ve ark. (2015), *Entamoeba histolytica* üzerine sepiyolitinin tedavi edici etkinliğini ortaya koymak için yaptıkları çalışmada, sepiyolitinin benzer şekilde protozoa tedavisinde oldukça etkili olduğu ve yan etkiler oluşturmadığı bildirilmişlerdir. Silva ve ark. (2015) ratlarda yaptıkları çalışmada sepiyolitinin antibakteriyel etkilerinin yanı sıra, antienflamatuvar ve ödem giderici etkilerinin de bulunduğunu kanıtlamışlardır. Bu çalışmada sepiyolit

ile ilgili kanserojenik bulgular gözlenmediği ve sepiyolitın ancak çok yüksek oranlarda kullanılması durumunda bu etkileri gösterebileceği bildirilmiştir.

### **Toksisite üzerine yapılan çalışmalar:**

Kil yapısındaki maddelerin toksisite oluşturmada içerdiği bileşikler, partikül uzunluğu ve veriliş yolunun etkili olduğu bildirilmiştir (Sohaebuddin ve ark., 2010; Magdolenova ve ark., 2014). Oral yolla verilen sepiyolitın karsonojenik etkisini bildiren bir çalışma mevcut olmamasına rağmen, diğer yollarla (inhalasyon, intrapleural, subperitoneal) verildiğinde 6 µm'den kısa fibere sahip sepiyolitın kanser oluşturmadığı, ancak 6 µm'den büyük fiber yapısına sahip sepiyolitın intrapleural kullanımı sonucunda az sayıda da olsa kanser vakaları gözlendiği bildirilmiştir. Farelerle yapılan bir çalışmada Çin'den gelen (fibri, 1- 100 µm uzunlukta) sepiyolitın peritoneal mezotelyomlarda artışa yol açarken, Türkiye'den gelen sepiyolitın böyle bir etkisinin olmadığı ve Türkiye menşeli sepiyolitın karsinojenik etkilerinin bulunmadığı bildirilmiştir (IARC, 1997).

*In vitro* genotoksisite çalışmaları ortalama 2 µm uzunluğa sahip fiberlerin rat hepatositlerinde DNA sentezinde bir değişikliğe sebep olmadığı göstermiştir (Denizeau, 1985). Fiberlerinin çoğunun uzunluğunun 1-10 µm olduğu (fakat içinde >20 µm uzun fiberler de bulunan) sepiyolitın hamster akciğer hücrelerinde kromozlarda yapısal değişikliğe yol açmadığı bildirilmiştir (Koshi, 1991). Toksisitesini saptamak amacıyla ratlarda yapılan bir çalışmada 5000 mg / kg yüksek dozda başka killerle karışım halinde 29 gün süreyle verilen sepiyolit karışımı nedeniyle 29. günde öldürülerek incelenen erkek ratlarda glukoz ve ALP düzeylerinin yükseldiği, kolesterol düzeyinin düştüğü, 15. günde kesilen dişi ratlarda uterus/ovaryum ağırlık oranının arttığı, mikroskopik muayenelerinde önemli değişikliklerin gözlenmediği ve sınırlı sayıda literatür sepiyolitın toksijenik veya karsinojenik olduğunu söylemek için yeterli olmadığı, daha çok çalışmanın yapılması gerektiği vurgulanmıştır. Tek başına yemlere 20 000 mg/kg çok yüksek dozda bile sepiyolitın herhangi bir toksik veya karsinojenik etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Sepiyolit ile ilgili kabul gören yaygın görüş 1) oral yolla verilmesi 2) <6 µm fibere sahip olması şeklindedir (EFSA, 2013).

Sonuç olarak %2 yeme ilave edilen sepiyolitın hayvan türlerinde herhangi bir yan etkiye ve diğer gıdalarla etkileşim içine girerek emilimlerine engel olmadığı, yem alımı ve zooteknik parametrelerde (canlı ağırlık, verim gibi) artışa pozitif katkısı olduğu ve bilimsel çalışma eksikliği olan ruminantlarda da aynı dozda yemlere ilavesinin yan etki oluşturmadan önemli zooteknik parametre artışlarına yol açacağı bildirilmiştir (Alvarez, 1984; EFSA, 2013). Bu etkileri

göz önüne alındığında ülkemizin önemli rezervlere sahip olduğu bu eşsiz maddenin hayvan sağlığında etkilerinin ilk defa araştırılıyor olması, büyük verim ve ekonomik kayıplara yol açan buzağı ishallerinde hem tedavi edici hem de proflaktik olarak yemlere ilave imkanlarının araştırılacağı bu çalışma hem bilimsel hem de oldukça önemli sonuçların elde edileceği ilk çalışma olmasının yanında, ilk defa ölümü yapılacak parametreler için referans bir çalışma da olacaktır. Öngörülen etkilerinin kanıtlanması durumunda verim ve ekonomik kayıplara yol açan buzağı ishallerinin tedavi ve proflaksisine yeni bir boyut ve metodoloji kazandırılmış olacaktır.

## **KAYNAKLAR**

- Alvarez A.** Sepiolite. Properties and uses. In: Singer, A. and Galan, E., eds, Palygorskitesepiolite: Occurrences, Genesis and Uses, New York, Elsevier. 1984; pp.253-287.
- Barrera DC, Almaraz-Calder'ón C, Olgu'ın-Guti'errez T, Romero-Romo M.** CD(II) and PB(II) separation from aqueous solution using clinoptilolite and Opuntia ectodermis. Environmental Technology. 2005; 26 (7): 821–829.
- Blanchard PC.** Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. Vet. Clin. N. Am. – Food A. 2012; 28: 443–464.
- Blood DC, Radostits OM.** Veterinary Medicine, 7. Edition, Bailliere Tindall, London, 1989.
- Blowey RW.** A Veterinary Book for Dairy Farmers. 2nd ed. Farming Press Ltd. Great Britain, 15-77, 1993.
- Clarke GM.** Special clays. Ind. Miner. 1985; 9: 25 51.
- Delavarian M, Hassanvand A, Gharibzadeh S.** Increasing performance in children with ADHD by trapping lead with a nano-zeolite. Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences. 2013; 25 (1): 22–23.
- Denizeau F, Marion M, Chevalier G, Cote MG.** Absence of genotoxic effects of nonasbestos mineral fibers. Cell Biol. Toxicol. 1985; 1: 23-32.
- EFSA (European Food Safety Authority).** Scientific Opinion on the safety and efficacy of a preparation of bentonite-and sepiolite (Toxfin® Dry) as feed additive for all species. EFSA Journal. 2013;11(4):3179.
- Foster DM, Smith GW.** Pathophysiology of diarrhea in calves. Vet Clin North Am FoodAnim Pract, 2009; 25, 13-36.
- Hrenovic J, Milenkovic J, Ivankovic T, Rajic N.** Antibacterial activity of heavy metal-loaded natural zeolite. J. Hazard. Mater. 2012; 201–202: 260–264.

- IARC (International Agency for Research on Cancer).** Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 68. Summary of Data Reported and Evaluation Sepiolite. 1997.
- Koshi K, Kohyama N, Myojo T, Fukuda K.** Cell toxicity, hemolytic action and clastogenic activity of asbestos and its substitutes. *Ind. Health.* 1991; 29: 37-56.
- Lindemann MD, Blodgett DJ, Kornegay ET, Schurig GG.** Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling/growing swine. *J Anim Sci.* 1993; 71: 171–8.
- Magdolenova Z, Collins A, Kumar A, Dhawan A, Stone V, Dusinska M.** Mechanisms of genotoxicity. A review of in vitro and in vivo studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology.* 2014; 8 (3): 233–278.
- Nezamzadeh-Ejhih A, Kabiri-Samani M.** Effective removal of Ni (II) from aqueous solutions by modification of nano particles of clinoptilolite with dimethylglyoxime. *Journal of Hazardous Materials.* 2013; 260; 339–349.
- Papaioannou DS, Kyriakis CS, Alexopoulos C, Tzika ED, Polizopoulou ZS, Kyriakis SC.** A field study on the effect of dietary use of a clinoptilolite-rich tuff, alone or in combination with certain antimicrobials on the health status and performance of weaned, growing and finishing pigs. *Res Vet Sci.* 2004; 76:19–29.
- Phillips TD, Kubena LF, Harvey RB, Taylor DR, Heidelbaugh ND.** Hydrated sodiumcalcium aluminosilicate: a high affinity sorbent for aflatoxin. *Poultry Sci.* 1988; 67:243-247.
- Ramos AJ, Fink-Gremmels J, Hernandez E.** Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. *J Food Prot.* 1996; 59: 631–41.
- Russell A.** Specialty clays: market niches taken by unique properties. *Ind. Miner,* 1991; 49-59.
- Sardi L, Martelli G, Escribano FP, and Parisini P.** The effects of Sepiolite-SPLF on piglet and heavy pig production. *Ital. J. Anim.Sci.* 2004; 3: 225 234.
- Schell TC, Lindemann MD, Kornegay ET, Blodgett DJ, Doerr JA.** Effectiveness of different types of clay for reducing the detrimental effects of aflatoxin contaminated diets on performance and serum profiles of weanling pigs. *J Anim Sci.* 1993; 71:1226– 31.
- Silva JC, Camacho AN, Vidales VG, Kaufhold S, Benny KG.** Theng The anti-inflammatory activity of natural allophane. *Applied Clay Science.* 2015; 105–106: 48– 51.
- Sohaebuddin SK, Thevenot PT, Baker D, Eaton JW, Tang L.** Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. *Particle and Fibre Toxicology.* 2010; 7: 22-26.
- Song M, Liu Y, Soares JA, Che TM, Osuna O, Maddox CW.** Dietary clays alleviate diarrhea of weaned pigs. *J Anim Sci.* 2012; 90:345–60.
- Subramaniam MD, Kim H.** Clays as dietary supplements for swine: A review *Journal of Animal Science and Biotechnology.* 2015; 6:38, 2-9.
- Thacker PA.** Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production. A review. *J Anim Sci Biotechnol.* 2013; 4:35-39.
- Tortuero C, Gonzales E, Martin L.** Efectos de la sepiolita sobre el crecimiento, las medidas viscerales y el transito intestinal en los pollos. *Arch. Zootec.* 1992; 41:209- 217.
- Trckova M, Vondruskova H, Zraly Z, Alexa P, Hamrik J, Kummer V.** The effect of kaolin feeding on efficiency, health status and course of diarrhoeal infections caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains in weaned piglets. *Vet Med.* 2009; 54:47– 63.
- Turner JL, Pas S, Dritz SS, Minton JE.** Alternatives to conventional antimicrobials in swine diets. *Prof Anim Sci.* 2001; 25:217–26.
- Vondruskova H, Slamova R, Trckova M, Zraly Z, Pavli I.** Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhea in weaned piglets: A review. *Vet Med.* 2010; 55:199–224.
- Xia MS, Hu CH, Xu ZR.** Effects of copper bearing montmorillonite on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weanling pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2001; 118:307–17.

## Transmissible Venereal Tumor: A Review

**Mehmet UÇAR**

*Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Obstetrics and Gynecology Department, Afyonkarahisar/TURKEY*

Corresponding author e-mail: mucar@aku.edu.tr

### ABSTRACT

Transmissible venereal tumor (TVT) is a neoplasm that can be transmitted between female and male dogs via mating by the physical transfer of viable tumor cells. The tumor may spread to different parts of the body through sniffing, licking, scratching or biting affected lesions. It can be also observed in wild carnivores. TVT is mostly located in the posterior wall of the vagina, in the joint of vaginal vestibule and vagina in female dogs, while it is usually located in caudal part of the penis in males. Initially, the tumor is small and varying from pink to red, subsequently progressing to a large, ulcerated, and contaminated mass. By the time, the tumor's volume increases and the lesions become friable, hyperemic, hemorrhagic, multilobular and cauliflower-like masses. A serosanguinous vaginal discharge is observed. Definitive diagnosis is based on anamnesis, location of the mass, cytological and histological findings. The cells in the slides vary from round to oval or variable shapes and contain a pale blue or colorless cytoplasm with a single distinctive nucleus. They include small, light, clear intracytoplasmic vacuoles. TVT should be immediately treated as soon as diagnosed because there is no method to prevent it. Chemotherapy is the effective method for the treatment of TVT with the intravenous use of vincristine sulfate, which is a chemotherapeutic agent, once in a week for approximately three weeks applications. The cure rate varies at 90-95%. In this review, the incidence, etiopathogenesis, clinical findings, diagnosis, prognosis and therapies of TVT have been emphasized.

**Key Words:** Diagnosis, Etiopathogenesis, Incidence, Prognosis, Transmissible Venereal Tumor, Treatment

### Transmisibil Venereal Tümör: Derleme

#### ÖZ

Transmisibil Venereal Tümör (TVT), erkek ve dişi köpeklerin çiftleşme sırasında canlı tümör hücrelerinin fiziksel transferi ile bulaşabilen neoplastik bir yapıdır. Tümör etkilenen lezyonların koklanması, yalanması, tırmalanması ve ısırılmasıyla vücudun farklı bölgelerine yayılabilir. TVT aynı zamanda vahşi karnivorlarda da gözlenebilir. Tümör genellikle erkek köpeklerde penisin kaudal kısmında lokalize olurken, dişilerde çoğunlukla vajinanın posteriyör bölgesinde, vestibulum ve vajinanın birleşme yerinde şekillenir. İlk başlarda tümör küçük ve pembeden kırmızı renge değişen şekildedir, daha sonra büyük ülserasyonlu ve kontamine bir kitle haline dönüşür. İlerleyen zamanlarda tümörün hacmi artar ve şekillenen lezyonlar multilobüler, karnıbahar görünümünde olup gevrek, hiperemik ve hemorajik yapıdadırlar. Serösangionöz vajinal akıntı gözlenir. Tümörün kesin tanısı anemnez bilgilerine, kitlenin oluşum yerine, sitolojik ve histolojik bulgulara dayanmaktadır. Preparatlardaki hücreler yuvarlak, oval veya değişik yüzeyli yapıda olup, solgun mavi veya renksiz sitoplazma ile belirgin bir nükleus içerirler. Hücrelerde küçük, parlak ve temiz görümlü intrastoplazmik vakuoller bulunur. TVT'nin oluşumunu tamamen engelleyecek bir yöntem olmadığı için, teşhis edildiğinde derhal tedavi edilmesi gerekir. Kemoterapi TVT için etkili bir sağaltım yöntemidir. Kemoteröpatik ajan olan vinkristin sülfatın haftada bir kez, ortalama 3 hafta süreyle damar içi yolla verilmesi sonrasında iyi sonuçlar alınmaktadır. Tedavi oranı %90-95 arasındadır. Sunulan bu derlemede, TVT'nin insidansı, patogenezi, klinik bulguları, tanısı, prognozu ve tedavisi üzerinde durulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Diagnoz, Etiyopatogenez, Incidens, Prognoz, Tedavi, Transmisibil Venereal Tümör

To cite this article: Uçar M. Transmissible Venereal Tumor: A Review. *Kocatepe Vet J. 2016; 9(3):230-235.*

## INTRODUCTION

Tumors are the most common of mortal disorders observed in humans and animals. Among mammals, they are observed most frequently in dogs. Transmissible venereal tumor (TVT) is one of the most uncontrolled spreading tumor via mating that disrupt the comfort of life of dogs.

TVT, which is the most common of genital tract tumors of canine species, is also known as canine Sticker's sarcoma, venereal granuloma, contagiosum venereal sarcoma, contagiosum lymphosarcoma, canine condyloma, contagiosum lymphoma and infectious sarcoma (Rogers 1997, Smith and Washbourn 1998, Gurel et al. 2002). It has a relatively high incidence rate among all tumor types (Tella et al. 2004). In this review, the most critical points of TVT are emphasized.

### Incidence

In many countries of the world TVT is observed in both sexes (Smith and Washbourn 1998, Strakova and Murchison 2014) except Antarctica (Das and Das 2000). Female dogs are contaminated with TVT more than males because only one infected male often mates with numerous females. TVT is rare in home-kept dogs (Ganguly et al. 2016). Although the low frequency of the tumor depends on the development level of the countries (Strakova and Murchison 2014). It is commonly observed in young and sexually active stray dogs in urban areas where mating is not under control (Hayes et al. 1983, Rogers 1997, Das and Das 2000, Gurel et al. 2002). It is mostly seen in tropical and subtropical climates (Hayes et al. 1983, Rogers 1997), it may also be observed in all geographical conditions (Hayes et al. 1983). It has been primarily reported in India and incidence rates vary between 23 and 43% (Chaudhary and Rao 1982, Gandotra et al. 1993, Jain et al. 2002).

The occurrence and duration incidence rate of the tumors also depend on the condition of immune system of the animal. It has been reported that it progresses benignly and can regress in those animals with good general body condition (Higgins 1966, Yang and Jones 1973, Vermooten 1987), while the development of the tumor is severe and tends to metastasize in too young or too old animals with suppressed immune systems (Higgins 1966, Yang and Jones 1973).

### Etiopathogenesis

TVT is the first tumor type that the transmission occurs from animal to animal during mating (Rogers 1997). Although it is often observed in the external

genitalia of female stray dogs (Smith and Washbourn 1998), it can also be developed in the internal genitalia (Rogers 1997, Gurel et al. 2002, Purohit 2009). The extra-genital tumors may be observed in higher rates due to the sexual behavior of the males (Hamir 1985, Pandey et al. 1989). Transmission of TVT occurs more easily if there is a clear damage on the surface of genital mucosal layer. During the mating, when the female is in standing heat, tissue damages form in the genital tract of the female owing to the enlargement of the infected penis and prolonged mating time. Subsequently the separation of the dogs after mating allows TVT to spread (Murchison 2009). Moreover, the behaviors of the dogs like sniffing, licking, scratching or biting can spread the tumor to different parts of the body (Rogers 1997, Das and Das 2000, Gurel et al. 2002). It is considered that the neoplastic cells which are peeled off by the physical contact during licking, sniffing, scratching or biting are transferred to opposite genital tract, nasal and oral mucosa, rectum or skin (Albanese et al. 2002, Amaral et al. 2007, Rezaei et al 2016). Therefore, in primal TVT cases, it is possible to see the detectable lesions in the skin, face, nasal or oral cavity, eyes and subcutaneous tissues together with the external genitalia (Rogers 1997, Das and Das 2000, Brandao et al. 2002, Gurel et al. 2002, Rezaei et al 2016). It can be also observed in wild carnivores such as wolf, coyote and fox (Rogers 1997, Das and Das 2000, Gurel et al.2002).

Several hypotheses have been proposed for the pathogenesis of transmission of TVT. It has been reported that the transmission may be associated with a viral agent (Cockrill and Beasley 1975) or it is not related to any virus, since oncogenic viral particles haven't been detected in the tumor cells by electron microscopy (Moulton 1990). Concerning the view of cytological and immunological studies, the most possible way for spreading of TVT is direct cell transplantation (Higgins 1966, Richardson 1981, Mozos et al. 1996, Mukaratirwa and Gruys 2003). The neoplastic cell is almost a stranger for the tissue. During mating, the tumor cells passing the barrier of major histocompatibility complex (MHC) among the same species or even other species of canine family such as fox and coyote and protecting its viability and vitality can be transplanted as an allograft to other animal's genital tract (Higgins 1966, Mukaratirwa and Gruys 2003, Murgia et al. 2006). Oncologically, TVT is the first and unique tumor type which has been proven that the viable tumor cells experimentally can be transferred from one animal to another (Das and Das 2000). Therefore, TVT are also known as allogeneic cell transplants (Richardson 1981, Mozos et al. 1996). In addition, it has been stated that the transplantation of viable TVT cells can be performed in healthy animals carrying only the same MHC antigens (Murgia et al. 2006).

