

**ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES**

<b>Entansif Koşullarda Beslenen Herik Kuzularında Karkas Kompozisyonun Belirlenmesi</b> ..... 01 The Determination of Carcass Composition in Herik Lambs under Intensive Finishing Condition B. TEKE, M. UĞURLU, F. AKDAĞ, S. ARSLAN, B. EKİZ	01
<b>The Effects of Dexamethasone on Claudin Tight Junction proteins in 18-day Embryonic Chick Intestine</b> ..... 06 Dexamethasonun 18 Günlük Embriyonik Cıvıv Bağırsağındaki Claudin Sıkı Bağlantı Proteinlerine Etkileri Ö. ÖZDEN, B. BLACK	06
<b>The Effect on Serum Mineral Levels of Acute Septic Mastitis and Clinical Mastitis in Cows</b> ..... 11 İneklerde Akut Septik Mastitis ve Klinik Mastitisin Kan Serumu Mineral Düzeylerine Etkisi M. KURU, B. KARADEMİR, H. ORAL, F. UZUN	11
<b>Production of Traditional Yoghurt Using Starter Culture Obtained from Koumiss</b> ..... 17 Geleneksel Yoğurt Üretiminde Kıımızdan Elde Edilen Starter Kültürlerin Kullanımı N. KURT, M. ARZIBAYEV, Z. GONULALAN	17
<b>Siğır Orjinli Gıdalarda Salmonella spp. ve Listeria monocytogenes Varlığının Araştırılması</b> ..... 22 Investigation of the Presence of Salmonella spp. and Listeria monocytogenes in Bovine Origin Foods Ş. PAMUK, B. SIRIKEN	22
<b>Ağır Çekim (Araba) Atlarının Alt Ekstremit ve Ayak Bölgesi Kemik Lezyonlarının Klinik ve Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi</b> ..... 30 Clinical and Radiological Evaluation of the Bone Lesions in Lower Extremity and Foot in Draft Horses C. İZCİ, M. EROL, E. GÖKŞAHİN	30
<b>C-Reactive Protein and Serum Amyloid A in Male Dogs after Orchiectomy</b> ..... 37 Orşiektomi Sonrası Erkek Köpeklerde C-Reaktif Protein ve Serum Amiloid A N. HADŽIMUSIĆ, A. HRKOVIĆ	37
<b>Thermographic Assessment of Extremity Temperature Alterations of Cases with Bucked Shin Complex, Splints, Carpal Osteoarthritis and Sesamoiditis in Sport Horses</b> ..... 41 Spor Atlarında Sesamoiditis, Karpal Osteoarthritis, Süro ve Sorşin Olgularında Ekstremit Sıcaklık Değişimlerinin Termografik Değerlendirilmesi L. E. YANMAZ, Z. OKUMUŞ	41
<b>Sütçü İnek ve Düvelerde Postpartum Dönem Serum IgG ve Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması</b> ..... 46 Comparison of Serum IgG and Biochemical Parameters at the Postpartum Period in Dairy Cows and Heifers U. AYDOĞDU, H. GÜZELBEKTEŞ	46
<b>Niğde ve Kayseri’de Satışa Sunulan Köy ve Market Yumurtalarının Mikrobiyolojik Kalitesi</b> ..... 51 The Microbiological Quality of the Village and Market Eggs Sold at Retail in Niğde and Kayseri F. KARADAL, N. ERTAS ONMAZ, H. HIZLISOY, Y. YILDIRIM, S. AL, Z. GONULALAN, İ.ÜLGER	51
<b>DERLEMELER / REVIEW ARTICLES</b>	
<b>Türkiye Arıcılık Sektöründe Mevcut Durum, Sorunlar ve Çözüm Önerileri</b> ..... 58 Current Situation, Problems and Solutions for Beekeeping Sector in Turkey M. B. ÇEVİMLİ, E. SAKARYA	58
<b>Veteriner Klinik Laboratuvarlarında Pre-Analitik Süreç</b> ..... 68 Pre-Analytical Phase in Veterinary Clinical Laboratories S. SAYINER, T. BORATAŞ	68
<b>OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS</b>	
<b>Afyonkarahisar İlinde Saanen Keçisi Yetiştiriciliği Yapan Bir Çiftlikte Helmint Enfeksiyonlarının Araştırılması</b> ..... 77 The Investigation of Helminth Infections in a Saanen Goats Farm in Afyonkarahisar Province F. K. SEVİMLİ, A. ACAR, M. ESER, H. ÇİÇEK	77
<b>Corynebacterium pseudotuberculosis Case in a Boer Goat X Turkish Hair Goat Crossbred</b> ..... 82 Bir Boer-Kıl Keçisi Melezi Keçide Corynebacterium pseudotuberculosis Olgusu G. AKGUL, S. K. DEMİRBİLEK, Ö. Y. ÇELİK, K. İRAK, M. B. AKGUL, S. MERSİN	82



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

Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

15(1): 01-85, 2018

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

ISSN-1304-7280

Yıl/Year: 2018  
Cilt/Volume: 15  
Sayı/Number: 1

Yılda 3 sayı yayımlanır / Published 3 issues per year  
<http://ercivet.erciyes.edu.tr>  
E-posta: ercvet@gmail.com

ISSN-1304-7280



# Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

Journal of Faculty of Veterinary Medicine,  
Erciyes University

**Yılda 3 sayı yayımlanır**  
Published 3 issues per year

**Bu dergi EBSCO Host, CAB Abstracts, Global Health, TÜBİTAK-ULAKBİM TR Dizin ve Türkiye Atıf Dizini tarafından dizinlenmektedir.**

This journal is reviewed by EBSCO Host, CAB Abstracts, Global Health, TUBITAK-ULAKBIM TR Dizin and Turkey Citation Index.

Yıl / Year : 2018  
Cilt / Volume : 15  
Sayı / Number : 1

<http://ercivet.erciyes.edu.tr>  
E-posta: [ercvet@gmail.com](mailto:ercvet@gmail.com)

**Baskı Tarihi:** Nisan 2018

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

**Sahibi / Owner**

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

**Editörler Kurulu / Editorial Board**

**Baş Editör / Editor-in Chief**

Prof. Dr. Gültekin ATALAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

**Editör Yardımcısı / Associate Editor**

Prof. Dr. Murat KANBUR (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

**Yayın Kurulu / Editorial Consultants**

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

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

Doç. Dr. Aytaç AKÇAY (İstatistik) (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Yrd. Doç. Dr. Hanifi EROL (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Yrd. Doç. Dr. Çağrı Çağlar SİNMEZ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Yrd. Doç. Dr. Harun HIZLISOY (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Yrd. Doç. Dr. Serhat AL (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

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

Uzm. Erdem EKER (Yabancı Dil) (Erciyes Üniv. Yabancı Diller YO.)

Arş. Gör. Dr. Muhammed Kaan YÖNEZ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

**Danışma Kurulu / Advisory Board**

Prof. Dr. Rene van den HOVEN (University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria)

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

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

Prof. Dr. Askarbek TÛLÖBAEV (Manas Üniv. Vet. Fak. Bişkek, Kırgızistan)

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

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

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

Prof. Dr. Güven KAŞIKÇI (İstanbul Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Mahmut OK (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

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

Prof. Dr. Abdurrahman AKSOY (Ondokuz Mayıs Üniv. Vet. Fak.)

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

Prof. Dr. Gürkan UÇAR (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Murat YILDIRIM (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Levent ERGÜN (Ankara Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Murat YALÇIN (Uludağ Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Aşkın YAŞAR (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Ali BAHADIR (Uludağ Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Cavit ARSLAN (Kafkas Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Alparslan Kadir DEVRİM (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Mustafa SAATÇI (Mehmet Akif Ersoy Üniv. Vet. Fak.)

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

Prof. Dr. Özgür ÖZYİĞİT (Uludağ Üniv. Vet. Fak.)