It has been reported experimentally that transfer of TVT is progressed in three different stages. These are progressive, stabile and regression phases (Chu et al. 2001, Liao et al. 2003). The duration of progressive phase takes a couple of weeks and the tumor becomes palpable in 10-20 days following the experimental transfer (Chu et al. 2001). It is expressed that there is a slow but palpable growth period for 20 days in stabile phase of the tumor (Mukaratirwa et al. 2006), then it just passes to the regression phase and the tumor shrinks or disappears in the period of several weeks or months (Chu et al. 2001, Liao et al. 2003). Interestingly, some tumors (1-20%) grow rapidly following a second development phase and cause metastasis without any regression phase (Chu et al. 2001). The spontaneous regression of the tumors is controlled by the immunity system (Liao et al. 2003). It is known that the infiltration of the defense system cells increases from the progressive phase to the regression (Mukaratirwa and Gruys 2003, Mukaratirwa et al. 2006, Stockmann et al. 2011). Spontaneous regression of both experimentally and naturally transplanted TVT is occurred by necrosis and apoptosis along with the infiltration of lymphocytes and plasma cells (Stockmann et al. 2011).

TVT is usually a benign tumor. However, cases developing slowly throughout several years transform into malignant form in nature and cause metastasis at a rate of 5-17% (Rogers 1997). Metastatic cases are more numerous in the male dogs (Hamir 1985, Pandey et al. 1989). The lymph nodes, skin and subcutaneous tissues, liver, spleen, kidneys, lungs, heart, skeletal muscle, central nervous system, thymus, glandula parotid, joints of metacarpal and the metatarsal bones, and udders are the reported metastatic areas (De Lorimier and Fan 2007). Besides these in a case report, metastases were observed even in the brain and eyes (Ferreira et al. 2000).

### **Clinical Aspect and Diagnosis**

In male dogs, TVT is usually located in the caudal part of penis, from corpus to bulbus, or the glans penis, while it is rarely seen in prepuce (Das and Das 2000). In females, development of TVT mostly forms in the posterior wall of vagina, at the joint of vaginal vestibule and vagina (Stockmann et al. 2011). The lesions are small (in a diameter of 1-3 mm), superficial and varying from pink to red at the beginning of the tumor formation (Purohit 2009). In later times, the tumor's volume increases with a cauliflower-like nodular appearance. Although it is fragile, it has a red, hemorrhagic and hard structure. Nodular mass can reach up to 5-7 cm in diameter. The size of the mass can be 10-15 cm in diameter, if multilobulated subcutaneous lesions progress to deeper layers of mucosa. Moreover, it can be

observed as pedunculated, nodular, papillary and multilobulated structures. The tumor can cover the external orificium of urethra and protrude from vulva labia (Purohit 2009). The tumor surface is often inflamed and may be infected (Brown et al. 1980). Leakage or simple bleeding as well as contamination or ulceration is visible in tumors (Ferreira et al. 2000, Das and Das 2000, Purohit 2009).

The clinical findings are less remarkable in male dogs. In these animals, bloody preputial discharge, redness, deformation and ulceration in preputial opening can be seen (Ferreira et al. 2000, Das and Das 2000). Due to complication of the case with infection, females may encounter difficulties in urination or dystocia due to mechanical obstruction. Phimosis and paraphimosis may be observed in males (Das and Das 2000, Birhan and Chanie 2015). Weakness, ulcers in the perineum, anorexia, constipation, mating refusal and weight loss are the less common observed symptoms (Ganguly et al. 2016). Contaminated animals are at a high risk of having bacteriuria by the tumor caused to urine retention (Batamuzi and Kristensen 1996). A long-lasting serosanguinous vaginal discharge is observed in the infected dogs. The anemia may be evident in case of intensive bleeding (Purohit 2009). The general health of animals is not reduced unless the lesions turn infected and necrotic or block the urethral orifice (Ganguly et al. 2016).

The diagnosis can be made depending on the anamnesis, location of the mass, unclean perineum, bloody discharge and typical appearance of the tumor, cytology and histology (Purohit 2009). Estrus bleeding, cystitis, urethritis and prostatitis should be taken into consideration for differential diagnosis (Das and Das 2000).

TVT has a typical cytologic appearance. The examination of smear preparations is recommended because the exfoliative cytology technique is affordable, simple, feasible, and minimally invasive. The shape of cells in the slides vary from round to oval or variable surface structures. The cells usually have a pale blue or colorless cytoplasm with a single distinctive nucleus. Also they contain small, light, clear intracytoplasmic vacuoles and numerous mitotic figures (Hayes et al. 1983, Rogers 1997, Purohit 2009).

A definitive diagnosis requires the histopathologic examination of the biopsy sample. In histopathology, dense amount of round, oval or in variable shape tumor cells are usually located around blood or lymphatic vessels (Purohit 2009, Birhan and Chanie 2015). The size of the cell nucleus is higher than the cytoplasm. Cytoplasmic vacuoles are mostly visible. Lymphocytes, plasma cells and macrophages are



often observed (Birhan and Chanie 2015). The growing of tumor mass cause tightly integrated, irregular cell formation and fibroblasts are formed among them (Purohit 2009). Immunohistochemistry can be used for the diagnosis of metastatic tumors following combination of clinical findings (Birhan and Chanie 2015).

### Treatment and Prognosis

In the treatment of TVT, various options such as surgery, radiotherapy, immunotherapy, biotherapy or chemotherapy are used (Purohit 2009). Although surgery can be effective for small and localized tumors, recurrence rate following the surgery can reach up to 30-75% in metastatic cases (De Lorimier and Fan 2007). During surgery, the operation site can be contaminated with TVT cells and the risk of reoccurrence may increase (De Lorimier and Fan 2007, Purohit 2009). Therefore, surgery is not a preferred treatment method for TVT. However, cauterization, electrosurgery or cryosurgery may prevent the recurrence of TVT, subsequent to surgery (Idowu 1985, Rao et al. 1993, Hoque 1995).

TVT is a radiosensitive tumor and substances generating orthovoltage (Thrall 1982) or megavoltage (Rogers et al. 1998) like cobalt are used for this purpose. Radiotherapy, as an alternative to chemotherapy treatment in TVT, can be used for the treatment-resistant lesions or the lesions forming in brain, testis or eyes. However, the difficulties in application, lack of adequate equipment and the need for longer application period than the chemotherapy, are the main disadvantages of the method (De Lorimier and Fan 2007).

Biotherapy is limited for the treatment of TVT. Intratumor Calmette-Guérin's bacillus (BCG) administration for three weeks has a little success (Johnston 1991) and high reoccurrence rates have been reported subsequent to the treatment (Richardson 1981, Vermooten 1987). Moreover, the vaccines obtained from Staphylococcus protein A, BCG or the tumor cells for immunotherapy have also recurrence risks (Rogers 1997, Mukaratirwa and Gruys 2003).

Chemotherapy is the most common and effective method for the treatment of TVT (Amber et al. 1990). Favorable results have been derived from the intravenous (IV) use of vincristine sulfate, which is a chemotherapeutic agent, at doses of 0.5-0.7 mg/m<sup>2</sup> of body surface area or 0.025 mg/kg once in a week for approximately three consecutive weeks (Amber et al. 1990, De Lorimier and Fan 2007). Before the initialization of vincristine sulfate chemotherapy, assessment of general health status of the animal is essential. During therapy, at weekly intervals, it is essential to analyze the total number of leukocytes

(Ganguly et al. 2016). It is necessary to dilute vincristine sulfate with saline and to administer this combination as a very slow IV infusion by protecting it from direct sunlight. The treatment must be continued until no observable symptoms of the tumor remains and average administration duration is about 2-6 weeks. The overall cure rate varies between 90-95% (De Lorimier and Fan 2007). A transient deterioration of semen quality can be observed that quickly returns to normal within 15 days following the final application in male dogs treated with vincristine sulfate (Saratsis et al. 2000, Gobello and Corrada 2002).

Subsequent to chemotherapy, a distinctive regression in neoplastic formation usually begins two weeks after the first treatment. Even though no significant decreases were detected in AST and ALP enzymes, a significant decrease may be seen in the numbers of total serum protein, hemoglobin, total erythrocytes and total leukocytes thus neutropenia, eosinopenia, lymphocytosis, and monocytosis may be observed. Possible side effects include anorexia, vomiting, diarrhea, myelosuppression and alopecia. Unless a desirable result is obtained from vincristine sulfate, doxorubicin can be used IV at a dose of 1 mg/kg for a maximum of three weeks (Amber et al. 1990).

Another treatment approach to TVT is the combination of vincristine sulfate (0.0125mg/kg/per week, IV), methotrexate (0.3-0.5mg/kg/per week, IV) and cyclophosphamide (1mg/kg/per day, peros) can also be used until the visible symptoms disappear. The administration lasts about 4-6 weeks (Purohit 2009). Although Adriamycin (30 mg/m<sup>2</sup>, IV, once in every three weeks) is also effective, it must be used only in the cases where vincristine sulfate is not effective, due to the side effects of Adriamycin (De Lorimier and Fan 2007).

In a study, it has been reported that a TVT case, which did not respond to successive treatments of vincristine sulfate, vinblastine and doxorubicin combination. Later the tumor was surgically removed and ovariohysterectomy performed on the very same day. Following this, the administration of L-asparaginase (400 IU/kg, SC) and oral prednisolone (during the first week 2 mg/kg, once in a day; the second week 1,5 mg/kg/day; the third week 1 mg/kg/day and the last week 0.5mg/kg/day) on the sixth day following the ovariohysterectomy have obtained successful results (Da Silva et al. 2014).

Good prognosis can be expected in most of the TVT cases following chemotherapy. However in such cases that are resistant to treatment, electrocauterization or cryocauterization were also reported to be useful choices of therapy (Vermooten 1987, Rogers 1997).

## CONCLUSION

The contagious tumor of stray dogs, TVT, should be immediately treated as soon as diagnosed. It is obvious that there is no method to prevent it. However, two main precautions can help for prevention or spreading of the tumor. The main and first approach is to inform the owners about the importance of ovariohysterectomy, in cases no further breeding is required by the owner. Secondly, to inform the owners about the importance of gynecological examinations performed at least two times per year, if the owners do not prefer to demand elective ovariohysterectomy.

## REFERENCES

- Albanese F, Poli A, Millanta F, Abramo F.** Primary cutaneous extragenital canine transmissible venereal tumour with *Leishmania* laden neoplastic cells: a further suggestion of histiocytic origin. *Vet Dermatol.* 2002;13: 243-246.
- Amaral AS, Sandra BS, Isabelle F, Fonseca LS, Andrade FH, Gaspar LF, Rocha NS.** Cytomorphological characterization of transmissible canine venereal tumor. *Rev Port Cienc Vet.* 2007;102: 253-260.
- Amber EL, Henderson RA, Adeyanju JB, Gyand EO.** Single drug chemotherapy of canine transmissible venereal tumour with cyclophosphamide methotrexate or vincristine. *J Vet Int Med.* 1990; 4:144-147.
- Batamuzi EK, Kristensen F.** Urinary tract infection: the role of canine transmissible venereal tumour. *J Small Anim Pract.* 1996;37: 276-279.
- Birhan G, Chanie M.** A Review on Canine Transmissible Venereal Tumor: from Morphologic to Biochemical and Molecular Diagnosis. *Acad J Anim Diseases.* 2015;4(3): 185-195.
- Brandao CV, Borges AG, Ranzani JJT, Rahal SC, Teixeira CR, Rocha NS.** Transmissible venereal tumour in dogs: a retrospective study of 127 cases (1998-2000). *Rev Educ Contin CRMV SP.* 2002;5:25-31.
- Brown NO, Calvert C, Mac Ewen EG.** Chemotherapeutic management of transmissible venereal tumour in 30 dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 1980;176: 983-986.
- Chaudhary C, Rao MRK.** Certain canine neoplasms encountered in Andhra Pradesh. *IndianVet J.* 1982;59: 100-102.
- Chu RM, Lin CY, Liu CC, Yang SY, Siao YW, Hun SW.** Proliferation characteristics of canine transmissible venereal tumor. *Anticancer Res.* 2001;21: 4017-4024.
- Cockrill JN, Beasley JN.** Ultrastructural characteristics of canine transmissible venereal tumor various stages of growth and regression. *Am J Vet Res.* 1975;36(5): 677-681.
- Da Silva DM, Reusing MSO, Franciosi AI, Belo CEP, Goncalves KA, De Souza RS, Guerios SD.** Treatment of canine transmissible venereal tumor using L-asparaginase, prednisone, and surgery in a clinical chemotherapy-resistant case. *Turk J Vet Anim Sci.* 2014; 38: 220-223.
- Das U, Das AK.** Review of canine transmissible venereal sarcoma. *Vet Res Comm.* 2000; 24:545-556.
- De Lorimier LP, Fan TM.** Canine Transmissible Venereal Tumor. In: Withrow SJ, Vail DM eds. *Withrow & MacEwen's Small animal clinical oncology.* 4 th ed. USA:Saunders Elsevier, 2007; pp.799-804.
- Ferreira AJA, Jaggy A, Varejaop AP, Ferreira MLP, Correia JMJ, Mulass JM, Almeida O, Oliveira P, Prada J.** Brain and ocular metastases from a transmissible venereal tumour in a dog. *J Small Anim Pract.* 2000;41: 165-168.
- Gandotra VK, Chauhan FS, Sharma RD.** Occurrence of canine transmissible venereal tumor and evaluation of two treatments. *Indian Vet J.* 1993;70: 854-857.
- Ganguly B, Das U, Das AK.** Canine transmissible venereal tumour: a review. *Vet and Comp Oncol.* 2016;14:(1) 1-12
- Gobello C, Corrada Y.** Effects of vincristine treatment on semen quality in a dog with a transmissible venereal tumour. *J Small Anim Pract.* 2002;43: 416-417.
- Gurel A, Kuscu B, Gulanber EG, Arun SS.** Transmissible venereal tumors detected in the extragenital organs of dogs. *Israel J Vet Med.* 2002;57:23-26.
- Hamir AN.** Primary penile and nasal transmissible venereal tumour in a dog. *Australian Vet J.* 1985; 62: 430-432.
- Hayes HM, Biggar RJ, Pickle LW, Hoover R, Toft JD.** Canine transmissible venereal tumor:

- a model for Kaposi's sarcoma? *Am J Epidemiol.* 1983; 117:108-109.
- Higgins DA.** Observations on the canine transmissible venereal tumor as seen in the Bahamas. *Vet Rec.* 1966;79(3): 67-71.
- Hoque M.** Different modes of therapy for canine transmissible venereal tumor. *Veterinarian.* 1995;19:1-2.
- Idowu AL.** Cryosurgery of canine transmissible venereal tumor. *Tropical Vet.* 1985;3:74-78.
- Jain A, Tiwari RP, Tiwari SK, Awasthi MK.** Clinical observations in TVT effected dogs treated with vincristine sulfate. *Indian J Anim Reprod.* 2002;23 (1):71-72.
- Johnston SD.** Performing a complete canine semen evaluation in a small animal hospital. *Vet Clin N Am Small Anim Pract.* 1991; 21(3):545-551.
- Liao K, Hung S, Hsiao Y, Bennett M, Chu RM.** Canine transmissible venereal tumor cell depletion of B lymphocytes: molecule(s) specifically toxic for B cells. *Vet Immunol Immunopathol.* 2003;92: 149-62.
- Moulton JE.** Tumors of domestic animals. 3rd ed. University of California Press Berkley and Los Angeles. 1990;10: 498-502.
- Mozos E, Mendez A, Gomez-Villamandos JC, Martin De Las Mulas J, Perez J.** Immunohistochemical characterization of canine transmissible venereal tumor. *Vet Pathol.* 1996;33: 257-263.
- Mukaratirwa S, Gruys E.** Canine transmissible venereal tumor: cytogenetic origin, Immunophenotype and immunobiology. A review. *Vet Q.* 2003;25(3):101-111.
- Mukaratirwa S, Chiwome T, Chitanga S, Bhebhe E.** Canine transmissible venereal tumour: assessment of mast cell numbers as indicators of the growth phase. *Vet Res Commun.* 2006;30: 613-621.
- Murchison EP.** Clonally Transmissible Cancers in Dogs and Tasmanian Devils. *Oncogene.* 2009;27: 19-30.
- Murgia C, Pritchard JK, Kim SY, Fassati A, Weiss RA.** Clonal origin and evolution of a transmissible cancer. *Cell.* 2006;126: 477-487.
- Pandey SK, Chandpuria VP, Bhargava MK and Tiwari SK.** Incidence, treatment, approach and metastasis of canine transmissible venereal sarcoma. *Indian J Anim Sci.* 1989;59: 510-513.
- Purohit G.** Canine Transmissible Venereal Tumor: A Review. *I J Vet Med.* 2009;6(1): 1-6.
- Rao TM, Kumar VG, Raghvender KBP, Joshi MR, Rao RLN.** Cryosurgical treatment of transmissible venereal tumors. *J Vet Anim Sci.* 1993;24:149-152.
- Rezaei M, Azizi S, Shahheidaripour S, Rostami S.** Primary oral and nasal transmissible venereal tumor in a mix-breed dog. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2016; 6(5):443-445.
- Richardson RC.** Canine transmissible venereal tumor. *Comp Cont Educ Pract Vet.* 1981;3:951-959.
- Rogers KS, Walker MA, Dillon HB.** Transmissible venereal tumor: a retrospective study of 29 cases, *J Am Anim Hosp Assoc.* 1998;34:463-470.
- Rogers KS.** Transmissible venereal tumor, *Compend Contin Educ Pract Vet.* 1997;19:1036-1045.
- Saratsis P, Ypsilantis P, Tselkas K.** Semen quality during vincristine treatment in dogs with transmissible venereal tumor. *Theriogenology.* 2000;53: 1185-1192.
- Smith GB, Washbourn JB.** Infective sarcomata in dogs. *Br Med J.* 1998;2: 1346-1347.
- Stockmann D, Heitor FF, Alexandre LA, Rodrigo AL, Tereza CC, Maria CRL.** Canine Transmissible Venereal Tumors: Aspects Related to Programmed Cell Death. *Braz J Vet Pathol.* 2011;4: 67-75.
- Strakova A, Murchison EP.** The changing global distribution and prevalence of canine transmissible venereal tumour. *BMC Vet Research.* 2014;10:168-.
- Tella MA, Ajala OO, Taiwo VO.** Complete regression of transmissible venereal tumor (TVT) in Nigerian mongrel dogs with vincristine sulfate chemotherapy. *Afr J Bio Med Res.* 2004;7(3):133-138.
- Thrall DE.** Orthovoltage radiotherapy of canine transmissible venereal tumors. *Vet Radiol.* 1982;23: 217-219.
- Vermooten MI.** Canine transmissible venereal tumour (TVI): a review. *J S Afr Vet Assoc.* 1987; 58: 147-150.
- Yang TJ, Jones JB.** Canine transmissible venereal sarcoma: transplantation studies in neonatal and adult dogs. *J Natl Cancer Inst.* 1973;51: 1915-1918.

## Çiftlik Düzeyinde Hayvan Refahı Değerlendirmesi İçin Bilimsel Yaklaşımlar

Zehra BOZKURT

*Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Husbandry*

Corresponding author e-mail: zhra.bozkurt@gmail.com

### ÖZ

Gerek tüketici talepleri ve ulusal yönetmelikler ve gerekse de uluslararası gıda kalite standartları pazardaki ürünün niteliğini şekillendirmektedir. Bugün, Dünya hayvansal üretim tekniklerinde gıda kalitesi ve çevre koruma prensiplerine dayanarak şekillenen revizyon olarak da tanımlayabileceğimiz hayvan refahı hayvansal gıda için ürün niteliğini tanımlayan önemli faktörlerden birisidir. Hayvan refahı kalite standartlarının sürdürülebilmesi için çiftlikte hayvan refahı değerlendirmeleri anahtar bir role sahiptir. Hayvan refahının bilimsel metotlarla değerlendirilmesi bakımından biyolojik işleyiş, duygusal durum ve doğal yaşam olarak isimlendirilen üç ayrı kuramsal çerçeve bulunmaktadır. Bu derlemede, hayvan refahı göstergeleri kullanılarak geliştirilmiş bazı refah değerlendirme yöntemleri ile refah değerlendirme protokolleri tartışılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Bilimsel Yaklaşımlar, Çiftlik Düzeyinde, Refah Değerlendirme

## Scientific Approaches For On-Farm Animal Welfare Assessment

### ABSTRACT

Consumer demands, national legislation and international food quality standards shape the quality of the product in the market. In the global livestock production techniques, animal welfare which can be defined as the revision that was shaped based on the food and environmental protection principles, is one of the important factors defining product quality for food of animal origin. On-farm assessment of animal welfare has a key importance in order to sustain of the welfare quality standards. There are three different theoretical framework for assessing animal welfare in a scientific manner known as biological mechanism, the emotional state and natural behaviour. In this review, some welfare assessment methods and welfare assessment protocols were discussed which have been developed using animal welfare indicators.

**Keywords:** Scientific Approaches, On-Farm Level, Welfare Assessment,

## GİRİŞ

Gıda sektörü daha önceleri üretim miktarı, fiyat ve rekabete odaklanmış iken son yıllarda tüketicinin gıda kalitesi ve güvenliği konusundaki yeni talepleri ile de karşı karşıyadır. Yüksek refah standartları altında yetiştirilen hayvanlardan elde edilen gıdanın kalitesi de yüksektir. Bu nedenle geleceğe dönük hayvansal üretim stratejilerinin; hayvan refahının artırılması, çiftlik düzeyinde hayvan refahının izlenmesini sağlayacak sistemlerin geliştirilmesi ve düşük hayvan refahına bağlı ekonomik kayıpların azaltılması için potansiyel risklerin takibi temelinde yatırım planlamalarını içermesi gerekmektedir (Blokhuis ve ark. 2003, Broom 1986). Bu nedenle hayvan refahını etkileyen faktörlerden başka hayvan refahının bilimsel çerçevesinin daha net ortaya konulmasına önem verilmekte, çiftlikte hayvan refahının güvenilir ve sürdürülebilir bir şekilde izlenmesi için yeni refah değerlendirme metotları önerilmekte ve hayvan refahı ile ilgili pek çok sertifika programları geliştirilmektedir. Uluslararası pazar ve ticaret koşulları hayvan refahını tanımlayan ortak kalite standardına ve etiket uygulamasına ihtiyaç duymaktadır. Bu nedenle çiftlik düzeyinde hayvan refahının değerlendirilmesi ve yüksek refah standartları altında yetiştirilen çiftlik hayvanlarının ürünleri için uygulanacak olan etiketler için mümkün olduğunca uyumlu bir yapıya duyulan ihtiyaç her geçen gün daha da artmaktadır.

Bu amaç doğrultusunda ilk somut adım bilimsel bir kavram olarak hayvan refahının tanımı ve kapsamı üzerinde varılacak uzlaşma olacaktır. Günümüzde hayvan refahının bilimsel değerlendirmesi için farklı yaklaşımlar bulunmaktadır. Bunun en önemli nedeni başlangıçta hayvan refahının bilimsel tanımının, aslında bir bütünün parçaları olduğu daha sonra anlaşılan üç farklı kuramsal çerçeve ile ele alınmış olmasıdır. Bu hareket noktası hayvan refahı değerlendirmelerinde de farklı yaklaşımlara neden olmuştur. Bu derlemede, bilimsel refah değerlendirmesi için geliştirilmiş olan her bir yaklaşım karşılaştırmalı olarak ele alınmış ve bu yaklaşımlara dayanılarak çiftlik hayvanlarının refahını değerlendirmek üzere günümüze kadar geliştirilmiş olan metotlar özetlenmiştir.

### **Hayvan Refahı Değerlendirmesine İlişkin Kuramsal Çerçeveler**

Brambell Komitesi'nin 50 yıl önce hayvan refahının ölçülmesi ve değerlendirilmesi için geliştirilecek olan yaklaşımlarda hayvanların yapısı, davranışları ve duyguları ile ilgili bilimsel kanıtların dikkate alınması gerektiği yönünde verdiği tavsiyeden sonra günümüze kadar stres fizyolojisi, hayvan bilimi ve hayvan davranışları alanındaki araştırmalar giderek

artmıştır (Hemsworth ve ark. 2015). Ancak bu alanlardaki araştırmalar hayvan refahının bilimsel tanımı üzerine farklı argümanların üretilmesine ve birbirinden farklı ve rakip olan kuramların meydana gelmesine neden olmuştur. Hayvan refahının bilimsel metotlarla değerlendirilmesinde biyolojik işleyiş, duygusal durum ve doğal yaşam olarak isimlendirilen üç ayrı kuramsal çerçeve ortaya konulmuştur (Fraser 2003). Bu kuramlar aşağıda sırasıyla açıklanmıştır.

### **Biyolojik İşleyiş**

Biyolojik işleyiş kuramının kurucusu olan Broom (1986)'a göre hayvanın çevresine uyum sağlaması ve çevresel değişiklikler ile "baş edebilmesi" gerekir. Bu kurama göre refah, hayvanın çevresine uyum sağlama çabasının bir sonucu olarak meydana gelmektedir. Dolayısı ile refah sorunu şekillenmemesi için hayvanın biyolojik ihtiyaçlarını karşılayabilmesi, fonksiyonel sistemlerinin ideal seviyede ve zorlanmadan çalışabilmesi ve büyük ya da en azından önemli bir fizyolojik stres yanıtının meydana gelmemesi gerekir (Mormede 2000). Hurnik ve Lehman (1998) ile Duncan (2005)' a göre hayvanda biyolojik ihtiyaçların göreceli ağırlığı ve önem sırası refahı etkilemektedir. En önemli biyolojik ihtiyaçlar; hayvanın yaşamını devam ettirebilmesi için gereken temel ihtiyaçlar iken bunu sırasıyla sağlığını ve konforunu sürdürebilmesi için gereken ihtiyaçlar izlemektedir. Örneğin su, hayvanın yaşamının devamlılığı için gerekli bir ihtiyaç olduğundan su kısıtlamasında hayvanın refah seviyesi düşecektir ancak susuzluk daha da uzar ise hayvanın ölümü kaçınılmaz olacaktır.

Biyolojik işleyiş kuramsal yaklaşımında hayvanın sağlığını sürdürme ihtiyaçları refahın korunması için kısmen daha az önemli iken hayvanın konforunu sürdürme ihtiyaçlarının refah üzerindeki etkisi en az olarak değerlendirilmektedir. Curtis (1987) bir çalışmada ihtiyaç hiyerarşisini içeren çok benzer başka bir şemayı önermiş ve önem sırasına göre biyolojik ihtiyaçları fizyolojik ihtiyaçlar, güvenlik ihtiyaçları ve davranış ihtiyaçları olarak sıralamıştır. Bununla birlikte hiyerarşide daha geride olan ihtiyaçların karşılanmamasının kısmen daha düşük bir refah sorunu meydana getireceği düşünülse de düşük refaha bağlı büyüme, üreme, sağlık ve diğer alanlarda meydana gelen tüm kayıplar önemli bir biyolojik maliyete neden olabilmektedir (Duncan 2005).

Çiftlik hayvanlarının çoğu çevresel değişimlere az ya da çok uyum sağlayabilme kabiliyetindedir. Hayvanın değişen çevresel faktörlere adaptasyon sağlama girişimi vücudun onarım ve savunma sistemlerini içeren bir biyolojik aktivitenin meydana gelmesi ile oluşmaktadır ve bu süreçte fizyolojik stres ile bazı davranış yanıtları meydana getirmektedir (Broom ve

Johnson 1993, Duncan 2005). Bu biyolojik düzenleme karşılaşılan tüm zorluklarda sürekli olarak meydana gelse de adaptasyon girişimi her zaman başarılı olmayabilir (Hemsworth ve Coleman 2011). Bir hayvan karşılaştığı çevresel zorluklarla başa çıkmada ne kadar başarılı ise, bu durum onun biyolojik işleyişinin ve zindeliğinin o derece normal ya da güçlü olduğunu göstermektedir. Zor gerçekleşen veya yetersiz seviyede meydana gelen adaptasyon hayvan için refah sorunlarının başlayacağını da göstermektedir (Hemsworth ve ark. 2015). Hayvanların karşılaştığı zorluklara karşı şekillenen fizyolojik stres tepkileri de çeşitli ve karmaşıktır. Bu yanıtlar genellikle Sempato-adrenal-meduller sistem ve hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın aktivasyonu ile ilişkilidir ve katekolaminler ile glukokortikoidlerin sentezinin artışı içerir (Ralph ve Tilbrook 2016, Turner ve ark. 2012).

Duyguları yeterince içermemesi biyolojik işleyiş kuramının hayvan refahının bilimsel değerlendirmesindeki başarısı açısından zayıf yön olarak değerlendirilmektedir. Bu şekli ile biyolojik işleyiş kuramı ancak duygular biyolojik süreçlerden bağımsız olsaydı geçerli olabilirdi. Oysa duyguların da sempato-adrenal-meduller sistem ve hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın aktivasyonu ile ilişkili olduğu konusunda hiç şüphe yoktur (Kaltas ve Chrousos 2007). Duygular ile ilgili yapılan araştırmalar davranışsal tepkilerin nedenlerinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamıştır. Ancak yine de davranışsal tepkilerin adaptif rolü henüz hak ettiği öneme kavuşmamıştır (Duncan 2005, Hemsworth ve ark. 2015).

### **Duygusal Durum**

Hayvan refahı hayvanın fiziksel ve ruhsal durumunu içeren geniş bir terimdir. Bu nedenle olumsuz duygular yoğun hissedildiğinde refah seviyesi düşük ve olumlu duygular yoğun hissedildiğinde ise refah seviyesi yüksek olarak yorumlanmaktadır. Bu nedenle refah kavramı, hayvanın duyguları ile ilgili tüm durumları ve özellikle ızdırabın olmama halini içeren bir kavram olarak ortaya konmaktadır. ızdırıp ise acı, ağrı, korku, hayal kırıklığı, üzüntü, keder, yoksunluk ya da engellenme gibi kuvvetli negatif duygusal durumları içermektedir (Duncan ve Dawkins, 1983). Duncan (2002) refahın aynı zamanda memnuniyet olarak isimlendirilen pozitif duygusal durumların varlığı ile de ilişkili olabileceğini ileri sürmüştür. Ancak hayvanlarda memnuniyet durumu ile ilgili fazla araştırma bulunmamaktadır. Hemsworth ve ark. (2015) hayvanın duygusal deneyimlerinin hem hayvanın fizyolojik ve fonksiyonel sistemlerinin işleyişinden hem de içinde bulunduğu çevre koşullarına ilişkin algısıyla (edinimler) ilişkili olduğunu bildirmiştir. Hayvanın iç fonksiyonel yapısının bir yansıması olan duygusal edinimler hayvanın kendi çevresini algılayışını da etkileyerek

onun iç fonksiyonel durumunu da etkilemektedir (Mellor 2015a, 2015b). Örneğin, gıda yoksunluğu hayvanda kısa bir sürede kuvvetli bir açlık duygusunu meydana getirir. Kötü hayvan idaresi gibi hayvanda korku oluşturan koşullar nedeniyle meydana gelen duygusal deneyimler sempato-adrenal-meduller sistem ve hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın aktivasyonuna neden olur ve korku üreten koşulun süresinin daha da uzaması durumunda hayvanın fonksiyonel sistemleri de olumsuz etkilenir (Hemsworth ve Coleman 2011 ).

İnsan ve hayvanlarda davranış özellikleri ile beynin yapısal ve kimyasal özelliklerinin oldukça benzer olduğunu gösteren kanıtlar giderek artmaktadır. Hayvan yetiştiriciliğinin gelecekteki uygulamalarında hayvanların olumlu duygu ve deneyimlerinin daha çok dikkate alınacağı beklenmektedir. Hayvan duyguları ve davranışlarının yirmi birinci yüzyılda hayvan refahı biliminin odak noktasında olacağı öngörülmektedir (Mellor 2015a).

### **Doğal Yaşam**

Doğal yaşam teorisine göre, bir hayvanın refahı ancak doğal davranışlarını sergileyebildiğinde artar. İdeal refah seviyesi için hayvanların türüne özgü davranışlarının tamamını veya büyük çoğunluğunu yapabilme olanağına sahip olması gerektiği görüşü hayvan refahı araştırmalarının başladığı ilk dönemlerden beri kabul görmüştür. Nitekim günümüzde pek çok “refah dostu” üretim sistemi ile hayvan refahı sertifikasyon programlarının doğal davranışlara geniş yer verdiği görülmektedir ve bu durum yetiştiricilerin ve tüketicilerin doğal yaşam yaklaşımını geniş ölçüde benimsediklerini göstermektedir (Hemsworth ve Coleman 2011). Bununla birlikte, Mellor (2015a, 2015b) henüz “doğal” kavramının yeterince iyi tanımlanamamış olduğunu belirtmiş ve bu durumun beklenen aksine hayvanlarda refahın düşmesine de yol açabileceğine ilişkin bir uyarıda bulunmuştur. Bu nedenle başarılı bir hayvan refahını değerlendirmesi yapabilmek için hayvanlar açısından arzu edilen veya arzu edilmeyen durumlar ile hayvanların hangi doğal davranışlarının ilişkilendirildiğinin açık şekilde tanımlanmasına ihtiyaç bulunmaktadır (Barnett ve Hemsworth 2009, Hemsworth ve Coleman 2011).

Hayvanların ödüllendirildiği anlarda sergiledikleri davranışlara ilişkin yeni bulgular elde edilmiştir. Ayrıca hayvan davranışı ile ilgili daha önce yapılan gözlemleri destekleyen yeni nörobilim kanıtları da ortaya konmaktadır (Panksepp 2005). Ancak doğal yaşam kavramı tek başına refah değerlendirmesi için gerçekçi bir temel sağlamaktan henüz çok uzaktır. Bununla birlikte doğal yaşam kavramı hayvanların av veya avcı olma durumu ile keşfetme, oyun, cinsel aktivite veya analık gibi bazı doğal davranışları arasındaki etkileşimlerin sergilenebilmesi bakımından

hayvanlara fırsat sunulmasının önemine dikkat çekmiştir (Mellor 2015c).

### **Hayvan Refahı Değerlendirmesinde Yararlanılan Refah Göstergeleri**

Yukarıda mutlak değerleri vurgulanan ve her birinin tek başına hayvan refahını tanımlamada üstün ve eksik yönleri tartışılan kuramlar aslında bir bütünün parçalarını oluşturmaktadır. Bu kuramlar başlangıçta birbirine rakip olarak görülmüşse de aslında aralarında dinamik bağlar bulunmaktadır (Hemsworth ve ark. 2015). Günümüzde biyolojik işleyiş fonksiyonel sistem aktivitelerinin ideal düzeyde gerçekleştiği hal olarak tanımlanmaktadır ve duygusal deneyimler ile hayvan davranışlarını kapsayacak şekilde geniş ele alınmaktadır. Duygusal deneyimlerin ise biyolojik işleyişin ürünleri olduğu görüşü kabul edilmektedir (Barnett ve Hemsworth 2009, Green ve Mellor 2011).

Bir hayvanın refahına ilişkin durumunu değerlendirmede biyolojik işleyiş, duyuşsal durum ve doğal yaşam kuramlarının fizyolojik ve davranışsal içerikleri bakımından birlikte ele alınmaktadır. Bu nedenle hayvan refahının bilimsel değerlendirilmesinde kullanılan refah göstergeleri bu üç kuramı da içine alacak şekilde aşağıda anlatılmıştır.

### **Fizyolojik Stres Göstergeleri**

Stres, çevre tarafından baskılanan ve uyum sağlamada zorluk çeken bir organizmada oluşan yanıtların toplamıdır (Naturanimal 2012). Yoğun üretim sistemine bağlı kısıtlama, kötü hayvan idaresi, yenilik ile karşılaşma, açlık, susuzluk, yorgunluk, yaralanma ya da termal etkiler gibi stres faktörleri canlıda vücudun fizyolojik dengesini (homeostasi) etkiler ve stres meydana gelir. Bir hayvanın strese maruz kalması refahını düşürür (Etim ve ark. 2013a, Kaltas ve Chrousos 2007, Etim ve ark 2013c, Grandin 1997).

Stres ile başa çıkmaya çalışan hayvanda sempatik sinir sistemi ve hipotalamus-hipofiz-adrenal aks strese yanıt vermektedir. Bu mekanizma “kavga” ya da “uçma” sendromu olarak isimlendirilmektedir. Endorfin salınımının artmasına bağlı olarak kas aktivitesinde artış meydana gelmekte, solunum ve dolaşım sistemi faaliyetlerinde de artış görülmektedir. Vücutta enerji tasarrufu sağlanması için iştah, bağırsıklık ve libido kayıpları meydana gelmektedir. (Etim ve ark.2013a, Kaltas ve Chrousos 2007; Smith ve Dobson 2002).

Merkezi sinir sistemi homeostasisi sağlamak için gerekli olan bilgiyi duyu organları aracılığıyla dış ve iç ortamdan toplar, toplanan bu bilgileri canlıdaki kişisel beklentiler, geçmiş deneyimler ve kontrol fırsatları ile ilişkilendirerek tehlike veya tehdit değeri

bakımından değerlendirir ve daha sonra davranışsal ayarlamalar ve nöroendokrin değişiklikleri içeren olumsuz şartlara uyum sağlama yanıtını başlatır (Lazarus 1993). Ancak, fizyolojik ve davranışsal savunma aktivitelerini içeren bu uyum çabası stres süresinin uzaması durumunda hayvanın biyolojik kaynaklarını tüketmeye başlar, görülen prepatolojik dönemin arkasından da bazı patolojiler meydana gelir. Uzun vadeli stresin en ciddi etkileri adrenal yorgunluk, nörotransmitter dengesizlikler ile hormon yetersizliğidir (Perkins ve ark. 2008). Stres ile başa çıkmada meydana gelen bu etkilerin her birisi hayvanda bir takım zararlı sonuçlar doğurmaktadır (Etim ve ark.2013b, Moberg 2000).

### **Sağlık Göstergeleri**

Hayvan refahı için hayvanın sağlıklı olması mutlaka gerekli olan bir şarttır (Dawkins 2004). Hastalıklar ağrı, rahatsızlık veya sıkıntı gibi olumsuz deneyimler meydana getirdiği için hayvanın refahı olumsuz etkilenir (Fregonesi ve Leaver 2001, Sejian ve ark 2011, Duncan 2005).

Ağrı hayvanda “ızdırıp” oluşturmada ve refahı çok düşürmektedir. Çiftlik hayvanlarında uygulanan modifikasyonlar da meydana getirdikleri ağrı ve rahatsızlıktan dolayı hayvan refahını düşürmektedir. Buzagi, domuz yavrusu, kuzu ve oğlaklarda uygulanan kuyruk kesme ve kastrasyon işlemleri, domuz yavrularında uygulanan diş kesme ve kanatlılarda uygulanan gaga ve parmak kesme gibi işlemler analjezi veya anestezi yapılmadan uygulandıklarında uygulama anında meydana gelen akut ağrıdan başka iyileşme döneminde ve daha sonraki dönemlerde kronik ağrıya neden olmaktadır. İyi tasarlanmamış barındırma sistemleri nedeniyle çiftlik hayvanlarındaki ağrı tablosuna çoğunlukla morluklar ve sıynklar da eklenmektedir. Bundan başka, yüksek verim yönünde yapılan ıslah da refah kayıpları meydana getirmektedir. Yüksek canlı ağırlık ve kas gelişimi için ıslah edilen broiler hibritlerde yoğun şekilde görülen ağırlı iskelet bozuklukları ve yüksek süt ve et verimi için ıslah edilen sığırlarda görülen ketosiz ve asidozis gibi metabolik hastalıklar bu duruma en belirgin örneklerdir (Leeson ve ark. 1995, Duncan 2005, Bozkurt ve ark. 2015).

### **Duygu ve Davranış Göstergeleri**

Duygu subjektif bir durumdur. Bir duygu ancak onu yaşayan hayvan tarafından deneyimlenebilir ve yine sadece o hayvan tarafından bilinebilir. Hayvanların duygularını doğrudan tespit etmek çok zordur. Bu nedenle duyguların değerlendirilmesi için dolaylı göstergeler izlenmektedir. Bu amaçla hayvanlara seçme şansı verilmekte, hayvanların istedikleri veya istemedikleri objeler ile içinde bulunmak istedikleri veya istemedikleri durumlar değerlendirilmektedir.