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

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

**Yazışma Adresi / Correspondence**

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

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

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

**Tel** : 0 352 339 94 84

**Fax** : 0 352 337 27 40

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

**Mizanpaj / Designer**: Erhan GÜMÜŞ

**Basım / Print**: Erciyes Üniversitesi Matbaası, Melikgazi/KAYSERİ

ISSN-1304-728



## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

Sayfa / Page

### ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

- Entansif Koşullarda Beslenen Herik Kuzularında Karkas Kompozisyonun Belirlenmesi.....01**  
The Determination of Carcass Composition in Herik Lambs under Intensive Finishing Condition  
*B. TEKE, M. UĞURLU, F. AKDAĞ, S. ARSLAN, B. EKİZ*
- The Effects of Dexamethasone on Claudin Tight Junction proteins in 18-day Embryonic Chick Intestine...06**  
Dexamethasonun 18 Günlük Embriyonik Cıvciv Bağırsağındaki Claudin Sıkı Bağlantı Proteinlerine Etkileri  
*Ö. ÖZDEN, B. BLACK*
- The Effect on Serum Mineral Levels of Acute Septic Mastitis and Clinical Mastitis in Cows.....11**  
İneklerde Akut Septik Mastitis ve Klinik Mastitisin Kan Serumu Mineral Düzeylerine Etkisi  
*M. KURU, B. KARADEMİR, H. ORAL, F. UZUN*
- Production of Traditional Yoghurt Using Starter Culture Obtained from Koumiss.....17**  
Geleneksel Yoğurt Üretiminde Kıymızdan Elde Edilen Starter Kültürlerin Kullanımı  
*N. KURT, M. ARZIBAYEV, Z. GONULALAN*
- Sığır Orjinli Gıdalarda *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* Varlığının Araştırılması.....22**  
Investigation of the Presence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in Bovine Origin Foods  
*Ş. PAMUK, B. SIRIKEN*
- Ağır Çekim (Araba) Atlarının Alt Ekstremit ve Ayak Bölgesi Kemik Lezyonlarının Klinik ve Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi.....30**  
Clinical and Radiological Evaluation of the Bone Lesions in Lower Extremity and Foot in Draft Horses  
*C. İZCI, M. EROL, E. GÖKŞAHİN*
- C-Reactive Protein and Serum Amyloid A in Male Dogs after Orchiectomy.....37**  
Orşiektomi Sonrası Erkek Köpeklerde C-Reaktif Protein ve Serum Amiloid A  
*N. HADŽIMUSIĆ, A. HRKOVIĆ*
- Thermographic Assessment of Extremity Temperature Alterations of Cases with Bucked Shin Complex, Splints, Carpal Osteoarthritis and Sesamoiditis in Sport Horses.....41**  
Spor Atlarında Sesamoiditis, Karpal Osteoarthritis, Süro ve Sorşin Olgularında Ekstremit Sıcaklık Değişimlerinin Termografik Değerlendirilmesi  
*L. E. YANMAZ, Z. OKUMUŞ*
- Sütçü İnek ve Düvelerde Postpartum Dönem Serum IgG ve Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması.46**  
Comparison of Serum IgG and Biochemical Parameters at the Postpartum Period in Dairy Cows and Heifers  
*U. AYDOĞDU, H. GÜZELBEKTEŞ*
- Niğde ve Kayseri’de Satışa Sunulan Köy ve Market Yumurtalarının Mikrobiyolojik Kalitesi.....51**  
The Microbiological Quality of the Village and Market Eggs Sold at Retail in Niğde and Kayseri  
*F. KARADAL, N. ERTAS ÖNMAZ, H. HIZLISOY, Y. YILDIRIM, S. AL, Z. GONULALAN, İ.ÜLGER*

### DERLEMELER / REVIEW ARTICLES

- Türkiye Arıcılık Sektöründe Mevcut Durum, Sorunlar ve Çözüm Önerileri.....58**  
Current Situation, Problems and Solutions for Beekeeping Sector in Turkey  
*M. B. ÇEVİMLİ, E. SAKARYA*
- Veteriner Klinik Laboratuvarlarında Pre-Analitik Süreç.....68**  
Pre-Analytical Phase in Veterinary Clinical Laboratories  
*S. SAYINER, T. BORATAŞ*

### OLGU SUNUMLARI / CASE REPORTS

- Afyonkarahisar İlinde Saanen Keçisi Yetiştiriciliği Yapan Bir Çiftlikte Helmint Enfeksiyonlarının Araştırılması.....77**  
The Investigation of Helminth Infections in a Saanen Goats Farm in Afyonkarahisar Province  
*F. K. SEVİMLİ, A. ACAR, M. ESER, H. ÇİÇEK*
- Corynebacterium pseudotuberculosis* Case in a Boer Goat X Turkish Hair Goat Crossbred.....82**  
Bir Boer-Kıl Keçisi Melezi Keçide *Corynebacterium pseudotuberculosis* Olgusu  
*G. AKGUL, S. K. DEMİRBİLEK, Ö. Y. ÇELİK, K. İRAK, M. B. AKGUL, S. MERSİN*



## Entansif Koşullarda Beslenen Herik Kuzularında Karkas Kompozisyonun Belirlenmesi\*

Bülent TEKE<sup>1</sup>, Mustafa UĞURLU<sup>1</sup>, Filiz AKDAĞ<sup>1</sup>, Serhat ARSLAN<sup>2</sup>, Bülent EKİZ<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyometri Anabilim Dalı, Samsun-TÜRKİYE

<sup>3</sup>İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootečni Anabilim Dalı, İstanbul-TÜRKİYE

**Özet:** Bu çalışma entansif şartlarda Herik kuzularında bazı karkas kompozisyonunun belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Araştırmada 10 baş kısa yuvarlak yağlı kuyruklu ve 10 baş uzun yarım yağlı kuyruklu kuzu olmak üzere 20 baş erkek tek doğmuş Herik kuzusu kullanılmıştır. Sütten kesimden sonra besiye alınan kuzular ortalama 40 kg canlı ağırlıkta kesilmiştir. Karkaslar parçalara ayrılmış ve her bir parça et, kemik ve yağ olarak dissekte edilmiştir. Et, kemik ve yağ oranları sırasıyla butta; %56.2, 15.15 ve 28.8 kolda %61.14, 20.79 ve 18.14 belde %46.64, 15.21 ve 38.36 olarak bulunmuştur. Bel et ve kemik oranı ile karkas et ve kemik oranı ortalamaları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Sonuç olarak bu araştırma ile Herik koyununun çeşitli karkas parçalarının kompozisyon özellikleri belirlenmiştir. Türkiye'nin yerli ve lokal ırkı olan Herik koyununun özelliklerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi için daha fazla sayıda çalışma yapılmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** Et, karkas kompozisyonu, kuzu, Herik

### The Determination of Carcass Composition in Herik Lambs under Intensive Finishing Conditions

**Summary:** The aim of this study was to identify some carcass characteristics of Herik lambs under intensive conditions. In this study, data on 20 single-born male Herik lambs, namely 10 with short, round, fat tail, and 10 with long, semi-fat tails, were used. The lambs were finished after weaning, and were slaughtered when their weights reached to 40 kg. Carcasses were split to cuts. The carcass joints were dissected as meat, bone and fat. The ratios of meat, bone and fat were 56.2, 15.15 and 28.8% for leg, 61.14, 2.79 and 18.14% for foreleg, 46.64, 15.21 and 38.36% for loin in the study. The difference between ratio of meat, bone in loin and in carcass was no significant ( $P>0.05$ ). In conclusion, some of the carcass composition characteristics of Herik lambs were determined in present study. More studies should be done for the determination and the development of characteristics of Herik lambs, a native and local breed in Turkey, because of less study was available.

**Key words:** Carcass composition, Herik, lamb, meat

### Giriş

Farklı yerleşim yerlerinin iklimi ve çevre şartları, insan göçleri ve genetik olayların etkisi ile çok sayıda yerli koyun ırkları meydana gelmiştir. Morfolojik ve fizyolojik özellikleri birbirinden farklı olan bu koyun ırkları arasındaki en önemli morfolojik farklılık kuyruk yapılarıdır (1,2). Kuyrukta bulunan yağ, besin alımının yeterli olmadığı zamanlarda enerji kaynağı olarak görev yapar (7). Herik koyunu lokal olarak yetiştirilen bir koyundur. Herik koyununda kısa yuvarlak ve uzun yarım yağlı olmak üzere iki farklı kuyruk yapısı bildirilmiştir. Uzun yarım yağlı kuyruklarda kuyruk kök kısmında geniştir, aşağıya doğru daralarak iner ve tarsal eklemlere bazen daha da

aşağıya doğru uzanır. Herik koyunu Akkaraman ve Morkaraman koyunlarının Karayaka koçlarla birleştirilmesi ile meydana gelmiştir. Orta Karadeniz Bölgesi'nde özellikle Amasya ili ve çevresinde yetiştirilir (10,13).