Böylece, bir hayvanın kendi refahına yararlı olacağını hissettiği şeyleri seçeceği varsayılmaktadır (Dawkins 2004, Hughes ve Bkack 1973).

Hayvan refahı değerlendirilmesinde kullanılan diğer bir parametre de davranıştır. Davranış, tüm hayvanlarda karar verme sürecinin bir sonucu olarak meydana gelmektedir ve yaşanan duygu deneyimlerini yansıtmaktadır (Bizeray ve ark.2002, Dawkins 2004, Pettit-Riley ve ark.2002). Davranışlar ile hayvanı rahatsız etmeden refah değerlendirmesi yapılabilmektedir. Ayrıca davranışlar düşük refah düzeyinin hassas bir şekilde ve daha hızlı tespit edilmesine olanak vermektedir (Estevez ve ark.2003, Dawkins 2004).

Hayvan refahı değerlendirilmesinde pozitif deneyimleri yansıtan davranışlar fırsat yaratmaktadır (Bracke ve Hopster 2006). Bazıları toplam olan bir grup broiler tavuğun iki farklı renkteki yem arasından topallığa bağlı ağrıyı yok edecek düzeyde ağrı kesici eklenmiş yemleri kendi inisiyatifi ile tercih ettiğine ilişkin bulgular oldukça heyecan verici bulunmuştur. Bu sonuçlar, topallığın hayvanda ağrı oluşturduğu ve şans verilir ise tavukların hissettikleri ağrıyı hafifletmek için adım atabilecekleri şeklinde yorumlanmıştır. Ayrıca bu sonuçlar, hayvan refahının değerlendirilmesinde davranışların kullanılmasının ne kadar yararlı olduğunu da göstermiştir (Danbury ve ark. 2000).

Doğal yaşam koşullarına göre oldukça farklı olan üretim ortamlarına çiftlik hayvanlarının uyum sağlaması hayvanların bilişsel ve duygusal sistemlerinde bazı değişiklikler meydana getirmiştir (Bracke ve Hopster 2006). Bu nedenle domuzlarda yer kazma ve yuva yapma ile kanatlılarda yeri eşeleme ve toz banyosu gibi yoğun üretim sistemlerinde sergilenmesine olanak bulunmayan çok sayıda doğal davranış en önemli refah gereksinimleri arasında yer almaktadır. Doğal koşullarda sergileme eğilimi gösterdikleri bu doğal davranışları yapmak hayvanlar açısından memnuniyet vericidir. Doğal davranışlar biyolojik işleyişi de teşvik etmektedir. Bu nedenle başarılı bir şekilde hayvan refahını değerlendirebilmek için doğal davranış ihtiyaçları dikkate alınmalıdır. Dolayısı ile çiftlik hayvanlarının refah gereksinimleri sadece yem, su ve termal konfordan ibaret değildir (Bracke ve Hopster 2006, Dawkins 2004).

### **Çiftlik Hayvanlarında Refah Değerlendirmesi İçin Kullanılan Bilimsel Yöntemler**

Bir hayvanın refahını değerlendirebilmek için iki temel sorunun yanıtlanması gerekmektedir. Bu sorulardan ilki olan “ Hayvanlar sağlıklı mı?” sorusu çevrenin hayvan üzerinde oluşturduğu fizyolojik stres, yaralanma ve hastalıklar ile sergilenemeyen doğal davranışlar izlenerek cevaplanabilir. İkinci soru olan “Hayvanlar istediklerine sahip mi?” sorusu ise

hayvanların tercihlerinin ne olduğu veya uzak durmak istediği obje veya durumların hangileri olduğunu değerlendirilerek yanıtlanabilir (Dawkins (2004).

### **“Hayvanlar Sağlıklı Mı?”**

Hayvanlarda refahın sağlanması için hayvanın sağlıklı ve zinde olması şarttır. Stres fonksiyonel sistemlerde denge halinin bozulmasına neden olurken hastalıklar hayvan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Stres ile başa çıkmaya çalışan bir hayvanda metabolizma olumsuz etkilenmektedir. Stres faktörüne karşı verilen homeostatik yanıtın bir parçası olarak, homeostasis için anahtar role sahip olan bir hormonun salınımında düşüş ya da artış meydana gelmektedir (Moberg 2000, Etim ve ark 2013a, 2013b, Smith ve Dobson 2002). Stres uyarımı tarafından nöroendokrin sistem etkilendiğinde adrenal korteksten salınan glukokortikoidler ile adrenal medulladan salınan epinefrin gibi stres hormonlarının düzeyi hayvanlarda refahın değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (Dobson ve Smith, 2000; Etim ve ark 2013b).Dobson ve Smith (2000) stres altında iken salınan steroid hormon miktarı ile stres uyarıcısının şiddeti arasında anlamlı bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Ayrıca hipotalamus-hipofiz-adrenal aksın (HPA) etkilediği karbonhidrat ve protein metabolizmalarındaki değişimler de refah değerlendirilirken kullanılmaktadır.

Sağlıklı ve zinde olmayan hayvanlarda immun sistem olumsuz etkilenmektedir. Hayvanlara yapılan aşılarla karşı meydana gelmiş olan immun yanıtın düzeyi takip edilmektedir. Böylece immun sistemin ideal formda çalışıyor olması ile hayvanın refahının da iyi olduğu yönünde değerlendirme yapılmaktadır. Bozkurt ve ark.(2015) yüksek barındırma sıklığı altında yetiştirilen broiler tavuklarda antioksidan kapasitenin ve immun yanıtın baskılandığını ve hayvanlarda zindeliğinin olumsuz etkilendiğini bildirmiştir.

Çiftlik düzeyinde hayvan refahının değerlendirilmesi amacıyla sığır, kanatlı, domuz, koyun, keçi ve atlar için bazı spesifik refah değerlendirme protokolleri önerilmiştir. Bu refah değerlendirme protokolleri çiftlikte hayvanlara sağlanan barındırma ve bakım koşulları ile hayvan idaresiyle ilgili tüm uygulamaların hayvanlar üzerinde meydana getirdiği sağlık problemlerine ilişkin ölçümler içermektedir. İzlenen metot hayvanın tüm vücudunun klinik değerlendirmesinin yapılmasını, bacaklarda ve baş bölgesindeki klinik lezyonların tespit edilmesini içermektedir. Bu kapsamda deri lezyonları, koroner bant yangısı, eklem lezyonları, bursitis ve topallık gibi ayak ve bacak lezyonları, kanatlılarda metatarsal bölgede ve ayak tabanında dermatitis, koyunlarda meme lezyonları ve atlarda yüz ifadesi skoru kullanılmaktadır. Refah değerlendirme



protokollerinde ayrıca öksürük, anormal nefes alma, burun ve göz akıntısı, kıl örtüsünde düzensizlik ve vücut kirliliği, ishal ve ölüm oranı gibi klinik parametreler de kullanılmaktadır (Welfare Quality 2009, Anonim 2015, Gottarda ve ark. 2009). Bu kapsamda *Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA)*'nin desteği ile geliştirilmiş olan Welfare Quality Projesinin refah değerlendirme protokolleri (besi ve süt inekleri, yumurtacı ve broiler tavuklar ile domuzlarda refah değerlendirmesi için hazırlanan protokoller) üzerindeki uzlaşma Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü'nün de desteği ile giderek yaygınlaşmaktadır (EFSA 2012). Hayvanların geçirdiği hastalıklar ile hali hazırda taşıdıkları yaralar da değerlendirmede kullanılmaktadır. Özellikle yoğun üretim sistemlerinde yaygın pratik yetiştirme uygulamaları olan boynuz ve kuyruk ampütasyonları, kastrasyon, diş ve gaga kesimi gibi uygulamaların hayvanların refahı üzerinde oluşturduğu etkileri değerlendirmek için klinik ve davranışsal bulgular kullanılmaktadır. Sürüde hastalık insidansı (mastitis, ayak hastalıkları ve metabolik hastalıklar gibi) morbidite ve mortalite oranları da çok önemli bulgular olarak değerlendirilmektedir (Hemsworth ve ark. 2015, Duncan ve Dawkins 1983, Fraser 2003, Sejian ve ark 2011).

Sergilenemeyen doğal davranışlar hayvanda zindeliğin sürdürülmesini olumsuz etkilemektedir. Hayvanda doğal davranışlar için hissedilen ihtiyacın karşılanması bakımından tatmin olma veya mahrum olma durumunun bilimsel olarak değerlendirilmesi yapılmakta, bu kapsamda davranış parametrelerinin yoğunluğu, miktarı ve süresi ölçülmektedir (Boissy ve ark.2007, Dawkins 2004, Etim ve ark. 2013c).

### ***“Hayvanlar istediklerine sahip mi?”***

Hayvanlar istediklerine sahip mi sorusuna cevap bulmak için en çok kullanılan metotlardan ilki seçim ve tercih testleridir. Bu testler hayvanın seçim ve tercihinin doğrudan ölçülmesini hedeflemektedir (Fraser 2008, Fraser ve Nicol 2011). İkinci metot ise hayvanın içinde bulunmak veya uzaklaşmak istediği durumların incelenmesidir. Hayvanın bulunmak veya uzaklaşmak istediği iki pozisyon arasında hayvanın sergilediği davranışlar arasındaki farklılara bakarak onların neyi isteyip neyi istemediği değerlendirilmektedir (Dawkins 2004).

Tercih testlerinde bir hayvana sunulan seçeneklere karşı o hayvanın gösterdiği tercih kararlılığının düzeyi veya hayvanın belirli bir davranış türünü gerçekleştirmek için gösterdiği motivasyon düzeyi ölçülmektedir. Tercih testinde hayvanın bir davranışı yapmaya ne kadar meyilli olduğu pozitif refah durumu ile ilişkilidir. Negatif refahın tespitinde ise hayvanın bağlı ya da kapalı tutulması ile meydana gelen engellenmenin veya mahrumiyetin hayvanda oluşturduğu etkinin düzeyi ölçülmektedir ve bunun

için hayvanın sergilediği anormal davranışların ve saldırganlığın miktarından yararlanılmaktadır. Ancak duyguların değerlendirilmesinde kullanılan davranış testlerinin geçerliliği bakımından halen bazı sorular bulunmaktadır. Bu sorular yönünden, günümüze kadar en çok kullanılmış olan tercih testi aşağıda tartışılmıştır (Bracke ve Hopster 2006, Welfare Quality, 2009).

Tercih testleri için ilk itiraz tercih testi sonuçlarının test edilen hayvanın önceki deneyimlerinden etkilenebileceği konusunda yapılmıştır. Bu itiraz kesinlikle geçerli olmakla birlikte, biyolojinin diğer dallarında da olduğu gibi, benzer deneyimlere sahip hayvanların teste birlikte alınması ya da tercih testinde deneysel değişken olarak önceki deneyimlerin kullanılması da mümkündür (Forkman ve ark. 2007, Dawkins 2004). İkinci itiraz tercih testinin sonuçlarının sadece göreceli bilgi verebilmesine ilişkin yapılmıştır. Test sonuçlarının yorumlanması oldukça zordur. Bir hayvanın aslında daha az tercih etmiş olduğu bir şeye zorlanması (iki çeşit yem arasından daha az tercih ettiği yemin hayvana verilmesi gibi) o hayvanın refahlarının kötü olacağı anlamına gelmezken, hayvan açısından olumsuz olan iki durum arasında yapılan tercih kötünün iyisini seçmek anlamına geldiğinden o hayvanın refahının iyileştiğini göstermemektedir (Danbury ve ark. 2000). Üçüncü itiraz tercih testine tabi tutulan hayvanların birden fazla seçeneği tercih edebilmelerine ilişkin yapılmıştır. Birden fazla seçenek tercih edildiğinde seçenekler arasında hangisinin daha düşük oranda seçilmiş olduğunu değerlendirmek oldukça güçtür. Çünkü seçeneklerden iyi olanını hayvanların tamamının seçmesi beklenirken düşük oranda da olsa bazı hayvanların diğer seçeneği tercih etmiş olması seçeneklerden birisinin kesinlikle kötü olduğunu göstermemektedir (Duncan 2005, Renema ve Robinson 2004). Diğer bir itiraz da tercih testi sonuçlarının kısa ve uzun vadeli olarak hayvan refahı açısından değerlendirilmesindeki güçlüklerdir. Yani hayvanların seçenekler arasında yaptıkları tercihler onların kısa ve uzun vadeli refahını iyileştirmeyebilir. Örneğin, broiler damızlıklarının sürekli yem yeme yönünde yaptıkları tercih hayvanların kısa vadeli refahını yükseltir. Ancak hayvanların yaptıkları bu tercih yağlanmaya bağlı sağlık sorunları, kondüsyon kaybı ve hastalık oranındaki artış nedeniyle onların uzun vadedeki refahını düşürmektedir (Duncan 2005, Renema ve Robinson 2004, Mench ve Falcone 2000). Ayrıca hayvanların yaptıkları tercihler onların sakkarin gibi besleyici olmayan maddelere veya alkol ve nikotin gibi bağımlılık yapan maddelere yönelmelerine de neden olabilir ( Fraser ve Broom1990).

Yukarıda sayılan önemli problemlere rağmen tercih testinin bilgilendirici olduğuna hiç şüphe yoktur (Fraser 2008). Ancak hayvanların sergiledikleri tercihler ile onların iç dünyasındaki gerçek durumu

ifade eden refahı arasındaki bağlantıları açıkça ortaya koyabilmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Hayvanın yapmış olduğu bir seçim onun refahını etkilemeyebilir veya hayvanın refahını etkilemeyen bir seçim konusunda hayvan çok zorlanabilir. Hayvanın tercihini yapmada ne kadar zorluk çektiği ya da diğer bir ifade ile tercihinin ulaşmak için ödediği maliyeti (hayvanın motivasyonu) ölçmek için sıklıkla edimsel koşullanma teknikleri de kullanılmaktadır. Bu amaçla engel testi de kullanılmaktadır. Engel testinde hayvanların tercihlerine ulaşması için bir engel konur ve hayvanın bu engeli aşması beklenir. Örneğin hayvanın tercihinin ulaşması için araya konulan ağır bir kapıyı ittirerek bu engeli aşması ve tercihinin ulaşması gerekir (Duncan ve Kite 1987).

Hayvanların neyi istedikleri kadar neyi istemedikleri de önemlidir. Hayvanın refahının onun istemediği şey ya da durumdan olumsuz etkilenmesi kaçınılmazdır. Bu nedenle hayvan refahının değerlendirilmesi için geliştirilen diğer önemli testler korku testleridir. Korku testi ile bir hayvanın bulunmak istemediği bir yer veya uzaklaşmak istediği bir durum ortaya konulmaktadır. Kendisini rahatsız eden bir duruma karşı hayvanın gösterdiği korku davranışı veya hayvanın bulunmak istemediği bir yerden uzaklaşmak için sergilediği davranışlar takip edilmektedir (Duncan 2005, Duncan ve Dawkins 1983, Hughes ve Black 1973). Çiftlik hayvanlarında refahın değerlendirilmesi amacıyla geliştirilen korku testlerinden birisi yabancı alan testidir. Yabancı alan testinde hayvanın türüne göre değişen genişlikte ve etrafı yüksek duvarlarla çevrili bir test alanı kullanılmaktadır. Test alanında belirli süre kalan hayvanlarda hareketsiz kalınan süre, durma ve yürüme gibi lokomotor aktiviteler ile bağırma, kaçma ve keşif davranışı gibi bazı davranışların sayısı ve sıklığı değerlendirilmektedir (Forkman ve ark. 2007).

Sığır, koyun, keçi, domuz, at, tavuk ve bıldırcınlarda refahın değerlendirilmesi için kullanılan diğer bir test de yabancı cisim testidir. Test alanına yabancı cisim bırakılmakta, alana gelen ve yabancı cisim ile ilk kez karşılaşan hayvanlarda bu cisme karşı gösterilen reaksiyon, ilgi veya korku tepkisi incelenmektedir. Yabancı cisim ile temasın gecikmesi veya cisim ile temasın sıklığı ve süresi, hayvan ile yabancı cisim arasında bırakılan mesafe, koklama ve itirme gibi keşif davranışlarının sıklığı, bağırma sıklığı ve hayvanın duruş pozisyonu gibi bazı parametreler değerlendirilmektedir. Koyun ve keçilerde en sık kullanılan insan korku testinde sabit duran veya hareket eden cisimlere veya insana yaklaşma isteğinin durumu değerlendirilmektedir (Duncan 2002, Forkman ve ark. 2007). Domuzlarda sıklıkla kullanılan kısıtlama testinin (diğer adı ile arka testi) uygulanışı ile kanatlılarda en sık kullanılan korku testlerinden birisi olan tonik immobilitate testinin uygulanışı çok benzerlik göstermektedir. Her iki testte de masa veya zemin üzerine sırtüstü yatırılarak

hayvanın sabit ve hareketsiz kalması sağlanmaktadır. Hayvanın hareketsiz kalmasını sağlamak için ise ya hayvanın göğsü üzerine hafif bir ağırlık konmakta veya arka ayaklarına hafif bir baskı uygulanmaktadır. Hareketsiz pozisyondaki hayvan daha sonra serbest bırakılmakta ve hayvanın hareketleri izlenmektedir. Hayvanın hareketsiz kaldığı süre ölçülmekte veya sergilediği korku davranışları değerlendirilmektedir (Forkman ve ark. 2007). Domuzlarda geliştirilen diğer korku testleri de yükseltilmiş artı labirent testi ve aydınlık/karanlık tehlike testidir (Duncan ve Dawkins 1983, Duncan 2002). Çiftlik hayvanlarının taşınması, tartımı veya tedavi edilmesi gibi nedenlerle hayvanlar sık sık yakalanmaktadır. Oldukça fazla stres oluşturan bu işlemler sırasında meydana gelen rahatsızlık ve gürültüden kaynaklanan korku ile bakıcıdan kaynaklanan korkunun değerlendirildiği bir başka test ise kullanma testidir. Bu testte hayvan idaresinin veya hayvan naklinin kolaylığı yanı sıra motor aktivite skoru veya bağırma skoru gibi parametreler değerlendirilmektedir (Duncan 2005). Çiftçi ve hayvan bakıcılarının pratik yetiştirme uygulamaları sırasında hayvanlar ile sağladıkları etkileşimler hayvan refahının değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Hayvanların çiftlik personeline gönüllü yaklaşma mesafesi veya kaçınma mesafesi değerlendirmede kullanılmaktadır. Bu noktada hayvanlar ile temas halinde bulunan çiftçi ve hayvan bakıcılarının hayvan refahı algı ve tutumları da konunun diğer boyutunu oluşturmaktadır. Çünkü hayvan ve hayvan refahına ilişkin tutumlar demografik özellikler, eğitim, geçmiş deneyimler gibi pek çok faktör tarafından etkilenmektedir (Kılıç ve Bozkurt 2013). Kılıç ve ark. (2013) hayvan refahı algısı ile koyun yetiştiricilerinin çiftliklerinde sağladıkları refah standartları arasında ilişki olduğunu görmüştür. Bu nedenle hayvan refahını etkileyen çevresel faktörlerden çok önemli bir tanesini insan-hayvan etkileşimleri oluşturmaktadır. Nitekim son yıllarda konunun üzerinde daha fazla durulmaktadır (Hemsworth ve Coleman 2011).

Genel olarak değerlendirildiğinde hayvanın kendisi için olumlu olan bir şey için seçim yapması veya istediği bir maddeye erişmek için sarf ettiği gayretin değerlendirildiği testlerin hayvanın çevresindeki rahatsız edici şeylerden veya durumlardan kaçınmasının değerlendirildiği testlere göre daha anlamlı sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Dawkins 2004, Fraser ve Nicol 2011, Duncan 2005). Davranış testlerinin daha fazla çalışıldığı kanatlılarda tonik immobilitate testi, yabancı alan testi, yabancı cisim testi, tehlike testi ve insana yaklaşma testi arasındaki ilişki düzeyi yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar grup davranış testlerinin geçerliğini de yükseltmektedir (Duncan 2002, Forkman ve ark. 2007).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Hiç şüphe yok ki hayvan refahı hayvan tarafından hissedilen ızdırabın ortadan kaldırılması veya azaltılması ile doğrudan ilişkilidir. Ancak hayvan refahı, hayvanın sadece ızdırıp duymaması veya zinde olmasından daha öte bir durumdur. Genel olarak fizyolojik stres yanıtı gösteren hayvanlarda refah seviyesi kötü, önemli bir stres yanıtı görülmeyen hayvanlarda ise refah seviyesi iyi olarak yorumlanmaktadır (Bryant, 1972, Duncan 2005, Rushen, 1986). Ancak, bu varsayımlar her zaman doğru olmayabilir. Bazen sıkıntılı gibi görünen hayvanlarda hiç bir stres yanıtı görülmebilir bazen de ödüllendirici bir faaliyet içindeki hayvanlarda bile stres yanıtı görülebilir (Rushen 1986). Bu nedenle, sadece fizyolojik stres yanıtlarının refah değerlendirmesinde yeterli olabileceği görüşlerinin güçlü olmadığı vurgulanmaktadır (Rushen 1986, Whitten ve ark.1998).

Hayvanların değişen çevre ile karşı karşıya kaldığı zorluk ile "başa çıkma" kavramı da net olarak ortaya konamamıştır. Kelimenin yalın anlamından hayvanın çevreye adaptasyon sağlayamaması durumunda refahın kötüleşeceği ve hiçbir şey düzeltilmez ise zorluk ile başa çıkamayıp öleceği çıkarımı yapılabilir (Lazarus ve Folkman 1984). Bununla birlikte bu çıkarımın tersi de doğru olmayabilir. Bu noktada, hayvanın zorlukla başa çıkabilmesi (uyum sağlayabilmesi) veya başa çıkamadığı için zorluk çekiyor olması ile bir hayvanın refahı konusunda net bir sonuca varmak mümkün değildir. Örneğin, kalça lezyonu bulunan hindilerin normalden daha uzun süre oturarak ağrıya uyum sağlama çabası hissedilen ağrı ile "başa çıkma" olarak yorumlansın veya yorumlanmasın hayvanların hali hazırda refahının düşük olduğu çok açıktır (Duncan 2005). Bundan başka hayvanların kendi aralarında meydana gelen sosyal etkileşimlere bağlı olumlu ve olumsuz fizyolojik değişimlerin ayırt edilmesindeki güçlükler (domuzlarda kuyruk ısırma gibi), hipotalamus-hipofiz-adrenal aktivitesindeki bireysel varyasyon ve glukokortikoid tipi bakımından tür farklılıkları gibi diğer problemler de halen geçerliliğini korumaktadır (Friend ve ark 1983). Ayrıca hayvandaki fizyolojik stresin değerlendirmesini yapmak için hayvanlardan kan alma veya elektrotların bağlanması gibi işlemler stresi daha da arttırmaktadır (Shutt ve ark.1987). Bu metotlar yerine günümüzde kalp atış hızı ve kan basıncı gibi fizyolojik değişkenlerin uzaktan kayıt edilmesi amacıyla radiotelemetrik yöntemler denenmekte ve tükürük, idrar veya dışkıdan glukokortikoid ölçümlerinin yapılması için metotlar geliştirilmektedir (Amlaner ve MacDonald 1980, Rushen 1986, Whitten ve ark.1998).

Hayvanlara uygulanan yönetimsel işlemler (yetiştirme uygulamaları) ve hayvanın içinde bulunduğu çevrenin özellikleri onun refahını etkileyebilecek olsa da, hayvan refahı hayvanın içinde meydana gelen bir

durumdur. Bir hayvanın refahının etkilenebilmesi için hayvan hissedebilmelidir yani sınırlardaki impulsları deneyimli duymalara dönüştürebilecek yeterli fonksiyonel gelişmişliği olan bir beyne sahip olmalıdır (Mellor ve ark 2009). Alınan impulslar beyin tarafından türe özgü bir şekilde ve hayvanın bireysel doğası ile geçmiş deneyimlerine göre yorumlanmaktadır. Bu deneyimlerin çoğu bireyin hayatta kalmasında çok kritik olan ve dolayısı ile uzun vadeli refah etkileri meydana getiren davranışların sergilenmesi için hayvanları motive etmektedir (Fraser ve Duncan 1998, Hemsworth ve ark. 2015).

Negatif duygusal durumu değerlendirmek için fizyoloji ve davranışlara dayalı bazı metotlar geliştirilmiş ise de pozitif duygu durumunu değerlendirmek için henüz hatırı sayılır metotlar geliştirilememiştir (Boissy ve ark. 2007, Mendl ve ark. 2009). Hayvanların deneyimliyor olabilecekleri olumlu duyguların değerlendirilmesi için geçerli metotların geliştirilmesi amacıyla hayvanların ödüllendirildikleri durumlarda sergiledikleri davranışlar ile bağlantılı nörobilim kanıtların incelenmesine devam edilmektedir (Hemsworth ve ark. 2015, Wemelsfelder ve Mullan 2014). Negatif duyguların hayvanların "iyi olma" halleri için "ihtiyaç" duydukları davranışları yapamadıklarında meydana geldiği (bir yırtıcı yaklaştığında kaçmak gibi) bildirilmektedir. Pozitif duyguların ise bir "fırsat durumunu" değerlendirmek için gerekli olan bir davranış (hayvanlar temel ihtiyaçlarını karşıladıklarında veya bir davranışın yapılmasının hayvan için maliyetinin düşük olduğunda durumlarda ) motive etmek için meydana geldiği kaydedilmiştir (oyun oynama, birbirini tımar etme ve kanatlılarda toz banyosu gibi) (Fraser ve Duncan 1998, Duncan 2005).

Davranış, bilişsel önyargı ve fizyolojik ölçümler yanı sıra hayvanlarda duygusal deneyimlerin değerlendirilmesinde yararlanılacak olan diğer bir yaklaşım kalitatif davranış değerlendirmesi olarak isimlendirilen testlerdir ve bu testlerde davranışları gözlemleyen araştırmacıların sezgisel algısından da yararlanılmaktadır. Hayvanların seslenişlerinin (imdat çığlıkları veya alarm seslenişlerinin) izlenmesi ve ağrı çektiğinden şüphelenilen hayvanların analjezik (Duncan ve Dawkins 1983, Sutherland ve ark.1999) içeren ve içermeyen yemlerle beslenmesi sonrası davranışlarının dikkatlice incelenmesi gibi öneriler dikkate alınabilecek başka yaklaşımlardır. Ancak bugün geline nokta, hayvan refahı değerlendirmesi sadece davranış göstergelerinden yararlanılarak da yapılamaz. Çünkü hayvan davranış testlerinin geçerliliği ile ilgili önemli sorunlar bulunmaktadır (Duncan 2005). Bu alanda yapılan araştırmalar henüz çok azdır fakat hayvanlarda memnuniyet gibi pozitif duygu durumları ile refah arasındaki ilişki artık daha fazla önemsenmektedir. Çünkü hayvanların içinde bulunduğu pozitif ve

negatif duyguların onların karşılaştıkları farklı sorunları çözmek üzere gelişmiş olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak çiftlik düzeyinde hayvan refahı değerlendirilmesinin kapsamlı, geçerli ve güvenilir olabilmesi için kullanılacak metodun fizyolojik, sağlık ve davranış göstergelerini birlikte içermesi yönünde bilimsel görüşler giderek artmaktadır. Bununla birlikte içerdiği refah göstergeleri bakımından hali hazırda kullanılmakta olan refah değerlendirme yöntemleri arasında geniş bir varyasyon olduğu görülmektedir. Bu nedenle tüketicinin korunması, kalite standartları ve uluslararası ticaret gibi gıda sektörünün yasal ve etik yükümlülükleri ile ilgili geliştirilecek stratejilerin başarısı açısından küresel olarak standardize edilmiş çiftlik düzeyinde refah değerlendirme metodlarına ihtiyaç bulunduğu görülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Amlaner CJ, MacDonald DW** (eds). A handbook on Biotelemetry and Radio Tracking. Pergamon Press, Oxford, 1980.
- Anonim**. AWIN Welfare Assessment Protocol For Sheep. Milan, Italy. 2015.
- Barnett JL, Hemsworth PH**. Welfare monitoring schemes: using research to safeguard the welfare of animals on the farm. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 2009; 12: 114–31.
- Bizeray D, Estevez I, Leterriera C, Faurea JM**. Effects of increasing environmental complexity on the physical activity of broiler chickens. *Applied Animal Behaviour Science* 2002; 79(1):27-41.
- Blokhuis HJ, Jones RB, Geers R, Miele M, Veissier I**. Measuring and monitoring animal welfare: transparency in the food product quality chain. *Animal Welfare* 2003; 12 (4): 445-455.
- Boissy A, Manteuffe G, Jensen MB, Moe RO, Spruijt B, Keeling LJ, Winckler C, Frokman B, Dimitrov I, Langbein J, Bakken M, Veissier I, Aubert A**. Assessment of positive emotions in animals to improve their welfare. *Physiology and Behaviour* 2007; 92: 375-97.
- Bozkurt Z, Bülbül T, Bozkurt MF, Bülbül A, Maralcan G, Çelikeloğlu K**. Sıklığa maruz bırakılmış broilerlerde rasyona organik ve inorganik mangan ilavesinin kemik özellikleri, aşılara karşı immun yanıt ve oksidatif stres durumuna etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2015; 21: 623-630.
- Bracke MBM, Hopster H**. Assessing the importance of natural behavior for animal welfare. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 2006; 19 (1): 77.
- Broom DM**. Indicators of poor welfare. *British Veterinary Journal* 1986; 142:524-526.
- Broom D, Johnson K**. *Stress and Animal Welfare*. Chapman and Hall, London, 1993.
- Bryant MJ**. The social environment: behaviour and stress in housed livestock. *Vet.Rec.* 1972; 90 (22):351-359.
- Curtis SE**. Animal well-being and animal care. *Vet. Clin. N. Anim.(Food Anim. Pract.)*1987; 3(2):369-382.
- Danbury TC, Weeks CA, Chambers JP, Waterman-Pearson AE, Kestin SC**. Self-Selection of the analgesic drug carprofen by lame broiler chickens. *Vet.Rec.* 2000; 246(11):301-311.
- Dawkins MS**. Using behaviour to assess animal welfare. *Animal Welfare* 2004; 13:S3-7.
- Dobson H, Smith RF**. What is stress and how does it affect reproduction?. *J.Reprod.Fert.Animal Reproduction Science*. 2000;60-61:743-752.
- Duncan IJH**. Poultry welfare: Science or subjectivity?. *Br.Poult.Sci.* 2002; 43(5):643-652.
- Duncan IJH**. Science-based assessment of animal welfare: farm animals. *Rev.sci.tech.Off.int.Epiz.* 2005; 24(2):483-492.
- Duncan JJH, Dawkins MS**. The Problem of Assessing “Well-Being” and “Suffering” in Farm Animals. In: *Indicators Relevant to Farm Animal Welfare*. Springer Netherlands, 1983. p. 13-24.
- Duncan IJH, Kite VG**. Some investigations into motivation in the domestic fowl. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1987; 18(3-4), 387-388.
- EFSA**. Guidance on Risk Assessment for Animal Welfare. EFSA Panel on Animal Health and Welfare. *EFSA Journal* 2012; 10(1):2513.
- Estevez I, Keeling LJ, Newberry RC**. Decreasing aggression with increasing group size in young domestic fowl. *Applied Animal Behaviour Science* 2003; 84:213-218.
- Etim NN, Offiong EEA, Eyoh GD, Udo M.D**. Stress and animal welfare and uneasy relationship. *European Journal of Advanced Research in Biological and Life Sciences*. 2013a;1(1):9-16.
- Etim N N, Evans EI, Offiong EEA, Akpabio U**(Forthcoming). Endocrine system: indicators of stress and a means of evaluating animal welfare. *European International Journal of Science Technology* 2013b; 2(9):141-148.
- Etim NN, Williams ME, Evans EI, Offiong EEA**. Physiological and behavioural responses of farm animals to stress: implications for animal productivity. *American Journal of Advanced Agricultural Research* 2013c; 1(2): 53-61.

- Forkman B, Boissy A, Meunier-Salaün MC, Canali E, Jones RB.** A Critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology and Behaviour* 2007; 92:340-374.
- Fraser D.** Assessing animal welfare at the farm and group level: The interplay of science and values. *Animal Welfare* 2003; 12 :433-443.
- Fraser D.** *Understanding Animal Welfare: The Science in its Cultural Context.* Wiley-Blackwell, Chichester, West Sussex, UK, 2008.
- Fraser AE, Broom DM.** *Farm Animal Behaviour and Welfare.* 3rd Ed. Bailliere Tindall, London 1990.
- Fraser D, Duncan IJH.** Pleasures, pains and animal welfare: toward a natural history of affect. *Animal Welfare* 1998; 7(4): 383-396.
- Fraser D, Nicol CD.** Preference and motivation research. *In:* Appleby MC, Mench JA, Olsson IAS, Hughes BO (eds). *Animal Welfare.* CAB International, Oxon, UK, 2011; pp:183-99
- Fregonesi JA, Leaver JD.** Behaviour, performance and health indicators of welfare for dairy cows housed in strawyard or cubicle systems. *Livest. Prod. Sci.* 2001; 68: 205-216.
- Friend T, Knabe D, Tanksley T.** Behavior and performance of pigs grouped by three different methods at weaning. *Journal of Animal Science* 1983; 57: 1406–1411.
- Gottarda F, Brscic M, Contiero B, Cozzi G, Righette I.** Towards the creation of a welfare assessment system in intensive beef cattle farms. *Ital.J.Anim.Sci.*2009; 8(1):325-342.
- Grandin T.** Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science,* 1997; 1(15):249-257.
- Green TC, Mellor DJ.** Extending ideas about animal welfare assessment to include ‘quality of life’ and related concepts. *New Zealand Veterinary Journal* 2011;59:263–71.
- Hemsworth PH, Coleman GJ.** *Human-Livestock Interactions: The Stockperson and the Productivity and Welfare of Farmed Animals.* 2nd Edtn. CAB International, Oxon, United Kingdom, 2011.
- Hemsworth PH, Mellor DJ, Cronin GM, Tilbrook AJ.** Scientific assessment of animal welfare. *New Zealand Veterinary Journal* 2015; 63(1):24-30.
- Hudges BO, Black AJ.** The preference of domestic hens for different types of battery cage floor. *Br.Poult.Sci.* 1973; 14(6): 615-619.
- Hurnik JE, Lehman H.** Ethics and farm animal welfare. *J.agric.Ethics* 1998; 1(4):305-318.
- Kaltas GA, Chrousos GP.** The Neuroendocrinology of Stress. *In:*Cacioppo TJ, Tassinary LG, Berntson GG (eds).*Handbook of Psychophysiology,* 2007;Cambridge University,Cambridge, UK. Pp.303-318.
- Kılıç İ, Bozkurt Z.** The relationship between farmers’ perceptions and animal welfare standards in sheep farms. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 2013; 26(9):1329-1313.
- Kılıç, İ, Bozkurt Z, Tekerli M, Koçak S, Çelikeloglu K.** Afyonkarahisar ili koyunculuk işletmeleri çalışanlarının hayvan refahını etkileyen faktörlerle ilgili algıları. *Lalahan Hay. Arast. Enst. Derg.* 2013; 53 (1):29-38.
- Lazarus RS.** From physiological stress to the emotion: A history of changing outlooks. *Annu. Rev. in Psychiatric,*1993; 44:1-2.
- Lazarus RS, Folkman S.** *Stress, Appraisal and Coping,* Springer, New York, 1984 (In: Duncan IJH. *Science-Based Assessment of Animal Welfare: Farm Animals.* Rev.sci.tech.Off.int.Epiz.2005; 24(2):483-492.
- Leeson S, Diaz G, Summers JD.** *Poultry Metabolic Disorders and Mycotoxins.* University Books, Guelph, 1995.
- Mellor DJ.** Enhancing animal welfare by creating opportunities for positive affective engagement. *New Zealand Veterinary Journal* 2015a; 63:3-8
- Mellor DJ.** Positive welfare states and encouraging environment-focused and animal-to-animal interactive behaviours. *New Zealand Veterinary Journal* 2015b; 63:9-16.
- Mellor DJ.** Positive animal welfare states and reference standards for welfare assessment. *New Zealand Veterinary Journal* 2015c; 63:17-23.
- Mellor DJ, Patterson-Kane E, Stafford KJ.** *The Science of Animal Welfare.* Wiley-Blackwell Publishing, Oxford, United Kingdom, 2009.
- Mench JA, Falcone C.** Welfare concerns in feed-restricted meat-type poultry parent stocks. *Proc. 21st World’s Poultry Congress, 20th-24th August, 2000; Montreal, Paper S3.3.03.* World’s Poultry Science Association.
- Mendl M, Burman OHP, Parker RMA, Paul ES.** Cognitive Bias as an indicator of animal emotion and welfare: emerging evidence and underlying mechanisms. *Appl Anim Behav Sci.* 2009; 118(3–4):161–181.
- Moberg GP.** Biological response to stress: Implications for animal welfare. *In* Moberg GP, Mench GA (eds).*The Biology of Animal Stress; Basic Principles and Applications for Animal Welfare,* CABI publishing Wallingford, EK, 2000, pp:1-21.
- Mormede P.** Stress and welfare: A psychoendocrine perspective. *Neurogenetique et Stress.* 2000 Insermna.
- Naturanimal.** Stress and animals.2012; Available at: [www.naturanimals.com/stress-and-animals](http://www.naturanimals.com/stress-and-animals).

- Panksepp J.** Affective consciousness: Core emotional feelings in animals and humans. *Consciousness and Cognition*. 2005;14: 30–80.
- Perkins J, Bartlett H, Travers C, Rand J.** Dog-assisted therapy for older people with dementia: A review. *Australas. J. Ageing* 2008; 27, 177–182.
- Pettit-Riley R, Estevez I, Russek-Cohen, E.** Effects of crowding and access to perches on aggressive behaviour in broiler. *Applied Animal Behaviour Science* 2002; 79:11-25.
- Ralph, CR, Tilbrook AJ.** Invited review: The usefulness of measuring glucocorticoids for assessing animal welfare. *Journal of animal science* 2016; 94 (2): 457-470.
- Renema RA, Robinson FE.** Defining normal: Comparison of feed restriction and full feeding of female broiler breeders. *World's Poultr. Sci. J.* 2004;60(4), 508-522.
- Rushen J.** Problems associated with the interpretation of physiology data in the assessment of animal welfare. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 1986; 28(4):381-386.
- Sejian V, Lakritz J, Ezeji, T, Lal, R.** Assessment methods and indicators of animal welfare. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2011; 6(4):301-315.
- Shutt, DA, Fell LR, Correll R, Bell AK, Wallace CA, Smith AI.** Stress induced changes in plasma concentrations of immunoreactive B-endorphine and cortisol in response to routine surgical procedures in lambs. *Australian Journal of Biological Science*, 1987; 40:97-103.
- Smith RF, Dobson H.** Hormonal interactions within the hypothalamus and pituitary with respect to stress and reproduction in sheep. *Domest Anim Endocrinol.* 2002; 23(1-2):75-85.
- Sutherland MA, Mellor DJ, Stafford KJ, Gregory NG, Bruce RA, Ward RN, Todd SE.** Acute cortisol response of lambs to ring castration and docking after the injection of lignocaine into the scrotal necker testes at the time of ring application. *Aust. Vet. J.* 1999; 77(11):738-741.
- Turner AI, Keating C, Tilbrook AJ.** Sex differences and the role of sex steroids in sympatho-adrenal medullary system the hypothalamo-pituitary adrenal axis responses to stress. In: S. M. Kahn, editor, *Sex steroids*. Tech Publishing, Rijeka, Croatia. 2012; p. 115–136.
- WelfareQuality®.** WelfareQuality Assessment Protocols (for Cattle, Calf, Poultry and Pig). WelfareQuality® Consortium: Lelystad, the Netherlands, 2009.
- Wemelsfelder F, Mullan S.** Applying ethological and health indicators to practical animal welfare assessment. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 2014, 33 (1):111-120.
- Whitten PL, Brockman DK, Stavisky RC.** Recent advances in non-invasive techniques to monitor hormone-behavior interactions. *Yearbook phys. Anthropol.*, 1998; 41(1), 1-23.