Türkiye'de toplam kırmızı et üretiminin (1.221.000 ton) yaklaşık %24'ü koyun ve kuzu etinden karşılanmakta olup, Türkiye'nin koyun varlığının (31.1 milyon) ise yaklaşık %90-95'ini yağlı ve yarım yağlı kuyruklu koyunlar oluşturmaktadır (6). Kurak ve yarı kurak bölgelerde yaşayan insanların önemli geçim kaynağı olan yağlı kuyruklu koyun yetiştiriciliği, aynı zamanda o bölgede yaşayan insanlar tarafından tüketim alışkanlıkları arasında yer aldığından gelecekte bir üretim şeklidir (7,8). Bölge halkı tarafından uzun zamandır yetiştirilen Türkiye'nin yerli ve lokal ırklarından olan Herik kuzularının genel verim özellikleri ve karkas özellikleri ile ilgili çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Geliş Tarihi/Submission Date : 07.06.2016

Kabul Tarihi/Accepted Date : 06.12.2016

\*Bu araştırma TÜBİTAK tarafından desteklenen 115O829 numaralı projeden üretilmiş ve VI. Veteriner Zootečni Kongresi'nde poster olarak sunulmuştur.

Bu çalışma, Herik kuzularının entansif şartlarda beslenmesini takiben karkas kompozisyonunu ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Araştırma Samsun ili Atakum ilçesinde bulunan özel bir koyun işletmesinde yürütülmüştür. İşletme deniz seviyesinden 171 metre yükseklikte, 41° 24' enlem ve 36° 08' boylamda bulunmaktadır. Araştırma süresince ortalama çevre sıcaklığı 22 °C, nispi nem %76 ve yağış miktarı ise 55 mm olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada 10 baş kısa yuvarlak yağlı kuyruklu ve 10 baş uzun yarım yağlı kuyruklu kuzu olmak üzere 20 erkek tek doğmuş Herik kuzusu kullanılmıştır. Doğumdan sonra yaklaşık 2.5 ay anneleri ile birlikte tutulan Herik kuzuları sütten kesimi takiben tartılarak ortalama sütten kesim ağırlığı (20.78±0.5 kg) belirlenmiştir. Sütten kesim sonrası entansif şartlarda besiyeye alınacak kuzulara, besi öncesi iç ve dış parazitlere karşı antelmintik verilmiş ve *Clostridium spp.*'ye karşı aşılanmıştır. Besiyeye alınan kuzuların günde iki kez sağlık durumları kontrol edilmiştir. Besi sonu ağırlığı ortalama 40 kg canlı ağırlığa ulaşan kuzuların kesilmesi hedeflenmiş ve bu amaçla kuzuların periyodik olarak haftalık tartımları yapılmıştır. Besi süresi boyunca kuzulara iki farklı konsantre yem verilmiştir. Kuzulara ortalama 30 kg canlı ağırlığa ulaşınca kadar Diyet 1 (%18 ham protein, 2650 kcal/kg ME), ortalama 40 kg canlı ağırlığa ulaşınca kadar ise Diyet 2 (%16 ham protein,

2650 kcal/kg ME) *ad libitum* olarak verilmiştir. Konsantre yeme ilave olarak önlere her gün kuzu başına 300 g kuru yonca, sürekli ulaşabilecekleri su ve yalama taşı konulmuştur.

Hedeflenen besi sonu canlı ağırlığa 105 günlük besi süresi sonunda ulaşan kuzulara kesimden 12 saat öncesinden başlanarak kesime kadar sadece su verilmiş fakat yem verilmemiştir. Kesimden sonra derinin ayrılması ve iç organların çıkarılmasını takiben sıcak karkas ağırlığı belirlenmiştir. Karkaslar + 4°C'de 24 saat bekletildikten sonra soğuk karkas ağırlıkları tespit edilmiştir. Karkaslar median iki boyunca iki parçaya ayrılmış ve sol yarım karkas Akçapınar (3) yöntemine göre kol, sırt, bel, but ve diğerleri olarak ayrılmıştır. Her karkas parçasının eti (sinirler ve konnektif doku dahil), kemiği ve yağı (subkutan ve intermuskuler yağ) mekanik olarak ayrılmış ve tartılmıştır. Yarım karkas parçalarına ait olan et, kemik ve yağ ağırlıkları iki ile çarpılarak tüm karkas değerleri belirlenmiştir.

### İstatistiksel Analiz

Kuzuların çeşitli karkas parçalarında et, kemik ve yağ ağırlıkları ve oranlar ile Herik kuzularında karkas et ve yağ içinde karkas parçalarının paylarının belirlenmesinde ve ortalamaların karşılaştırılmasında tanımlayıcı istatistikler ve Paired t- testi kullanılmıştır (9).

### Bulgular

Herik kuzularının çeşitli karkas parçalarında et, kemik ve yağ ağırlıkları ve oranları Tablo 1'de,

**Tablo 1.** Herik kuzuların çeşitli karkas parçalarında et, kemik ve yağ ağırlıkları (kg) ve oranları

Karkas parçası	n	Karkas bileşenleri	Doku ağırlığı (kg)		Doku oranı (%)	
			Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma
Sırt	14	Et	0.78	0.05	43.00	2.17
		Kemik	0.35	0.02	19.64	0.85
		Derialtı yağ	0.52	0.03	29.29	2.18
		Kaslar arası yağ	0.14	0.02	8.07	0.92
		Toplam yağ	0.66	0.03	37.29	2.23
Bel	14	Et	0.55	0.03	46.64	1.16
		Kemik	0.18	0.01	15.21	0.38
		Derialtı yağ	0.41	0.02	34.68	1.51
		Kaslar arası yağ	0.04	0.01	3.59	0.73
		Toplam yağ	0.45	0.02	38.36	1.64
But	20	Et	3.37	0.07	56.20	0.85
		Kemik	0.90	0.03	15.15	0.49
		Derialtı yağ	1.39	0.06	23.22	0.79
		Kaslar arası yağ	0.33	0.02	5.46	0.28
		Toplam yağ	1.72	0.06	28.80	0.78
Kol	14	Et	1.56	0.11	61.14	0.95
		Kemik	0.63	0.09	20.79	0.47
		Derialtı yağ	0.33	0.02	12.49	0.82
		Kaslar arası yağ	0.15	0.01	5.68	0.47
		Toplam yağ	0.48	0.02	18.14	0.92
Diğerleri	14	Et	2.92	0.08	52.24	0.99
		Kemik	0.67	0.02	16.37	0.49
		Derialtı yağ	1.03	0.06	18.37	1.18
		Kaslar arası yağ	0.72	0.06	13.44	1.10
		Toplam yağ	1.75	0.07	31.39	1.16

Tablo 2. Çeşitli ırklarda karkas kompozisyonu ile ilgili yapılan araştırmalar

İrk	Ke-sim ağır-lığı	Butta et oranı	Butta yağ oranı	Kolda et oranı	Kolda yağ oranı	Kolda kemik oranı	Sırtta et oranı	Sırtta yağ oranı	Sırtta kemik oranı	Bel-de et oranı	Bel-de yağ oranı	Bel-de kemik oranı	Dİğer-leri et oranı	Dİğer-leri yağ oranı	Dİğer-leri kemik oranı	Literatür	
Dağlıç	40.0	56.20	28.10	15.5	65.20	18.10	16.60	45.03	34.0	20.40	53.0	34.40	12.50	51.60	32.0	16.20	Akçapınar, 1981b (4)
Akkaraman	40.0	60.80	18.10	21.0	68.10	11.70	19.90	50.70	23.5	25.80	60.10	22.70	17.10	56.30	21.40	22.40	Akçapınar, 1981b (4)
Kıvrıkcık	40.0	57.70	25.6	16.6	65.60	18.30	16.60	43.0	34.9	22.10	52.20	32.90	15.0	48.50	34.0	17.40	Akçapınar, 1981b (4)
Akkaraman	40.0	57.12	25.32	17.56	62.07	19.02	18.92	45.35	30.45	24.20	53.80	34.44	11.76	51.11	27.74	21.15	Tufan, 1997 (12)
Alm.Et Mer	40.0				65.56	13.49	17.36										Çetin, 1989 (5)
K.bey Mer	40.0				62.40	17.17	19.15										Çetin, 1989 (5)
Türk Mer	40.0				60.70	18.95	19.44										Tekin ve ark., 1993 (11)

çeşitli ırklarda karkas kompozisyonu ile ilgili yapılan çalışmalara yönelik literatür bilgisi ise Tablo 2'de verilmiştir. Bu araştırmada Herik kuzularında karkas parçaları içinde en yüksek et oranı kol ve butta en düşük et oranı sırtta bulunmuştur. En yüksek kemik oranı sırt ve kolda, en düşük kemik oranı ise butta bulunmuştur. Bunun yanı sıra en yüksek yağ oranı sırt ve belde, en düşük yağ oranı ise kolda tespit edilmiştir.