## Melez Irk Bir Köpekte Yalancı Erkek Hermafrodizm Olgusu

Duygu BAKI ACAR

*Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar/TÜRKİYE*

Corresponding author e-mail: dbakiacar@aku.edu.tr

### ÖZ

Sunulan olguda, ovaryohisterektomi isteği ile kliniğimize getirilen 1 yaşlı köpekte saptanan yalancı erkek hermafrodizm vakası tanımlanmaktadır. Dış genital organ muayenesinde vulva normal yapıda iken, klitoris penis benzeri bir yapıda olduğu tespit edildi. Klinik bulgular ışığında köpekte hermafrodizm olgusundan şüphelenildi. Ovaryohisterektomi ile alınan dokuların histopatolojik olarak incelenmesi sonucu, gonadlarda nispeten küçük çaplı seminifer tubuller gözlenirken, bazal membranlarının hafif derecede kalınlaştığı saptandı. Seminifer tubullerde yalnızca Sertoli hücreleri bulunurken, germ hücrelerine rastlanılmadı. Leydig hücrelerinin sayısının nispeten arttığı, hafif fibrozis varlığı saptandı. Sonuç olarak, köpeklerde çok nadir olarak rastlanan erkek yalancı hermafrodizm olgusunun bazı durumlarda hayvan sahibinin gözünden kaçabileceği, özellikle yavru elde edilmesi istenen damızlık köpeklerin, infertilite nedeni olan hermafrodizm gibi doğumsal anomaliler açısından da dikkatli gözlemlenmesi gerektiği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Köpek, Yalancı erkek hermafrodizm

## A Male Pseudohermaphroditism Case in a Cross Breed Bitch

### ABSTRACT

The present case describes a male pseudohermaphroditism in a 1-year-old bitch that was referred to our clinic for spaying. Clinical examination revealed external genitalia were those of a normal female except that the penis-like clitoris was present in the vagina. Hermaphroditism was suspected upon clinical examination. Histopathological examination of the gonads removed by ovariohysterectomy revealed seminiferous tubules characterized by poor lumen formation. Sertoli cells were observed in the tubules, but lacking spermatogenetic tissue. The number of Leydig cells was comparatively increased and there was fibrosis in the tissue. In conclusion, although the situation is exceptional in dogs, the male pseudopregnancy may escape owners' notice. The dogs should be observed carefully in respect to congenital anomalies such as hermaphroditism and defects of genital tract especially if the owner wants to breed his/her bitch.

**Keywords:** Dog, Male pseudohermaphroditism

## GİRİŞ

Köpeklerde istenmeyen kızgınlık belirtilerinin önüne geçilmesi amacıyla genellikle sahipleri tarafından kısırlaştırılmaları talep edilmektedir. Ancak köpeklerinden yavru almak isteyen hayvan sahipleri açısından infertilite büyük bir problem yaratmaktadır. İnterseksüalite olarak da bilinen hermafrodizm kromozomal, gonadal ve fenotipik cinsiyet farklılaşması döneminde meydana gelen anormalliklere bağlı olarak ortaya çıkmakta, genital organlarda defektlere yol açarak infertiliteye neden olmakta ve köpeklerde nadir olarak rastlanmaktadır (Kuiper ve Distl 2005, Dinç 2010, Kalender ve Küplülü 2013, Nak ve Kaşıkçı 2013).

Embriyonal dönemin normal cinsiyet farklılaşması sürecinde 3 önemli adım gerçekleşmelidir. Bu adımlar; i) Kromozomal cinsiyetin tanımlanması: XX veya XY cinsiyet kromozomunun oluşumu fertilizasyon sırasında meydana gelmekte ve primer germ hücresini taşıyan hücrelerin mitoz bölünmesi ile devam etmektedir. ii) Gonadal cinsiyetin gelişimi: Erken embriyonal dönemde gonadlar farklılaşmamıştır (indiferent). Eğer cinsiyet kromozomu XX ise indiferent gonad ilerleyen dönemde ovaryumlara dönüşmekte, XY ise testisler gelişmektedir. Bu dönemde testislerin gelişimi Y kromozomunda bulunan SRY gen bölgesi gibi özel faktörler tarafından kontrol edilmektedir. iii) Fenotipik cinsiyet gelişimi: Gonadların cinsiyet kromozomlarına göre ovaryum veya testislere farklılaşmasının ardından internal ve eksternal genital kanalın oluşumu başlamaktadır. Genital kanalın farklılaşması ise testislerde bulunan Sertoli hücreleri tarafından üretilen anti-Müllerian hormon (AMH) ve Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteron sayesinde olmaktadır. Gonadlar testis yönünde farklılaşmış ise AMH hormonu sayesinde Müller kanalının gelişimi durdurulmakta ve testosteron hormonunun etkisiyle Wolff kanalının gelişimi uyarılmakta, böylece erkek genital organları gelişmektedir. Ovaryumlar yönünde farklılaşma olması durumunda ise Wolff kanalının gelişimi baskılanmakta ve Müller kanalı gelişerek dişi genital kanalını oluşturmaktadır (Meyers-Wallen ve Patterson 1986, Deveci 2010, Gürler ve Kaymaz 2013). Normal cinsiyet farklılaşma sürecinin herhangi bir basamağında meydana gelen her türlü anormallik durumunda ise interseksüalite ya da hermafrodizm olarak adlandırılan gonadal cinsiyet anomalileri ortaya çıkmaktadır (Nak ve Kaşıkçı 2013).

Sunulan makalede, ovaryohisterektomi amacıyla kliniğimize getirilen melez ırk bir köpekte rastlantısal olarak saptanan hermafrodizm olgusu tanımlanmaktadır.

## OLGU ÖYKÜSÜ

Olgu materyalini ovaryohisterektomi isteği ile kliniğimize getirilen 1 yaşlı, evin bahçesinde beslenen melez ırk bir köpek oluşturmaktadır. Yapılan ilk muayenede köpeğin normal vücut kondisyonuna sahip; vücut ısısı, solunum ve nabız sayılarının referans değerler içerisinde olduğu belirlendi. Dış genital organ muayenesinde vulva normal yapıda iken, klitoris penis benzeri bir yapıda olduğu ve muayene sırasında vulvadan görülebildiği saptandı.



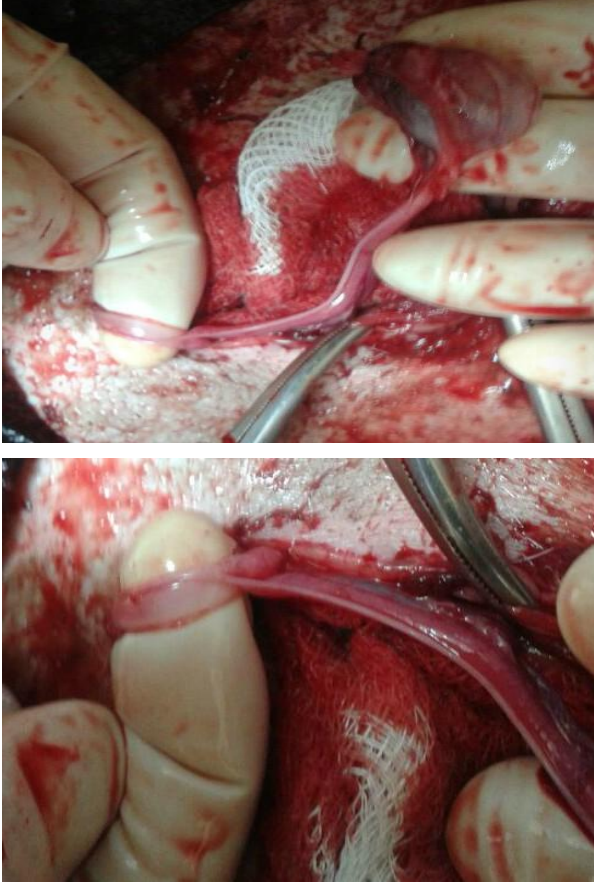
**Figür 1:** Klinik muayene sırasında belirlenen penis benzeri klitoris

**Figure 1:** Penis-like clitoris determined on clinical examination

Klinik bulgular ışığında köpekte hermafrodizm olgusundan şüphelenildi. Operasyon öncesinde serum testosteron, östrojen (E2) ve progesteron (P4) seviyelerinin tespiti amacıyla yaklaşık 10 ml kan örneği silikonlu tüplere alındı ve 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları çıkarıldı. Serum örnekleri analiz yapılana kadar -20°C'de saklandı.



Genel anestezi altında ovaryohistektomi operasyonu gerçekleştirildi. Bu amaçla köpeğe pre-anestezik olarak ksilazin (2 mg/kg i.m., Alfazyne® %2, Egevet, Türkiye) ve anestezik olarak ketamin HCl (10 mg/kg i.m., Ketamol® %10, İnterhas, Ankara, Türkiye) uygulandı. Operasyon sırasında ovaryum olduğu düşünülen gonadlardan birinin kornu uteri ve oviduktun devamı olarak normal anatomik pozisyonunda, diğerinin ise kornu uteri ile birlikte kaudale yönelmiş halde idrar kesesinin kenarında yer aldığı gözlemlendi.



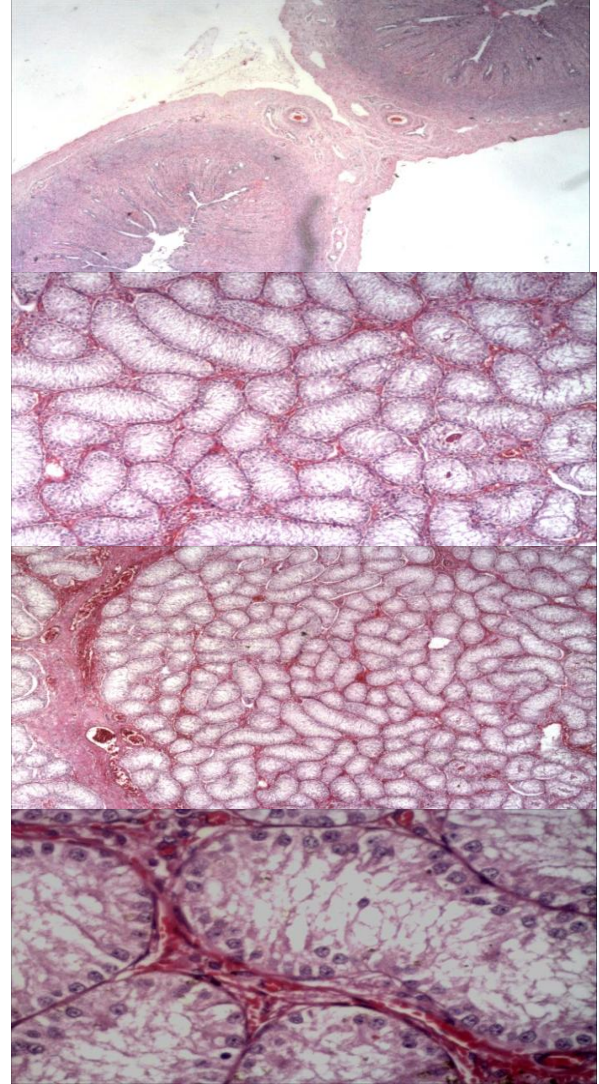
**Figür 2:** Pelvisin kaudaline yönelmiş kornu uteri ve gonad

**Figure 2:** The cornu uteri and gonad located in the caudal side of pelvis

Her iki gonad ve kornu uteriler uzaklaştırılarak ovaryohistektomi tamamlandı. Operasyon sonrası 5 gün süreyle amoksisilin-klavulonik asit (8,75 mg/kg/gün i.m., Synulox®, Pfizer, Türkiye) uygulanarak post-operatif gelişebilecek enfeksiyon ihtimali önleildi. Operasyondan sonra yapılan kontrollerde köpeğin klinik olarak sağlıklı olduğu gözlemlendi.

Alınan dokuların makroskobik incelenmesinde kornu uterilerin normal büyüklük ve yapıda olduğu ancak ovaryum olduğu düşünülen gonadların bursa ovarika ile sarılı olmadığı; sert, yuvarlak, düzgün yüzeyli ve normalden daha büyük olduğu gözlemlendi. Histopatolojik olarak incelenen gonadlarda nispeten küçük çaplı seminifer tubuller gözlemlenirken,

bazal membranlarının hafif derecede kalınlaştığı saptandı. Seminifer tubullerde yalnızca Sertoli hücreleri bulunurken, germ hücrelerine rastlanılmadı. Leydig hücrelerinin sayısının nispeten arttığı, interstisyel alanda inflamasyon olmadığı ancak hafif fibrozis varlığı tespit edildi.



**Figür 3:** Histopatolojik incelemede görüntülenen Seminifer tubuller, Sertoli ve Leydig hücreleri

**Figure3:** Seminiferous tubuls, Sertoli and Leydig cells observed in the histopathological examination

Serum örneğinden electrochemiluminescent assay (ECLIA) yöntemi ile gerçekleştirilen analizlerde P4 düzeyi 0,393 ng/ml, E2 düzeyi 325,6 pg/ml ve testosteron düzeyi ise 349,8 ng/dl olarak belirlendi.

### TARTIŞMA VE SONUÇ

Hermafrodizm gerçek ve yalancı hermafrodizm olarak ikiye ayrılmaktadır. Gerçek hermafrodizmde hem ovaryuma hem de testise ait yapılar bulunmakta, aynı zamanda genital kanal ile dış genital organlarda da dişi ve erkeğe ait oluşumlar saptanmaktadır (Hubler ve ark. 1999, Johnston ve ark. 2001, Bodvarsdottir ve ark. 2009). Yalancı hermafrodizm

(pseudohermafrodizm) ise fenotipik cinsiyet karakteri ile gonadların uyumsuz olması olarak tanımlanmakta, yalancı dişi ve yalancı erkek hermafrodizm olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Yalancı dişi hermafrodizmde her iki ovaryumu mevcut olan canlının erkek dış genital organlarına sahip olduğu dikkati çekmektedir (Johnston ve ark. 2001; Anoop ve ark. 2011, Sacks ve Beraud 2012). Yalancı erkek hermafrodizmde ise dişiye ait dış genital organlar ve çoğunlukla normalden daha büyük bir klitoris ile birlikte testis formunda gonadlar bulunmaktadır (Alam ve ark. 2007, Silversides ve ark. 2011, Gurel ve ark. 2014). Sunulan makalede köpeğin dış genital organları ve vücut yapısı bakımından dişi köpek fenotipine sahipken; klitoris normalden çok büyük ve penis benzeri bir yapıda olması, yapılan ovaryohistektomi sonrası gerçekleştirilen histopatolojik muayenede gonadların testis dokusuna ait yapılar sergilemesi nedeniyle olgunun yalancı erkek hermafrodizmi olgusu olduğu belirlendi.

Doğusal anomali olarak tanımlanan hermafrodizmin etiyojisinde anormal cinsiyet kromozomları, gebelik sırasında virilizme neden olan ekzojen hormon veya kimyasal maddeye maruz kalması, fütüste genetik mutasyonlar şekillenmesi, gebelik döneminde yaşanan şiddetli travmalar gibi faktörler rol oynamaktadır (Passello-Legrand ve Mowat 2004, Dinç 2010). Ancak olguların çoğunda hermafrodizme neden olan faktör saptanamamış ve genetik bozukluğa bağlı spontan hermafrodizm olgusu olarak tanımlanmışlardır (Kuiper ve ark. 2005; Alam ve ark. 2007, Anoop ve ark. 2011). Bu olguda, alınan anamnezde köpeğin anne ve babasında herhangi bir interseksüalite durumunun gözlenmediği, gebelik döneminde ekzojen ilaç ya da hormon uygulamasının yapılmadığı öğrenildi. Ayrıca köpeğin sahipleri tarafından bu anomalinin daha önce fark edilmediği de bildirildi. Bu nedenle hermafrodizmin yapıcı nedeni tam olarak saptanamadı ve cinsiyet farklılaşması sırasında meydana gelen kromozom anomalisine bağlı şekillenmiş olabileceği kanısına varıldı.

Köpeklerde hermafrodizmin tanısının genellikle güç olduğu bildirilmektedir. Anomali nedeniyle ortaya çıkan değişiklikler her zaman gözle görülemeyebilmekte, ayrıca çok farklı interseksüalite formları olması nedeniyle tanıda klinik, histopatolojik ve sitogenetik tanı yöntemlerinin kullanılması gerekmektedir (Kuiper ve ark. 2005). İnterseksüalitenin kesin tanısında en sık kullanılan testler arasında karyotip analizi ile Y kromozomuna spesifik bir gen olan SRY gen analizi bulunmaktadır (Kuiper ve ark. 2005, Bodvarsdottir ve ark. 2009, Gürel ve ark. 2014). Ancak klinik ve histopatolojik muayene de bu olguların tanısı hakkında fikir verebilmektedir (Anoop ve ark. 2011). Sunulan olguda, ovaryohistektomi amacıyla getirilen köpekte gerçekleştirilen klinik muayene sırasında gözlenen penis benzeri klitoris nedeniyle

hermafrodizm açısından şüphelenilmiştir. Operasyon sırasında alınan gonadlar ile kornu uterilerin histopatolojik incelemesi sonucu gonadların ovaryum yapısında değil testis yapısında olduğunun ortaya konulmasıyla yalancı erkek hermafrodizm tanısı konulmuştur.

Hayvanlarda karşılaşılan interseksüalite olgularında serum testosteron, E2 ve P4 hormonu seviyelerinin ortaya konulduğu çok az sayıda makale bulunmaktadır. Dişi hermafrodizm tanısı konan bir köpekte serum testosteron analizi sonucunun, dişi bir köpekte olması gereken normal düzeyde tespit edildiği belirtilirken (Anoop ve ark. 2011); yalancı erkek hermafrodizm tanısı konan üç adet köpeğin değerlendirildiği diğer bir makalede ise her üç köpeğin serum E2 seviyelerinin referans değerlerden yüksek, testosteron düzeylerinin ise düşük olduğu bildirilmiştir (Alam ve ark. 2005). İnsanlarda karşılaşılan interseksüalite olgularında, yüksek seviyede testosteron varlığının 5 $\alpha$ -redüktaz enziminin eksiliğine bağlı olduğu belirtilmektedir (Garfunkel ve ark. 2007). Sunulan makalede, yalancı erkek hermafrodizm tanısı konulan köpekte serum E2 ve testosteron düzeylerinin referans değerlerden çok yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle testis dokusu olduğu ortaya konulan gonadlarda bulunan Leydig hücrelerinin aktif olarak testosteron ürettiği kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak, köpeklerde nadir olarak rastlanan yalancı erkek hermafrodizm olgusu, bazı durumlarda hayvan sahipleri tarafından fark edilememekte ve tanısı rastlantısal olarak rutin muayene veya ovaryohistektomi sırasında konulabilmektedir. Özellikle yavru elde edilmesi istenen damızlık köpeklerin, infertilite nedeni olan hermafrodizm gibi doğusal anomaliler açısından da dikkatli gözlemlenmesi gerektiği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Alam MR, Cho YG, Cho SJ, Lee JI, Lee HB, Tae HJ, Kim IS.** Male pseudohermaphroditism in dogs: three case reports. *Veterinari Medicina*, 2007; 52:74-78.
- Anoop S, Venugopal SK, Amma TS.** Canine female hermaphrodite- A clinical case report. *J Vet Anim Sci*. 2011; 42:77-78.
- Bodvarsdottir SK, Imsland F, Thorisson B, Steinarsdottir M, Eyfjord JE.** 64,XX, SRY-, and ZFY-negative Icelandic horse likely to be true hermaphrodite. *J Equine Vet Sci*. 2009, 29:734-738.
- Deveci H.** Üreme Organlarının Anatomisi. In: **Alaçam E**, editör. *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite*, 7. Baskı, Medisan yayınları, Ankara. 2010; pp:3-5.
- Dinç DA.** Karnivorlarda İnfertilite. In: **Alaçam E**, editör. *Evcil Hayvanlarda Doğum ve*

İnfertilite, 7. Baskı, Medisan yayınları, Ankara. 2010; p: 320.

**Garfunkel LC, Kaczorowski JM, Christy C.** Pediatric Clinical Advisor Instant Diagnosis and Treatment. Mosby Inc, Elsevier, Philadelphia. 2007; p:21.

**Gurel A, Yıldırım F, Sennazlı G, Ozer K, Karabaglı M, Deviren A, Cırakoglu A.** Hermaphroditism in two dogs-pathological and cytogenetic studies: a case report. Veterinarni Medicina. 2014; 59:51-54.

**Gürler H, Kaymaz M.** Üreme Sisteminin Morfolojisi. In: Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A., editörler. Köpek ve Kedilerde Doğum ve Jinekoloji, 1. Baskı, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti., Malatya. 2013; pp:3-4.

**Hubler M, Hauser B, Meyers-Wallen VN, Arnold S.** SRY-Negative XX true hermaphrodite in a Basset hound. Theriogenology. 1999; 51:1391-1403.

**Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS.** Disorders of Canine Ovary. In: Canine and Feline Theriogenology, 1. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia. 2001; pp:193-194.

**Kalender H, Küplülü Ş. Gebelik Patolojisi. In: Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A.** editörler. Köpek ve Kedilerde Doğum ve Jinekoloji, 1. Baskı, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti., Malatya. 2013; p:135.

**Kuiper H, Distl O.** Intersexuality in dogs: causes and genetics. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift. 2004; 111:251-258.

**Kuiper H, Bunck C, Günzel-Apel AR, Drögemüller C, Hewicker-Trautwein M, Distl O.** SRY-negative XX sex reversal in a Jack Russal Terrier: a case report. The Vet Journal. 2005; 169:116-117.

**Meyers-Wallen VN, Patterson DF.** Disorders of Sexual Development in the Dog. In: Morrow DA, editör. Current Therapy in Theriogenology, 1. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia. 1986; pp:567-573.

**Nak D, Kaşıkçı G. İnfertilite. . In: Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A.** editörler. Köpek ve Kedilerde Doğum ve Jinekoloji, 1. Baskı, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti., Malatya. 2013; pp:223-224.

**Passello-Legrand F, Mowat V.** Two cases of spontaneous pseudohermaphroditism in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). J of Vet Med A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine. 2004; 51:344-347.

**Sacks MK, Beraud R.** Female pseudohermaphroditism with cloacal malformation and related anomalies in a dog. Can Vet J. 2012; 53:1105-1108.

**Silversides DW, Benoit JM, Collard F, Gilson C.** Disorder of sex development (XX male, SRY negative) in a French bulldog. Can Vet J. 2011; 52:670-672.

## Sarcocystosis in The Cremaster Muscle of an Infertile Bull, Spermiostasis and Orchitis

Kamil SAĞLAM<sup>1</sup>, Hikmet KELEŞ<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>*Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Samsun, TURKEY*

<sup>2</sup>*Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology, Afyonkarahisar, TURKEY*

Corresponding author e-mail: hkeles@aku.edu.tr

### ABSTRACT

In this report, macroscobical and microscobical findings of an infrequent sarcocystosis, located in the Musculus cremaster, and its possible effects on the fertility by external genital organs in a bull were described. The case was detected in a slaughtered bull in a slaughterhouse. During inspection, thickened M. cremaster drew attention in a bull. In addition, slightly increased testes and epididymides, and inconsiderable proliferative lesions on the caput epididymides were detected. In microscobical examination, *Sarcocystis* cysts in the cremaster muscle, spermiostasis and extravasation of spermatozoa in the epididymides, and weak intratubular orchitis in the testes were observed.

**Keywords:** Bull, M.cremaster, Orchitis, Sarcocystosis, Spermiostasis

## İnfertil Bir Boğanın Cremaster Kasında Sarkosistozis, Spermiostazis ve Orşitis

### ÖZ

Bu olgu sunumunda, bir boğada Musculus cremaster yerleşimli ender bir sarkosistozis'in makroskobik ve mikroskobik bulguları ile bu olayın fertilité üzerine olası etkileri eksternal genital organlar üzerinden irdelendi. Olgu mezbahada kesilen bir boğada teşhis edildi. İnspeksiyon esnasında bir boğada hacimce artmış M. cremaster dikkati çekti. Ayrıca, testisler ve epididimlerde hafif büyüme ile kaput epididimiste çok hafif proliferatif lezyonlar tespit edildi. Mikroskobik incelemede, Cremaster kasında sarkosistis kistleri, epididimiste spermiostazis ve ekstravase spermatozoa ve testiste hafif intratubuler orşitis gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Boğa, M.cremaster, Orşitis, Sarkosistozis, Spermiostaz

To cite this article: **Sağlam K, Keleş H.** Sarcocystosis in The Cremaster Muscle of an Infertile Bull, Spermiostasis and Orchitis. *Kocatepe Vet.J. 2016; 9(3):252-254.*

## INTRODUCTION

*Sarcocystis* spp. are cyst-forming coccidian parasite that infect mammals, birds, and cold-blooded vertebrates (Dubey et al. 1989, Valentine and McGavin 2007, El-Dakhly et al. 2011, Bucca et al. 2011). *Sarcocystis cruzi*, *S. hirsuta*, and *S. hominis* are main parasites which found in cattle (Dubey and Lindsay 2006). The prevalence of Sarcocystosis, a one of the most prevalent parasitic diseases of cattle, can vary depending on several factors such as, management, age, type, and anatomical site of diagnosis. Some *Sarcocystis* spp. can cause to anemia, weight loss, abortion, and even death in animals, in cases of severe infections (Dubey et al. 1989).

In general, any grossly visible lesions seen in the animals with sarcocystosis at the post mortem inspection (Valentine and McGavin 2007). Diagnosis can be made only by microscopic observation of parasites in the specific muscles (Dubey et al. 1989). Previous field studies aimed to determine prevalence, distribution, and economical importance of sarcocystosis. But in this study it will be taken into account possible secondary effects of sarcocystosis, which settled in the *M. cremaster*, on the infertility.

## CASE HISTORY and DISCUSSION

The case was noticed by coincidence during a study on the male genital tract pathology. In the course of inspection, it was noticed in a crossbred bull which slaughtered due to infertility. The tissue samples of *M. cremaster*, testes, and epididymides were fixed in 10% buffered formalin. After routine procedures, tissues were blocked with paraffin and cut in 5-micron thickness. Sections were stained with Hematoxylin and eosin (HE) and examined under light microscope. Sarcocystosis was verified morphological criteria's of Dubey et al. (1989).

Macroscopically bilateral hypertrophy was seen in the *M. cremaster* (Fig. 1). Thickened tunica vaginalis was showed slight, firm, and white adhesions between parietal and visceral parts. A few scattered yellowish foci, which approximately 1 cm in diameter, were detected in the cut surfaces of testes. A white to gray creamy content was seen in the caput epididymides.

In microscopical examination, intracytoplasmic settled globular to oval-shaped micro-cysts, were seen in the myofibers of cremaster muscle (Fig. 2-3). These slightly compartmentalized *Sarcocystis* cysts (sarcocysts) were contained tightly packed zoites with fine septal partitions. In addition to evident degeneration, inflammatory debris was seen in some areas of the testes mainly intratubular and lesser interstitial (Fig. 4). Excessive spermatozooids with pyknotic nuclei were seen in the dilated ducts of epididymides and extravasation of spermatozoa were seen in caput epididymis (Fig. 5-6).

Sarcocystosis is diagnosed as an incidental finding at necropsy or during meat inspection at slaughter (Valentine and McGavin 2007). Target muscular tissues of *Sarcocystis* spp. are the heart, tongue, esophagus, and diaphragm (Dubey et al. 1989). However, *Sarcocystis* spp. cysts have been reported several other muscles (Ono and Ohsumi 1999, Bucca et al. 2011).

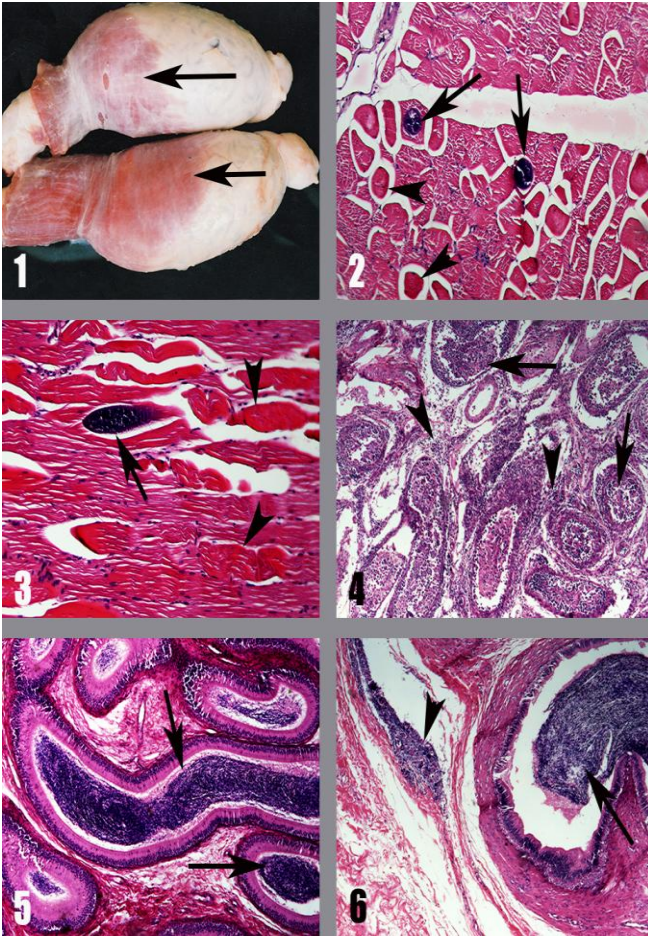
Because they are intracellular within the myofibers, cysts are protected from the host's defense mechanisms; thus there is no inflammatory response. If the cyst wall breaks down, a focus of myofiber necrosis and later granuloma formation occur (Valentine and McGavin 2007).

Uncommonly, fever, anorexia, and progressive wasting were reported in massive exposure. Eosinophilic myositis is a disease of cattle thought to be a relatively uncommon manifestation of *Sarcocystis* spp. infection that may involve hypersensitivity (Valentine and McGavin 2007). Overt green discoloration of affected muscles caused by the massive infiltration of eosinophils is a defect which results in economic loss (Ono and Ohsumi 1999; Dubey and Lindsay 2006).

In recent, Bucca et al. (2011) has been reported sarcocystosis in a lot of muscle including *M. cremaster*. They mentioned only types and localizations of parasites. Likewise, we detected sarcocystosis in the *M. cremaster* and also, slight intratubular orchitis and epididymal spermioistasis in the animal. Spermatozooids which deposited in the ductal areas showed evident morphological impairment. Moreover, extravasations of spermatozoa, which can cause spermatic granuloma, were detected in the epididymis.

Cremaster muscle and some other important tissues e.g. scrotum, tunica vaginalis, ductus deferens, and pampiniform plexus, are to protect and maintain spermatogenesis. In addition to other functions, these structures undertake different tasks to keep testicular temperature lower than body temperature. The testes are raised or lowered, according to ambient temperature, by the cremaster muscle (Foster 2007). Temperature increases, because of upset of thermoregulatory function, can cause testicular degeneration. Furthermore, obstruction of spermatozoal flow is a cause for testicular degeneration. But, testicular degeneration also causes spermioistasis. Spermioistasis and extravasation of spermatozoa, observed in our case, is an important cause of infertility (Keleş 2002).

In conclusion, in addition the negative reflects on animal production, meat quality and human health, sarcocystosis may be an important infertility cause in bulls.



#### Figure legends:

- 1- Bilateral hypertrophy in the M. cremaster (arrows).
- 2- Sarcocystosis; encysted parasites in the myofibers (arrows) and degenerated myofibers (arrowheads). Transversal section of M. cremaster, HEx100.
- 3- Sarcocystosis; encysted parasite in the myofiber (arrow) and degenerated myofibers (arrowheads). Longitudinal section of M. cremaster, HEx100.
- 4- Intratubular orchitis; degeneration and inflammatory cells in the tubules (arrows) and interstitial areas (arrowheads), Testis, HEx40.
- 5- Spermiostasis; excessive spermatozooids in the dilated ducts (arrows). Epididymis, HEx40.
- 6- Spermiostasis; excessive spermatozooids with pyknotic nuclei in the dilated ducts (arrow) and extravasation of spermatozoa in caput epididymis (arrowhead). Epididymis, HEx40.

#### Resim Uzantıları:

- 1- M. cremasterde bilateral hipertrofi (oklar).
- 2- Sarcocystosis; myofibriller içerisinde ankiste parazitler (oklar) ve dejenere

miyofibriller (okbaşları). M. cremasterin transversal kesiti, HEx100.

- 3- Sarcocystosis; myofibril içerisinde ankiste parazit (ok) ve dejenere miyofibriller (okbaşları). M. cremasterin longitudinal kesiti, HEx100.
- 4- İntratubular orşitis; dejenerasyon ve tubul lümenleri (oklar) ile interstisyel bölgelerde (okbaşları) yangı hücreleri, Testis, HEx40.
- 5- Spermiostaz; dilate duktuslarda aşırı spermatozoit birikimi (oklar). Epididimis, HEx40.
- 6- Spermiostaz; dilate tubuluslarda piknotik çekirdekli çokça spermatozoit birikimi (ok) ve kaput epididimiste ekstravaze spermatozoa (okbaşı). Epididimis, HEx40.

#### REFERENCES

- Bucca M, Brianti E, Giuffrida A, Ziino G, Cicciani S, Panebianco A.** Prevalence and Distribution of Sarcocystis spp. Cysts in Several Muscles of Cattle Slaughtered in Sicily, Southern Italy. *Food Control.* 2011; 22:105-108.
- Dubey JP, Speer CA., Fayer R.** Sarcocystosis of Animals and Man. CRC Press, Boca Raton, Florida. 1989.
- El-Dakhly KM, El-Nesr KA, El-Nahass el-S, Hirata A, Sakai H, Yanai T.** Prevalence and Distribution Patterns of Sarcocystis spp. in Buffaloes in Beni-Suef, Egypt. *Trop Anim Health Prod.* 2011; 43(8):1549-1554.
- Dubey JP, Lindsay DS.** Neosporosis, Toxoplasmosis, and Sarcocystosis in Ruminants. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2006; 22(3):645-671.
- Ono M, Ohsumi T.** Prevalence of Sarcocystis spp. cysts in Japanese and Imported Beef (Loin: Musculus longissimus). *Parasitol Int.* 1999; 48(1):91-94.
- Valentine BA, McGavin MD.** Skeletal System, In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*, Eds: McGavin MD, Zachary, J.F. 4<sup>nd</sup> Ed., Mosby-Elsevier St. Louis, Missouri. 2007; pp:973-1039.
- Foster RA.** Male Reproductive System, In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*, Eds: McGavin MD, Zachary, J.F. 4<sup>nd</sup> Ed., Mosby-Elsevier St. Louis, Missouri. 2007; pp:1317-1348.
- Keleş, H.** Pathological studies on inflammatory changes of testes and epididymides from bulls slaughtered in the region of Van. MSc Thesis, Yuzuncu Yil University Health Sciences Institute, Van, 2002.

## Bir Köpekte Prolapsus Vajina ile Birlikte Gözlemlenen Transmissible Venereal Tümör Olgusu

Erhan ÖZENÇ<sup>1</sup>, Duygu BAKİ ACAR<sup>1</sup>, Muhammed Kürşad BİRDANE<sup>1</sup>, Mehmet Fatih BOZKURT<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar/TÜRKİYE

<sup>2</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar/TÜRKİYE

Corresponding author e-mail: eozenc@aku.edu.tr

### ÖZ

Sunulan vakada, 28 kg canlı ağırlığında melez bir sokak köpeğinde prolapsus vajina ve Transmissible Venereal Tümör olgusu tanımlanmıştır. Dışarıda serbest olarak dolaşan bir köpek vajinada kitle ve hemorajik vajinal kanama şikayeti ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı kliniğine getirildi. Köpeğe ait anamnez bilgisi elde edilemedi. Yapılan klinik muayenede vajina dokusunun dışarıya doğru prolabe olduğu belirlendi. Ayrıca vajinal sitoloji ile birlikte vajina dokusundaki kitlenin histopatolojik muayene sonucuna göre kitleye Transmissible Venereal Tümör tanısı konuldu. Hematolojik, biyokimyasal ve hormonal analizler yapıldı. Beyaz kan hücreleri sayısı artarken, kırmızı kan hücreleri, hemoglobin ve sıkıştırılmış eritrosit hacminin azaldığı belirlendi. Prolabe olan vajina yerine yerleştirildikten sonra ovariohisterektomi operasyonu yapıldı. Transmissible Venereal Tümör ise genel anestezi altında cerrahi olarak uzaklaştırıldı. Hasta operasyon sonrası klinik düzelme gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** Köpek, Prolapsus Vagina, Transmissible Venereal Tümör.

## Vaginal Prolapse and Transmissible Venereal Tumor In A Bitch

### ABSTRACT

In this case describes a crossbreed bitch weighing 28 kg with vaginal prolapse and Transmissible Venereal Tumor. The free roaming bitch was presented to the Clinic of Obstetrics and Gynaecology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Afyon Kocatepe University with vaginal mass and hemorrhagic vaginal discharge. Anamnesis could not be obtained. On clinical examination, a protruded vaginal mass was detected. In addition, the diagnosis of Transmissible Venereal Tumor was made by vaginal cytologic and histopathological examination. Hematological, biochemical and hormonal analyses were evaluated. Although white blood cell count was increased, a red blood cell count, hemoglobin count and packed cell volume were decreased. After repositioning of vaginal prolapse, an ovariohysterectomy operation was performed. Transmissible Venereal Tumor was removed surgically under general anaesthesia. The patient recovered after the surgical operation.

**Keywords:** Transmissible Venereal Tumor, Bitch, Vaginal Prolapse

To cite this article: Özenç E, Baki Acar D, Birdane MK, Bozkurt MF. Bir Köpekte Prolapsus Vagina ile Birlikte Gözlemlenen Transmissible Venereal Tümör Olgusu. *Kocatepe Vet J. 2016; 9(3):255-258.*

## GİRİŞ

Prolapsus vajina, ödemli vajina dokusunun uterus lumenine doğru ve sıklıkla da vulva dudaklarına doğru çıkması olgusu olarak tanımlanmaktadır (Johnston ve ark. 2001). Dişi köpeklerde prolapsus vajina olgusuna nadir olarak rastlanılmaktadır (Alan ve ark. 2007, Sarrafzadeh-Rezaei ve ark. 2008). Prolapsus vajina olgularının daha çok seksüel siklusun proöstrüs ve östrüs aşamaları ile serum östrojen konsantrasyonunun yüksek ve progesteron seviyesinin düşük olduğu doğuma yakın dönemlerde ortaya çıktığı bildirilmektedir (Johnston ve ark. 2001, Alan ve ark. 2007). Ayrıca bu olgunun seksüel siklusun diöstrüs döneminde, normal gebelik sırasında (Johnston ve ark. 2001) ve ovaryohistektomi operasyonu uygulanmış dişi köpeklerde de (Nak ve ark. 2008) görülebildiği belirtilmektedir. Bununla birlikte travma (Arbeiter and Bucher 1994), ovaryum ve serviksten köken alan tümörler (Williams ve ark. 2005; Nak ve ark. 2012), güç doğum (Alan ve ark. 2007) ve östrojen uygulamalarının da (Sarrafzadeh-Rezaei ve ark. 2008) prolapsus vajinaya neden olabileceği bildirilmektedir. Transmissible venereal tümör (TVT) olgularına tropikal ve subtropikal kent alanlarında serbest dolaşım gösteren köpek popülasyonları arasında çok sık rastlanılmaktadır. Hayvanlar arasında bulaşma, hasta hayvanlar ile çiftleşme sırasında sağlıklı hayvana vajinal mukozaya üzerine neoplastik hücrelerin transplantasyonu ile olmaktadır. Bununla birlikte genital bölgenin yalanması ile oral veya nasal mukozaya da bulaşma olabildiği, ovaryum ve uterus gibi diğer organlara da metastaz yapabildiği belirtilmektedir (Johnston ve ark. 2001, Baştan ve ark. 2008).