Herik kuzularının karkas ve karkas parçalarına ait et, kemik ve yağ oranlarının Paired t- testi ile karşılaştırılması sonuçları Tablo 3' de verilmiştir. Buna göre karkas et oranı ile bel et oranı, karkas kemik oranı ile bel kemik oranı arasındaki farkın önemsiz olduğu ( $P>0.05$ ) belirlenmiştir. Bunun yanı sıra karkas kemik oranı ile diğerleri kemik oranı, karkas derialtı yağ oranı ile diğerleri derialtı yağ oranı arasındaki farkın da önemsiz olduğu ( $P>0.05$ ) belirlenmiştir.

Bu araştırmada Herik kuzularında bel parçasının et ve kemik oranının, karkastaki et ve kemik oranına, diğerleri parçasının yağ ve kemik oranının ise karkastaki derialtı yağ ve kemik oranına en yakın ortalama değerlere sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 3).

Herik kuzularında karkas et ve yağı içinde karkas parçalarının payı Tablo 4'de verilmiştir. Buna göre karkas etinin %35.93'ünü but eti, %6'sını ise bel eti oluşturmuştur. Aynı zamanda karkas yağının %6.65'ini bel yağı, %24.44'ünü but yağı ve %25.84'ünü diğerleri parçalarının yağları oluşturmuştur. Yani karkas eti ve karkas yağları en az oranda bel parçasından, en yüksek oranda but ve diğerleri parçalarından sağlanmıştır.

Herik kuzularında karkas parçalarının et ve yağ oranlarının Paired t- testi ile karşılaştırılması Tablo 5'de verilmiştir. Buna göre bu araştırmada bel yağ oranı ile kol yağ oranı arasındaki fark, but yağ oranı ile diğerleri yağ oranı arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

#### Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmada Herik kuzularında butta ve diğerleri parçalarında et, kemik ve yağ oranları sırasıyla %56.2; 28.8; 15.15 ve %52.24; 31.39; 16.37 olarak bulunmuştur. Bu araştırmadaki bulgular, Akçapınar (4) tarafından Dağlıç ırkında but ve diğerleri parçaları için bildirilen değerler ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra Herik kuzularında kolda et, kemik ve yağ oranları sırasıyla %61.14; 18.14 ve 20.79 olarak bulunmuştur. Tufan (12)'nin Akkaraman kuzularında, Çetin (5)'in Karacabey Merinosu kuzularında ve Tekin ve Akçapınar (11)'in Türk Merinosu



**Tablo 3.** Karkas ile karkas parçalarına ait et kemik ve yağ oranlarının karşılaştırılması

Karkas Bileşenleri Oranları	Karkas Parçaları Bileşenlerine ait Oranlar	Önemlilik (P)
Karkas et oranı	Sırt et oranı	0.012
	Bel et oranı	0.255
	But et oranı	0.001
	Kol et oranı	0.001
	Diğerleri et oranı	0.003
Karkas kemik oranı	Sırt kemik oranı	0.002
	Bel kemik oranı	0.218
	But kemik oranı	0.907
	Kol kemik oranı	0.001
	Diğerleri kemik oranı	0.303
Karkas derialtı yağ oranı	Sırt derialtı yağ oranı	0.001
	Bel derialtı yağ oranı	0.001
	But derialtı yağ oranı	0.001
	Kol derialtı yağ oranı	0.001
	Diğerleri derialtı yağ oranı	0.886
Karkas kaslar arası yağ oranı	Sırt kaslar arası yağ oranı	0.266
	Bel kaslar arası yağ oranı	0.001
	But kaslar arası yağ oranı	0.001
	Kol kaslar arası yağ oranı	0.009
	Diğerleri kaslar arası yağ oranı	0.001

**Tablo 4.** Herik kuzularında karkas et ve yağ içinde karkas parçalarının payı

Karkas parçaları	n	Karkas eti içinde karkas parça eti payı (%)		Karkas yağı içinde karkas parça yağ payı (%)	
		Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma
Sırt	14	8.43	0.40	9.79	0.49
Bel	14	6.00	0.18	6.65	0.36
But	20	35.93	0.51	24.44	0.52
Kol	14	17.79	0.62	7.18	0.43
Diğerleri	14	32.05	0.50	25.84	1.01

**Tablo 5.** Bazı karkas parçalarının et ve yağ oranlarının karşılaştırılması

Bazı karkas parçalarının et ve yağ oranları	Önemlilik (P)	
Sırt yağ oranı	Bel yağ oranı	0.001
Sırt yağ oranı	Kol yağ oranı	0.001
Bel yağ oranı	Kol yağ oranı	0.343
But yağ oranı	Diğerleri yağ oranı	0.239
Sırt et oranı	Bel et oranı	0.001
But et oranı	Diğerleri et oranı	0.001
Sırt et oranı	Kol et oranı	0.001

kuzularında kolda et, kemik ve yağ için bildirdikleri oranlar (Tablo 2) bu çalışmadaki verilerle benzer bulunmuştur.

Bu çalışmada Herik kuzularında but yağı oranı ile diğerleri parçasının yağ oranı arasındaki fark önemsiz ( $P>0.05$ ) bulunmuştur. Tufan (12)'nin 40 kg'da kesilen Akkaraman kuzularda yaptığı çalışmada butta yağ oranı ile diğerleri parçasındaki yağ oranı birbirlerine yakındır (Tablo 2). Bu durum çalışmamızın bulguları ile uyumludur.

Akçapınar (4) Dağlıç, Akkaraman ve Kıvırcık ırkında 40 kg kesim ağırlığında yaptığı çalışmada karkasta et, yağ ve kemik oranını sırasıyla Dağlıç ırkında %4.7; 23.3 ve 13.1; Akkaraman ırkında %47.7; 15 ve 17; Kıvırcık ırkında ise % 50.3; 27.2 ve 16.4 olarak bildirmiştir (Tablo 2).

Aynı ırkın karkas parçaları içinde bel parçasının kemik oranı Dağlıç, Akkaraman ve Kıvırcık ırkları için sırasıyla %12.5; 17.1 ve 15 olarak bildirilmiştir. Yani bu ırkların karkastaki kemik oranları ile bel parçasındaki kemik oranı benzerlik göstermektedir. Aynı zamanda Kıvırcık ırkında bel parçasında et oranı %52.2 olarak bildirilmiştir (Tablo 2). Yani Kıvırcık ırkının karkasta et oranı ile aynı ırkın bel parçasının et oranı da benzerlik göstermektedir. Akçapınar (4)'ün bildirdiği bu araştırma bulguları Herik kuzuları için bulunan benzerlik ilişkileri ile uyumludur.

Sonuç olarak, bu çalışmada, verim özellikleri ile çok sınırlı sayıda araştırma yapılmış Türkiye'nin yerli ve lokal bir koyunu olan Herik koyununun karkas kompozisyonu ile ilgili veriler elde edilmiştir. İleride yapılacak hayvan ıslahı prog-

ramlarında gerek saf yetiştirme gerekse melezleme çalışmaları ile verimlerde ilerlemenin ne derece olduğunu belirleyebilmek için yerli koyun ırklarımızda yapılan veya yapılacak çalışmaların önemi büyüktür. Bu nedenle bundan sonra daha büyük bir sürüde farklı kesim ağırlıklarında, farklı verim özellikleri üzerinde araştırmaların planlanması gerekmektedir.

#### **Teşekkür**

Bu araştırmada, Herik kuzularının entansif şartlarda besi performansı, kesim, karkas ve et kalitesi özelliklerini belirlemek amacı ile yürütülen TÜBİTAK projesi (Hızlı Destek Proje No: 115O829) kapsamındaki kuzular kullanılmıştır. Yazarlar bu proje için TÜBİTAK'a teşekkür eder.

#### **Kaynaklar**

1. Akçapınar H. Koyun Yetistirciliği. İsmat Matbaacılık. 2000; p. 32.
2. Akçapınar H, Özbeyaz C. Hayvan Yetiştiriciliği Temel Bilgileri. Kariyer Matbaacılık. 1999; pp. 28-9.
3. Akçapınar H. Dağlıç, Akkaraman ve Kıvırcık kuzularının farklı kesim ağırlıklarında et verimi ve karkas değeri üzerinde karşılaştırmalı araştırmalar. Fırat Üniv Vet Fak Derg 1981; 6(1-2): 165-84.
4. Akçapınar H. Dağlıç, Akkaraman ve Kıvırcık kuzularının farklı kesim ağırlıklarında karkas kompozisyonu ve kalitesi üzerinde karşılaştırmalı araştırmalar. Lalahan Hay Araşt Ens Derg 1981; 11(3-4): 80-99.
5. Çetin O. Alman Et Merinosu ve Karacabey Merinosu kuzularının farklı kesim ağırlıklarında besi performansı ve karkas özelliklerinin karşılaştırılması, Doktora tezi, Ankara Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1989; p. 42.
6. FAO. Sheep population in Turkey ve Sheep meat production in Turkey. <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QL/E>, <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QA/E>, Erişim tarihi: 20.04.2016.
7. Kashan NE, Manafi Azar J, Afzalzadeh GH, Salehi A. Growth performance and carcass quality of fattening lambs from fat-tailed and tailed sheep breeds. Small Ruminant Res 2005; 60(3): 267-71.
8. Pourlis Aris F. A review of morphological characteristics relating to the production and reproduction of fat-tailed sheep breeds. Trop Anim Health Prod 2011; 43(7): 1267-87.
9. SPSS. Statistical package for the social sciences, Release 22.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA, 2013.
10. Türkiye Evcil Hayvan Genetik Kaynakları Tanıtım Kataloğu, [www.tagem.gov.tr](http://www.tagem.gov.tr), Erişim tarihi: 14.04.2016.
11. Tekin ME, Akçapınar H. Türk Merinosu ve Lincoln x Türk Merinosu (F<sub>1</sub>) melezi kuzularının büyüme, besi ve karkas özelliklerinin karşılaştırılması III. farklı kesim ağırlıklarında karkas özellikleri. Hay Araşt Ens Derg 1993; 3(2): 70-4.
12. Tufan M. Güney Karaman (Karakoyun), Kangal-Akkaraman ve Akkaraman kuzularının besi performansı ve farklı kesim ağırlıklarında kesim ve karkas özelliklerinin incelenmesi, Doktora tezi, Selçuk Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya 1997; p. 39.
13. Yarkın I. Herik koyunu yapağısı üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı 1964; 14(1-2): 133-49.

#### **Sorumlu yazar:**

Doç. Dr. Bülent TEKE  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı  
Kurupelit Kampüsü 55139 Atakum / SAMSUN  
GSM: 5063405680  
E-posta: bulentteke@gmail.com





## The Effects of Dexamethasone on Claudin Tight Junction proteins in 18-day Embryonic Chick Intestine\*

Özkan ÖZDEN<sup>1</sup>, Betty BLACK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kafkas University, Faculty of Engineering and Architecture,  
Department of Bioengineering Central Campus, 36100, Kars-TURKEY

<sup>2</sup>Department of Biology, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina-USA.

**Summary:** Claudin (cldn) protein family is the main component of tight junction (TJ) strands and it is directly involved in the barrier function of TJs. In addition to the contributing to the barrier function of TJs in mature tissues, these junctions are also present and required for normal embryonic development of epithelial sheets. Glucocorticoids (GC) are essential for the maturation of numerous tissues including the intestine during embryonic development. They also have stimulatory effects on the integrity of tight junctions. In this study, the effect of a synthetic glucocorticoid, dexamethasone (DEX) on mRNA expression of tight junctional proteins was investigated in 18-day embryonic chick intestine *in vitro* using quantitative Real-Time PCR (RT-PCR) analyses. Pre-hatched chick intestine will provide a convenient model because the organization of the barrier is not completely established, and it is relatively easy to maintain its morphological integrity for at least 24 hours in an organ culture system. RT-PCR analyses revealed that both claudin-3 (cldn-3) and claudin-5 (cldn-5) tight junction gene expressions were induced in response to DEX in a dose dependent manner.

**Key words:** Claudin, dexamethasone, gene expression, glucocorticoids, intestine

### Dexamethasonun 18 Günlük Embriyonik Civciv Bağırsağındaki Claudin Sıkı Bağlantı Proteinlerine Etkileri

**Özet:** Claudin (cldn) protein ailesi sıkı bağlantı yapılarının (tight junctions) temel birleşenidir ve sıkı bağlantı zincirlerinin bariyer fonksiyonuna direk etki eder. Sıkı bağlantıların gelişmiş dokulardaki bariyer fonksiyonuna katkısının yanında, bu bağlantı proteinleri, epitelin embriyonik gelişimi süresince mevcuttur ve normal gelişim için gereklidir. Glukokortikoidler bağırsak dahil birçok dokunun embriyonik gelişimi için esastır. Aynı şekilde, sıkı bağlantıların bütünleşmesine uyarıcı etkileri mevcuttur. Bu çalışmada, sentetik bir glukokortikoid olan dexamethasone (DEX)'in *in vitro* koşullarda 18 günlük embriyonik civciv bağırsağındaki sıkı bağlantı proteinlerinin mRNA ekspresyonlarına bir etkisinin olup olmadığı kantitatif Real-Time PCR (RT-PCR) kullanılarak araştırıldı. Henüz yumurtadan çıkmamış civciv bağırsağı bu çalışma için uygun bir model olmaktadır, çünkü epitelyumdaki bariyer henüz tam olarak oluşmamış ve ayrıca bu bağırsak 24 saatlik organ kültüründe morfolojik bütünlüğünü koruyabilmektedir. RT-PCR analizleri hem cldn-3 hem de cldn-5 sıkı bağlantı proteinlerinin gen ekspresyonlarının DEX'in etkisiyle doza bağlı olarak arttığını ortaya çıkartmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Bağırsak, claudin, dexamethasone, gen ekspresyonu, glukokortikoidler

### Introduction

In chick embryos, rapid functional differentiation of the epithelium occurs between 14<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> days (the week before hatching), including changes in cell shape, formation of microvilli and the terminal web, and a dramatic increase in the density of goblet cells (1,2). The organization and maturation of epithelial and endothelial tight junctions (TJs) occur during this period as well. Claudin (cldn) protein family is the main component of TJ strands and these proteins are directly involved in the barrier function of TJs (3). Additionally, the cldn protein family with its

more than 20 members creates charge and size selective pores in the paracellular pathways, thus exerting a critical influence in the composition of the transported solutes in a tissue specific manner (4-6).

The stimulative effects of glucocorticoids (GCs) on the barrier function of TJs in the mammary gland, intestine, lung, kidney and cerebral endothelia were demonstrated by using transepithelial resistance (TER) and paracellular permeability studies *in vitro* and/or *in vivo* (7-10). Moreover, the enhancing effects of GCs on the expression of endothelial occludin, ZO-1 and cldn-5 were reported (7,11-13). However, not much is known about the effects of GCs on the expression of other tight junctional proteins in various epithelia, even though GCs are currently

Geliş Tarihi/Submission Date : 14.06.2016

Kabul Tarihi/Accepted Date : 28.02.2017

\* This article was summarized from Dr. Özkan ÖZDEN's PhD dissertation.