Bu olgu sunumunda dişi bir köpekte aynı anda teşhis edilen TVT ve prolapsus vajina olgusunun klinik bulgularının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## OLGU ÖYKÜSÜ

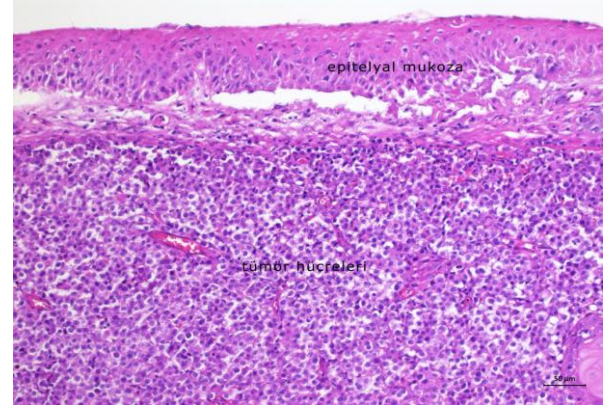
Sunulan olgunun materyalini, dışarıda serbest halde dolaşırken bitkin halde bulunarak Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji kliniklerine getirilen, yaşı bilinmeyen, 28 kg canlı ağırlığındaki melez dişi bir köpek oluşturdu.

Hastaya vajinal muayene ile birlikte 6.0 MHz'lik linear prob yardımıyla transabdominal ultrasonografisi (Falco Vet, Esaote Pie Medical, Netherlands) işlemi uygulandı. Yapılan vajinal muayenede olgunun prolapsus vajina olduğu belirlenirken prolabe olan kısımda herhangi bir nekroz odağı tespit edilmedi. Vulvadan sarkan kitlenin hemen altında vajinadan köken alan 15X10 cm boyutlarında, şekli düzenli olmayan sert ve karnıbahar benzeri bir oluşum tespit edildi. Bu kitlenin rima vulvadan taşıdığı ve bu kısımdan köken alan kanlı bir akıntı geldiği saptandı. (Şekil 1).



**Şekil 1:** Transmissible Venereal Tümör'ün görünümü.  
**Figure 1:** The appearance of the Transmissible Venereal Tumor.

Vajinal sitoloji örneklerinde ise bol miktarda eritrosit ve nötrofil lökositler ile birlikte az miktarda intermediyer, basal ve parabasal hücreler tespit edildi. Ayrıca poligonol ya da yuvarlak çekirdekli etrafında dar şeffaf sitoplazmaya sahip TVT hücreleri belirlendi. TVT ön tanısı sonrası operasyon ile çıkarılan materyal histopatolojik inceleme için patoloji laboratuvarına gönderildi. Dokular, tamponlu %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Rutin doku takibi yapılarak Hematoksilin ve Eozin (H&E) ile boyandı. Işık mikroskopunda incelendi. Mikroskopik incelemede, vajina epitelyal mukozasının bazı alanlarda bütünlüğünü kaybettiği bazı alanlar da ise ince bir görünüm aldığı belirlendi. Submukozada poligonol şekilli, küçük ve dar sitoplazmalı, çok sayıda mitoz sergileyen atipik hücrelerin geniş alanlar oluşturduğu görüldü. Kitleye Transmissible Venereal Tümör tanısı konuldu. (Şekil 2).

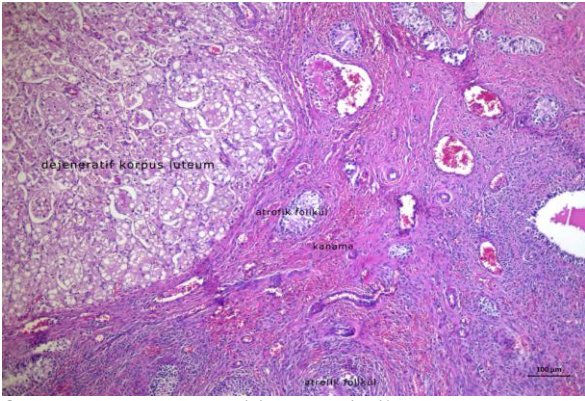


**Şekil 2:** Transmissible Venereal Tümör'ün histopatolojik görünümü.

**Figure 2:** Histological appearance of Transmissible Venereal Tumor.

Ovaryumların incelemesinde teka hücrelerinde proliferasyon, foliküllerde atrofi, stromada kanama alanları ve dejeneratif korpus luteuma rastlandı. (Şekil 3).





**Şekil 3:** Ovaryumun histopatolojik görünümü.  
**Figure 3:** Histological appearance of ovarium.

Hastadan alınan kan örneğinde hematolojik ve biyokimyasal analizler ile birlikte östrojen ve progesteron hormon seviyeleri belirlendi. (Tablo 1).

**Tablo 1:** Hematolojik, biyokimyasal ve hormon analiz sonuçları.

**Table 1:** Hematologic, biochemical and hormonal findings.

	Sonuçlar	Referans Aralıkları		Sonuçlar	Referans Aralıkları
Beyaz kan hücreleri (WBC) ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	39	6-17	ALT (u/L)	16	8.2-57.3
Kırmızı kan hücreleri (RBC) ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	4,5	5.5-8.5	AST (u/L)	17	8.9-48.5
Hemogloblin (Hgb) (g/dL)	9,6	12-18	Glukoz (mg/dL)	106.0	61.9-108.3
PCV (Hematokrit) (%)	27	37-55	Albümin (g/dL)	1.7	2.6-4.0
Ortalama korpusküler hacim (L)	60.7	60-77	Üre nitrojen (mg/dL)	18.0	8.8-25.9
Ortalama korpusküler hemoglobin (pg)	21.6	19.5-24.5	Kolesterol (mg/dL)	205.0	115.6-253.7
Ortalama korpusküler hemoglobin (g/dL)	35,6	32-36			
Progesteron ng/mL	0.34				
Östrojen (E <sub>2</sub> ) pg/mL	7.00				

Analizler sonucunda olguda lökositozis (WBC değerinin normal değerden yüksek olduğu) saptandı. Eritrosit sayısının (RBC) düşüklüğü yanında hemoglobin (HGB) ve hematokrit (PCV) değerlerinin de düşük olması hastada anemi olgusunun şekillendiğini göstermektedir. Klinik muayene sonucunda prolapsus vajina ile birlikte TVT tanısı konuldu.

Operasyon için hastaya Ksilazin HCL (Alfazine®, 20 mg/ml, Alfasan; 2-3 mg/kg IM) uygulanarak sedasyon sağlandı. Genel anestezi ise Ketamine HCL (Alfamine®, 100 mg/ml, Alfasan; 10 mg/kg IM) kullanılarak indüklendi. Prolabe olan doku iyice

temizlendi. Median hattan 15 cm lik eksizyon ile abdominal laparotomi yapıldı. Bir taraftan vulvadan prolabe olan doku itilirken diğer taraftan kornu uteriler abdomene doğru çekilerek vajinal duvarın eski halini alması sağlandı. Daha sonra ovaryohistektomi operasyonu yapıldı. Vajinadan köken alan TVT ise cerrahi eksizyon ile uzaklaştırıldı.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Vajinal tümörlerin prolapsus vajinaya neden olabileceği bildirilmekle birlikte bu olgulara çok nadir olarak rastlandığı belirtilmektedir (Nak ve ark. 2009). Vajinal tümörler ile prolapsus vajinanın bir arada gözleendiği az sayıda olgu bulunmaktadır. Bu olguların birisinde prolapsus vajina ile leiomyom birlikte gözlenirken (Nak ve ark. 2009), diğer bir olguda ovaryum kalıntı sendromu bulunan bir hayvanda prolapsus vajinanın TVT ile birlikte gözleendiği belirtilmektedir (Turna Yılmaz ve ark. 2013). Bizim bilgilerimize göre sunulan vaka, kısırlaştırma yapılmamış bir köpekte prolapsus vajinanın TVT ile birlikte gözleendiği ilk olgudur. Sunulan olguda TVT'nin prolapsus vajinaya mı neden olduğu ya da prolapsus vajina olgusunda tesadüfi olarak mı TVT'nin saptandığı bilinmemektedir. Bu olguda vajina dokusunda nekroze alanların olmaması vajinal prolapsusun yeni şekillendiğini gösterirken, TVT'nin büyük boyuta ulaşmasının bu kadar kısa sürede olamayacağı düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda östrojen konsantrasyonunun vajinal prolapsusa neden olabileceği belirtilmiştir (Johnston ve ark. 2001). Daha önceki literatür verileri baz alınarak yapılan değerlendirme sonuçlarına göre, bu olguda ölçülen kan serumu östrojen (7.00 pg/ml) ve progesteron düzeyleri (0.34 ng/ml) ile birlikte saptanan CL'lerde regresyon bulgusu olan teka hücrelerinde proliferasyon, stromada ve luteal bölgelerde kanamalar ve çok sayıda atrofik folliküllerin bulunmasından dolayı köpeğin diöstrus sonu-anöstrus başlangıç döneminde olduğunu göstermektedir. Bu durum bize olgunun oluşum sebebinin östrojen yüksekliğinden daha çok travma veya tümörden kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir. Hayvanın kliniğe getirilmeden önceki geçmişinin bilinmemesi bu olgunun nedeni hakkında bir fikir yürütülmesini zorlaştırmaktadır. Yapılan bir çalışmada, konakçının anti tümöral immun yanıt gücüne bağlı olarak TVT olgusunun bulaşmadan itibaren 12 haftalık süre içerisinde aşamalı olarak gelişim gösterebileceği belirtilmektedir (Hsiao ve ark. 2002). Sunulan çalışmada da kitlenin klinik görüntüsünün, vakanın kan hormon düzeyleri ve ovaryumun histopatolojik bulgularının bu çalışma ile benzerlik gösterdiği düşünülmektedir. Bununla birlikte kan hematoloji değerlerinden bazı parametrelerin (RBC, HGB ve PCV) normal değerlerin altında olduğu tespit edildi. Bu

parametrelerdeki değişimlerin tümörden kaynaklanan kanlı vajinal akıntıya bağlı olduğu düşünölmektedir.

Köpeklerde gözlemlenen TVT'nin tedavisinde kullanılan en etkili yöntemler arasında cerrahi eksizyon, radyasyon terapisi, immunoterapi, kemoterapi ve kriyocerrahi işlemleri bulunmaktadır (Johnston ve ark. 2001). TVT olgularında metastazın olmadığı lokal bir bölgeyi kapsayan, küçük ve ulaşılabilir bir bölgede bulunan kitlelerin cerrahi eksizyon ile çıkartılması bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Johnston ve ark. 2001). Bu olguda da tek bir tümöral kitle bulunduğundan ve kolay ulaşılabilir bir bölgede olmasından dolayı cerrahi eksizyon işlemi uygulanmıştır.

Sonuç olarak bu vaka raporunun, kısırlaştırma yapılmamış bir köpekte prolapsus vajina ve TVT olgusunun birlikte gözlenebildiğı nadir bir vaka olmasından dolayı literatüre katkı sağlayacağı düşünölmüştür.

## KAYNAKLAR

- Alan M, Cetin Y, Sendag S, Eski F** (2007) True vaginal prolapse in a bitch. *Anim Reprod Sci*, 100:411-414.
- Arbeiter K, Bucher A** (1994) Traumatically caused prolapse of the vaginal mucosa and retroflexion of the bladder in the bitch. *Tierärztł Prax*, 22:78-79.
- Baştan A, Baki Acar D, Cengiz M** (2008) Uterine and ovarian metastasis of transmissible venereal tumor in a bitch. *Türk J Vet Anim Sci*, 32:65-66.
- Hsiao YW, Liao KW, Hung SW, Chu RM** (2002) Effect of tumor infiltrating lymphocytes on the expression of MHC molecules in canine transmissible venereal tumor cells. *Vet Immunol Immunopathol*, 87:19-27.
- Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS** (2001) *Canine and Feline Theriogenology*, 1st edition, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 225-242.
- Sarrafczadeh-Rezaei F, Saifzadeh S, Mazaheri R, Behfar M** (2008) First report of vaginal prolapse in a bitch treated with oestrogen. *Anim Reprod Sci*, 106:194-199.
- Nak D, Nak Y, Yilmazbas G** (2008) First report of vaginal prolapse in an ovariohysterectomised bitch - a case report. *Bull Vet Inst Pulawy*, 52:397-398.
- Nak D, Misirlioglu D, Nak Y, Alasonyalilar A** (2009) Vaginal prolapse and pyometra associated with a leiomyoma in an Anatolian Shepherd. *Aust Vet Practit*, 39:27.
- Nak D, Alasonyalilar Demirer A, Tuna B, Nak Y, Özyigit MÖ** (2012) Vaginal prolapse related to ovarian granulosa cell tumor in

an Anatolian Shepherd. *Türk J Vet Anim Sci*, 36:61-66.

**Turna Yılmaz O, Ucmak M, Gunay Z, Kirsan I** (2013) Vaginal fold prolapse and transmissible venereal tumour related to ovarian remnant syndrome in a bitch: a case report. *Vet Med*, 58:628-632.

**Williams JH, Birrell J, Van Wilpe E** (2005) Lymphangiosarcoma in a 3.5-year-old Bullmastiff bitch with vaginal prolapse, primary lymph node fibrosis and other congenital defects. *J S Afr Vet Assoc*, 76:165-171. 2011; 52:670-672.

## Instruction for Authors

Kocatepe Veterinary Journal (KVJ) has the policy with One Medicine One Health. Research article, reviews, brief communication and case reports, letters to editor and book reviews are also welcome for consideration to publish articles of high scientific and ethical standards.

The journal is published four times a year. The publication of the text and figures is **free** of charge.

Acceptance of papers for the KVJ is undertaken by Editors. Editorial Board members adjudicate in the case of conflicting or adverse reports.

Manuscripts are accepted for consideration on the understanding that they are for publication solely in KVJ and that they neither have been published nor are under consideration for publication elsewhere. Submission also implies that all authors have approved the paper for release and are in agreement with its content. Upon acceptance of the article by the journal, the author(s) will be asked to transfer the copyright of the article to the Publisher.

Authors accept ethical rules when article is sent for publication. If study has been approved by an Ethical Committee, Name of Ethical Committee and Number of approved study should be mentioned. Author(s) should send Copyright Transfer Agreement, after acceptance of article.

Each author accepts all ethical responsibility of the article and all authors agree with the content of the study.

**Article should be written using Garamond, font of 11 point, with 1.5 line spacing, margins of the A4 paper should be 2.5 cm from all edges (Word97-2010.doc). Abbreviations should be written in SI. Research article submitted to Kocatepe Veterinary Journal should be divided into the following sections:**

**Title page** (Abstract, Key words without authors name and address), **Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, References, Tables, Graphics, Figures.**

**Title page:** Papers should be headed with the full title, the initial letters of name and surnames of the authors, the name and address of the institution where the work is carried out. The telephone number, fax number and e-mail address of the corresponding author should also be provided. The title should be short, specific and informative.

**Abstract** Should be no more than 200 words, outlining in a single paragraph.

**Keywords**, 5 keywords that describe the crucial points of the paper should be provided. Keywords should be chosen from Turkey Science Term ([www.bilimterimleri.com](http://www.bilimterimleri.com))

**Introduction**, an updated literature related to paper and aim(s) of the study should be clearly given in this section.

**Materials and methods**, a clear account of materials used and methods employed should be given and it should be applicable/repeatable by other researchers.

**Results**, as concise as possible. Text, tables and figures illustrating the same data should be limited and succinctly outline the pertinent outcomes of the study.

**Discussion:** Results of the study should be discussed with directly relevant references. This section may also be divided into subsections.

**Conclusions:** This section should state clearly the main conclusions of the research. Results should not be repeated.

**Acknowledgements**, it is advised to acknowledge persons or institutions directly or indirectly involved in the study.

### References

References in the text should be made as follows: **Kara (2012)** described. / . was reported (**Zemheri 2015, Eryavuz and Yeni, Eryavuz et al. 2015**). List of references should be given alphabetically in the reference list. Different publications having the same author(s) of same year should be written as **2011a, 2011b**. Web address should be referenced as anonim for example **Anonim 2015**. Only official web pages should be used. Author name(s) and date should be written bold. The reference list at the end of the paper should be written as below.

#### *Journal:*

**Ince S, Kucukkurt I, Cigerci IH, Fidan AF, Eryavuz A.** The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *J Trace Elem Med Biol.* 2010; 24(3):161-164.

**Book section:**

**Juneja R, Koide SS.** Molecular Biology of Reproduction, In: Reproduction in Farm Animals, Ed; Hafez B, Hafez ESE, 7<sup>th</sup> Ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA. 2000; pp. 354-361.

**Web page:**

**Anonymous.** [http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb\\_id=46&ust\\_id=13](http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=46&ust_id=13); Accession date: 02.01.2012.

**Thesis:**

**Yeni D.** Some andrological parameters and biochemical properties in relation to season in rams. PhD thesis, Afyon Kocatepe University Health Science Institute, Afyonkarahisar, 2010.

**Tables:** Tables should be presented in a separate page at the end of manuscript.

**Graphics:** Figures should be presented in a separate page at the end of manuscript.

**Figures :** Figures should be presented in a separate page at the end of manuscript. Figures should be 80 or 160 mm, minimum 300 dpi.

**Titles of tables, graphics and figures should be both Turkish and English.**

**Brief Communications:** Brief communications should be concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later publication. They should not exceed 1600 words. They should bear no more than two tables or figures. An ABSTRACT should be given but no other sections. Typescripts should be clearly marked Brief Communication.

**Review Articles:** Review articles related to all medical topics are welcome for publication. They should give an update on recent advances in a particular field and be targeted at research veterinarians or clinicians who are not necessarily working in the same field. The length should not exceed 4500 words. It should have a precise abstract. Author of review should have at least two citations. For each issue maximum 2 reviews are published.

**Case Reports:** Reports of SINGLE or small numbers of cases will be considered for publication in KVJ if the case(s) are particularly unusual/rare or the report contributes materially to the literature. A case report should not exceed 1500 words and must comprise a Summary (maximum 150 words), Introduction, Case History and Discussion. The report should accomplish one of the followings:

- To be a substantially novel presentation
- To be a technique or treatment that would substantially alter management and prognosis of the described condition
- The first clinical report or first case(s) of diseases in a particular location where epidemiology is an important factor
- To exemplify best practice in medical science.

**Letters to The Editor:** Letters describing case reports or original material may be published in the KVJ and will be peer-reviewed prior to publication. Letters making criticisms on recently published papers in the KVJ will also be considered and the corresponding authors of the original paper will be invited to respond accordingly.

**All articles sent to KVJ (Kocatepe Veterinary Journal) ONLINE submission only.**

**During submission documents which are listed below, have to install to the system;**

1. **Title Page:** Author and institution names
2. **Main text:** Author and institution names should NOT be. Tables(s), graphic(s) and figure(s) etc. Should be on the last page of article, also title of them both in Turkish and English.
3. **Article addition:** Table(s), graphic(s) and figure(s) should have been installed to the system separately.
4. **Author Approval Form (Cover Letter):** All authors need to sign it and install to the system. Signatures should be wet signatures and send to the Editorial Board of Kocatepe Veterinary Journal.
5. **Copyright:** All authors need to sign it and install to the system. Signatures should be wet signatures and send to the Editorial Board of Kocatepe Veterinary Journal.