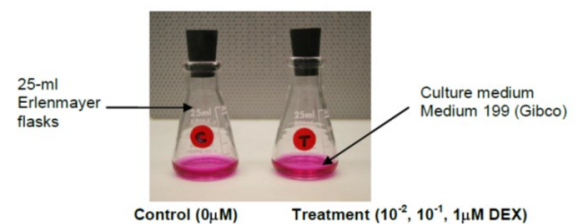


used clinically for the treatment of various epithelial permeability dysfunctions. GCs induce the expression and/or reorganization of TJ proteins in the epithelial and endothelial cell layers; and accordingly, they promote the tightening of the TJ barrier (14). Abnormalities in the barrier function of TJs (increase in paracellular permeability) are seen in various pathological conditions, such as in Crohn's disease, alcoholic liver disease, celiac disease and various diarrheal syndromes (15,16). A number of studies have showed that GC treatment induces a tightening effect on cerebral endothelial TJs in vitro (1,11,17). In endothelial cells, GC treatment changes the position of occludin by its dephosphorylation, and further increases the expression of other TJ proteins to form tighter TJs (18). In cultured brain endothelial cells, 1M dexamethasone (DEX) (a synthetic glucocorticoid) treatment decreased paracellular permeability for sucrose, fluorescein and dextrans of up to 20kDa, probably modulating the expression and/or organization of TJ proteins (10). GCs were suggested to support the integrity of blood-brain barrier (BBB), and they are currently used for the treatment of brain tumors. GCs are also considered a potential treatment for diabetic retinopathy, which is characterized by the loss of blood-retinal barrier (BRB) (14,16). In addition to their tightening effects on endothelial TJs, GCs also affect the strength of epithelial layers in various tissues. In this study, Real-Time PCR (RT-PCR) was utilized to investigate the changes in the expression of cldn-3 and cldn-5 in response to different concentrations of DEX at different time points in 18-day pre-hatch chick intestine.

#### Materials and Methods

**Animals** Fertile broiler-type chicken fertile eggs were obtained from the Poultry Farm of North Carolina State University and incubated for 18 days in a humidified incubator at 37 °C. **Tissue Preparation and Intestinal Organ Culture** Five embryonic chicks were sacrificed, and the duodenal loop was immediately removed and rinsed with phosphate buffered saline (PBS), pH 7.4 to remove blood and debris. Tissue approximately 2-3 mm long pieces were taken from the duodenum loop, split opened. Three 25-mL Erlenmeyer flasks including 3 mL culture medium (Medium 199, GIBCO, USA) and streptomycin were prepared and supplemented with a synthetic glucocorticoid, (DEX)

with final concentrations of 0M,  $10^{-2}$ M,  $10^{-1}$ M, and 1M (Figure 1). Three to five duodenal segments were placed into flasks and gassed with a mixture of 95% O<sub>2</sub> and 5% CO<sub>2</sub>. Flasks including tissue pieces were incubated in a 37 °C incubator. Cultured tissue pieces were preserved in RNAlater (Ambion, USA) solution and stored at -20 °C.



**Figure 1.** Intestinal organ culture was performed in 25-mL Erlenmeyer flasks containing Medium 199.

#### Isolation of Epithelial Cells from Intestinal Villi

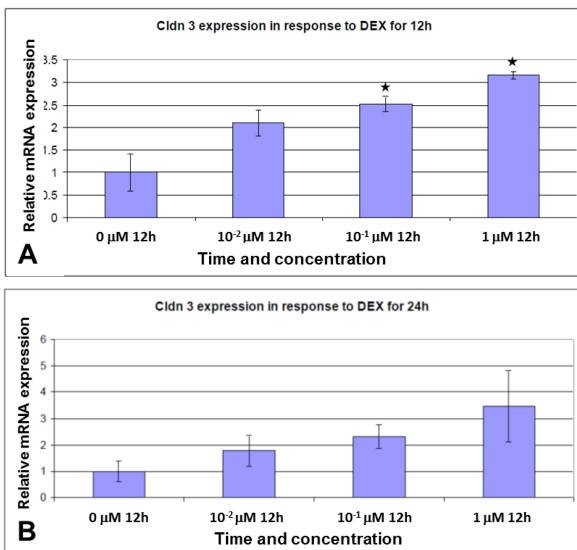
The isolation of epithelial cells from intestinal villi was performed as previously described (19). Briefly, tissue pieces removed from the small intestine were incubated in citrate buffer for 20 minutes at room temperature. Then, they were transferred to an EDTA-containing buffer and incubated at 37 °C with shaking for 30 minutes. The resulting cell suspension was filtered through silk screen to remove tissue debris and centrifuged 1000 rpm for 5 minutes to obtain a pellet of epithelial cells. The cells were re-suspended in PBS buffer and utilized for RT-PCR analyses.

**Total RNA Extraction and SYBR Green Real-Time PCR Analyses** Organ cultured tissues were homogenized in RLT buffer (Qiagen, USA) including  $\beta$ -mercaptoethanol using a bead beater. Total RNA was purified with DNase according to manufacturer instructions (Ambion, USA). Reverse transcription and SYBR green RT-PCR analyses were performed.  $\beta$ -actin was used as an internal control. Cycle threshold (Ct) values were obtained using the Icyler Software, duplicate values of each cDNA were averaged, and relative fold changes were determined using  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method. Experimental errors were calculated by the standard error of the mean (SEM) of normalized Ct values from each treatment group, and were indicated as error bars in the graphs. Least Square Means differences with Student's t test were performed to determine the significance between treatment groups and

$P < 0.05$  was accepted as statistical significance. The annealing temperatures and the expected sizes of produced amplicons for cldns, and the RT-PCR protocol were previously published (20).

**Results**

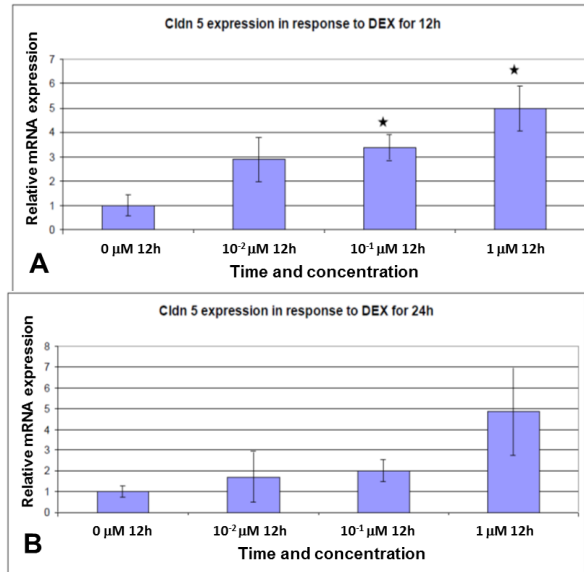
The expression of cldn-3 and -5 was investigated using comparative SYBR Green RT-PCR analysis. Cldn-3 expression was increased in a dose dependent manner in response to DEX (Figure 2). There was no significant time effect on cldn-3 in a given DEX dosage between 12 hours and 24 hours of exposures. At physiological levels ( $10^{-2}M$ ) DEX did not induce any significant increase in cldn-3 for 12 hours. Moderate ( $10^{-1}M$ ) and high levels (1M) of DEX exposure for 12 hours caused approximately 2.5 and 3.2 folds increase in cldn-3 expression, respectively (Figure 2A). DEX exposure for 24 hours caused a dose dependent increase in cldn-3 mRNA levels; however none of them were significant (Figure 2B).



**Figure 2.** Relative expression of cldn-3 in response to DEX. The effects of different concentrations of DEX on cldn-3 expression for 12 hours (A), and for 24 hours (B). n = 3-4. \* indicates the significant difference from 0 $\mu$ M concentration at  $P < 0.05$ .

Relative cldn-5 mRNA levels in response to different concentrations of DEX at different time points were also investigated (Figure 3). Cldn-5 displayed a similar pattern to cldn-3 expression. At a concentration of  $10^{-2}M$ , DEX did not induce any significant increase in cldn-5 for 12-hour exposure (Figure 3A). However, moderate ( $10^{-1}M$ ) and high (1M) doses of DEX exposure for 12 hours induced cldn-5 by approximately 3.4 and 5 fold, respectively (Figure 3A). Twenty-four hours of DEX exposure caused a dose dependent increase in cldn-5 mRNA levels; however none of them were significant (Figure 3B). In summary, cldn-3 and cldn-5 tight junction

gene expressions were induced in response to DEX in a dose dependent manner for 12 hours.



**Figure 3.** Relative expression of cldn-5 in response to DEX. The effects of different concentrations of DEX on cldn-5 expression for 12 hours (A), and for 24 hours (B). n = 3-4. \* indicates the significant difference from 0 $\mu$ M concentration at  $P < 0.05$ .

gene expressions were induced in response to DEX in a dose dependent manner for 12 hours.

**Discussion**

GCs have wide range of effects in the body and modulate approximately 10% of human genes. GCs control metabolism, immune system, growth, differentiation, and development (21). GCs also play essential roles for growth differentiation, metabolism and morphogenesis of numerous mammalian and avian embryonic tissues and organs, such as the intestine, lung and central nervous system (21). GCs play important roles in functional differentiation of intestinal epithelium during the last week of chick embryonic development (19). In addition, usage of exogenous GCs is important for the treatment of various pathological conditions due to anti-inflammatory and epithelial and endothelial barrier enhancing qualities of GCs. GCs are claimed to decrease TJ permeability significantly (shown by decreased paracellular

radiolabeled inulin flux) by suppressing myosin light chain kinase (MLCK) gene activity in Caco-2 intestinal cell lines (8). Exposure of subconfluent Madin-Darby Canine Kidney Cells (MDCK) renal epithelial cells, in which the formation of epithelial barrier is not complete, to 4M DEX for 24 hours did not affect the expression of cldn-1, ZO-1, and occludin, but it significantly increased the TER, probably by modulating the organization and relocalization of TJ proteins to the TJ areas (9). In these studies, DEX had a stronger effect on the formation of the epithelial barrier in subconfluent epithelial cells than in the confluent cells with relatively stable TJ structure (9).

GCs affect cldn-5 expression directly and indirectly in endothelial cell lines (7). Tumor necrosis factor-alpha (TNF) down-regulates the expression of cldn-5 in brain cEND and myocardial MyEND endothelial cells (7). DEX indirectly up-regulates cldn-5 expression by down-regulating the expression of TNF in these endothelial cell lines (7). Additionally, DEX can induce both the promoter activity and mRNA levels of cldn-5 directly in cEND cells but not in MyEND cell lines, which indicate the tissue specific actions of GCs. In this study, as it was hypothesized, GCs induced the expression of cldn-3 and -5 in a dose dependent manner. However, it is not known if DEX directly regulated the expression of these genes by binding their glucocorticoid response element (GRE) regions in their promoters or indirectly changed the activity of other genes such as TNF, cytokines, and glutamine synthetase.

In order to understand the effects of GCs (and other hormones, transcription factors, etc.) on cldn expression, promoter regions of cldns should be cloned and transcription factor binding sites should be identified to determine whether they include any GRE for glucocorticoid activity. However, even though murine cldn-5 includes GRE in its promoter, the regulation of cldn-5 by GCs is cell specific, possibly due to differential activity and distribution of glucocorticoid receptors (7). In addition to genomic regulation, GCs may modulate the organization of cldns at post-transcriptional level. Therefore, the changes in the distribution of cldns at tight junctional areas in response to GCs at protein level should also be examined at the protein level. DEX exposure for 24 hours also seems to induce both cldn-3 and cldn-5 expressions in a dose dependent manner although none of the

doses used caused a significant change. This might stem from variation between culture conditions due to possible decline in the stability of cultured tissues or DEX over prolonged periods. Secondly, desensitization of glucocorticoid receptors or a decline in promoter activity of these genes are possible explanations.

To conclude, the characterization of a general GC action on cldn expression and regulation is very complex. GCs exert their effect in a cell specific manner because there are multiple GC receptors for their binding in different cell types. Secondly, the responsiveness of target genes might be different in different tissues and different developmental stages of an organism. Thirdly, the activity of GCs might be modulated by their interactions with other hormones in a tissue specific manner. The diverse effects of GCs have been reported between different species, and even between individuals in the same species. In addition, the expression and organization of cldns are tissue specific and a role of a specific cldn depends on the presence of other cldns or compatibility of cldns to each other.

#### References

1. Black BL, Smith JE. Regulation of goblet cell-differentiation by calcium in embryonic chick intestine. *Faseb J* 1989; 3(14): 2653-9.
2. Uni Z, Tako E, Gal-Garber O, Sklan D. Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poultry Sci* 2003; 82(11): 1747-54.
3. Sonoda N, Furuse M, Sasaki H, Yonemura S, Katahira J, Horiguchi Y, Tsukita S. Clostridium perfringens enterotoxin fragment removes specific claudins from tight junction strands: evidence for direct involvement of claudins in tight junction barrier. *J Cell Biol* 1999; 147(1): 195-204.
4. Van Itallie CM, Anderson JM. Claudins and epithelial paracellular transport. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 403-29.
5. Colegio OR, Van Itallie CM, McCrea HJ, Rahner C, Anderson JM. Claudins create charge-selective channels in the paracellular pathway between epithelial cells. *Am J Physiol-Cell Ph* 2002; 283(1): C142-C7.
6. Rahner C, Mitic LL, Anderson JM. Heterogeneity in expression and subcellular localization of claudins 2, 3, 4, and 5 in the rat liver, pancreas, and gut. *Gastroenterology*

- 2001; 120(2): 411-22.
7. Burek M, Forster CY. Cloning and characterization of the murine claudin-5 promoter. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 298(1-2): 19-24.
  8. Boivin MA, Ye D, Kennedy JC, Al-Sadi R, Shepela C, Ma TY. Mechanism of glucocorticoid regulation of the intestinal tight junction barrier. *Am J Physiol-Gastr L* 2007; 292(2): G590-G98.
  9. Peixoto EBMI, Collares-Buzato CB. Modulation of the epithelial barrier by dexamethasone and prolactin in cultured Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells. *Cell Biol Int* 2006; 30(2): 101-13.
  10. Romero IA, Radewicz K, Jubin E, Michel CC, Greenwood J, Couraud PO, Adamson P. Changes in cytoskeletal and tight junctional proteins correlate with decreased permeability induced by dexamethasone in cultured rat brain endothelial cells. *Neurosci Lett* 2003; 344(2): 112-16.
  11. Forster C, Silwedel C, Golenhofen N, Burek M, Kietz S, Mankertz J, Drenckhahn D. Occludin as direct target for glucocorticoid-induced improvement of blood-brain barrier properties in a murine in vitro system. *J Physiol-London* 2005; 565(2): 475-86.
  12. Forster C, Burek M, Romero IA, Weksler B, Couraud PO, Drenckbahni D. Differential effects of hydrocortisone and TNF alpha on tight junction proteins in an in vitro model of the human blood-brain barrier. *J Physiol-London* 2008; 586(7): 1937-49.
  13. Stelwagen K, McFadden HA, Demmer J. Prolactin, alone or in combination with glucocorticoids, enhances tight junction formation and expression of the tight junction protein occludin in mammary cells. *Mol Cell Endocrinol* 1999; 156(1-2): 55-61.
  14. Felinski EA, Antonetti DA. Glucocorticoid regulation of endothelial cell tight junction gene expression: novel treatments for diabetic retinopathy *Curr Eye Res* 2005; 30(11): 949-57.
  15. Wild GE, Waschke KA, Bitton A, Thomson ABR. The mechanisms of prednisone inhibition of inflammation in Crohn's disease involve changes in intestinal permeability, mucosal TNF alpha production and nuclear factor kappa B expression. *Aliment Pharm Therap* 2003; 18(3): 309-17.
  16. Rutgeerts PJ. Conventional treatment of Crohn's disease: Objectives and outcomes. *Inflamm Bowel Dis* 2001; 7(1): S2-S8.
  17. Hoheisel D, Nitz T, Franke H, Wegener J, Hakvoort A, Tilling T, Galla HJ. Hydrocortisone reinforces the blood-brain barrier properties in a serum free cell culture system. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 244(1): 312-6.
  18. Antonetti DA, Wolpert EB, DeMaio L, Harhaj NS, Scaduto RC. Hydrocortisone decreases retinal endothelial cell water and solute flux coincident with increased content and decreased phosphorylation of occludin. *J Neurochem* 2002; 80(4): 667-77.
  19. Black BL. Development of glucose active-transport in embryonic chick intestine - influence of thyroxine and hydrocortisone. *Comp Biochem Phys A* 1988; 90(3): 379-86.
  20. Ozden O, Black BL, Ashwell CM, Tipsmark CK, Borski RJ, Grubb BJ. Developmental profile of claudin-3,-5, and-16 proteins in the epithelium of chick intestine. *Anat Rec* 2010; 293(7): 1175-83.
  21. Buckingham JC. Glucocorticoids: Exemplars of multi-tasking. *Brit J Pharmacol* 2006; 147(1): S258-68.

#### Correspondence:

Özkan Özden

Address: Kafkas University,  
Faculty of Engineering and Architecture,  
Department of Bioengineering Kars-Turkey  
E-mail: ozzkan1@gmail.com







## The Effect on Serum Mineral Levels of Acute Septic Mastitis and Clinical Mastitis in Cows

Mushap KURU<sup>1</sup>, Başaran KARADEMİR<sup>2</sup>, Hasan ORAL<sup>1</sup>, Fatih UZUN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University, Kars-TURKEY

<sup>2</sup>Kars Vocational High School, Kafkas University, Kars-TURKEY

<sup>3</sup>Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University, Kars-TURKEY

**Summary:** The purpose of this study is to identify serum Na, K, Ca, Mg, Zn, Cu and Fe levels in cows with acute septic mastitis (ASM) and clinical mastitis (CM). The study consisted 80 cows between the ages of three and five in four groups (ASM, n=20; CM, n=20; Control-1 C1=20, healthy cows, together with ASM or CM cows; Control-2, C2=20, healthy cows, without ASM or CM cows). Serum Na, K, Ca, Mg, Zn, Cu and Fe levels were determined by using atomic absorption spectrophotometry. The Mg levels were lower in the ASM group compared to C1 and C2 groups (P<0.05, and P<0.001 respectively). Zn levels in the ASM and CM animals were lower than those in control groups (P<0.01). Fe concentrations that of the ASM group were found to be statistically lower than in the other groups (P<0.001). The glutaraldehyde (GLA) test was positive in the ASM and CM groups but negative in the control groups. In conclusion, lower levels of Mg, Zn and Fe were found with acute septic mastitis. In clinical mastitis, on the other hand, only the Mg and Zn levels were low. Na, K, Ca and Cu values were not affected. It may also be beneficial to apply minerals such as Mg, Zn and Fe in mastitis treatment.

**Key words:** Acute septic mastitis, clinical mastitis, cow, minerals

### **İneklerde akut septik mastitis ve klinik mastitisin kan serumu mineral düzeylerine etkisi**

**Özet:** Bu çalışmada, akut septik mastitisli (ASM) ve klinik mastitisli (KM) ineklerde serum Na, K, Ca, Mg, Zn, Cu ve Fe düzeylerinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışmada 3-5 yaş arası 80 adet inek kullanıldı ve 4 grup (ASM, n=20; KM, n=20; Kontrol1, K1=20, ASM ve KM'li ahırların sağlıklı hayvanları; Kontrol2, K2=20, ASM ve KM şikayeti olmayan ahırların sağlıklı hayvanları) oluşturuldu. Gruplardan alınan kan serumu örneklerinde atomik absorpsiyon spektrofotometre ile Na, K, Ca, Mg, Zn, Cu ve Fe düzeyleri belirlendi. Ayrıca tüm gruplara glutaraldehid (GLA) testi yapıldı. Ölçüm sonuçlarına göre Na, K, Ca ve Cu düzeylerinin tüm gruplarda benzer olduğu saptandı (P>0.05). Mg düzeyinin ASM grubunda K1 ve K2'ye göre daha düşük olduğu (sırasıyla P<0.05, P<0.001) belirlendi. Zn düzeyinin ise ASM ve KM'li hayvanlarda kontrol gruplarına göre daha düşük düzeyde olduğu saptandı (P<0.01). Fe konsantrasyonunun ise ASM grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak daha düşük düzeyde tespit edildi (P<0.001). GLA testi ASM ve KM gruplarında pozitif, kontrol gruplarında ise negatif olarak bulundu. Sonuç olarak, akut septik mastitiste Mg, Zn ve Fe düzeylerinde düşüş saptandı. Klinik mastitiste ise yalnızca Mg ve Zn düzeylerinin düştüğü belirlendi. Na, K, Ca ve Cu değerlerinin ise etkilenmediği görüldü. Ayrıca mastitis tedavisinde Mg, Zn ve Fe gibi minerallerin uygulaması faydalı olabilir.

**Anahtar kelimeler:** Akute septik mastitis, inek, klinik mastitis, mineraller

### **Introduction**

Mastitis results in significant economic losses to dairy farms because it affects the quality and quantity of milk (1,26,30). Acute septic mastitis (ASM), which is characterized by various symptoms of general disease, can form in cows as bacteria producing endotoxin multiply in one or more quarters of the udder (22). Several risk factors create a predisposition for the disease, including lesions on the udder, incontinentia lactis, the shape of the udder, sagging udder,

asymmetrical udder, periparturient oedema of the udder, the breed and age of the cow as well as number of lactations and vitamin and mineral deficiencies (23). If ASM does not occur early, it is not a difficult disease to diagnose (10). Clinical mastitis (CM), on the other hand, can be caused by several pathogenic microorganisms and results in changes to the color of the milk as well as clotting, flaking and watery appearance (7). Changes that may occur to biochemical parameters of the blood and milk can be used to diagnosis of mastitis (32,36). One study found that serum levels of Zn, Cu and Fe are lower in CM caused by *Escherichia coli* (9). However, a study conducted with *Staphylococ-*

*cus aureus* found a statistically significant decline only in serum Zn levels but no changes in Cu and Fe levels (24).

The purpose of this study is to identify changes in serum levels of Na, K, Ca, Mg, Zn, Cu and Fe in cases of acute septic mastitis (ASM) and clinical mastitis (CM) that may be encountered during lactation in cows.

#### Material and Methods

The study was conducted after receiving approval from the Kafkas University Animal Experiments Local Ethics Committee (KAÜ-HADYEK / 2014-037).

#### Animals

The study material consisted of animals in smallholder dairy farms from Kars and surrounding areas. The study material was obtained from 80 Simmental cows from 3 to 5 years of age. The cows' body condition scores ranged from 2.75-3.25 on a 5-point scale with increments of 0.25 (7) and daily milk production was  $15 \pm 3$  liters.

#### Study groups

The cows were divided into group one (ASM, n=20), group two (CM, n=20), group three (Control-1, C1, n=20, healthy cows, which together with ASM or CM cows), and group four (Control-2, C2, n=20, healthy cows, which together without ASM or CM cows). After the clinical examinations, cases with high body temperature, depression, rapid heart and respiratory rates, downer cows, symptoms of shock, dehydration, diarrhea, infective udder and abnormal milk secretion were classified as ASM (10,11,23). Cows with physical changes in the milk accompanied by local symptoms such as udder edema, redness and sensitivity were classified as CM (4,32).

#### Biochemical analysis

Blood was collected from selected cows' *vena coccygea* using empty 10 mL vacuum tube (BD<sup>®</sup>, Tıpkimsan, Turkey) without anticoagulant. The collected blood samples were centrifuged (Hettich Universal 320<sup>®</sup>, Hettich, Germany) for 10 min at 3500 rpm and then the serum samples were stored at -20°C until the serum samples were analyzed.

The serum Na, K, Ca, Mg, Zn, Cu and Fe concentrations were determined by using Atomic Absorption Spectrophotometry (Thermo Elemental S4<sup>®</sup>-Thermo Electron Corporation, UK) equipped with a flame system. In order to demonstrate the reliability of the measurements

performed by the machine, standard solutions with previously specified concentrations were read by the machine after every fifth sample measurement. This data was used in the calculation of coefficient variation (CV). Following the CV results for each mineral, the following determinations were made – Na: 2.04%, K: 2.33%, Ca: 2.98%, Mg: 2.73%, Zn: 1.88%, Cu: 3.21%, and Fe: 6.31% (15,17,19).

The glutaraldehyde (GLA) test solution in the study was prepared using 5.6 mL glutaraldehyde (Merck S30895 027, Germany), 200 mg disodium ethylenediaminetetraacetic acid (Merck 14.3517, Germany), 900 mg sodium chloride (Merck 106404, Germany) and 94.4 mL distilled water to make 100 mL. Whole blood was mixed with the GLA test solution described above at a ratio of 1:1. The vial was inverted every 15 sec, and the coagulation status of the mixture was checked. Complete coagulation was recorded as the final test time. If coagulation did not occur in 16 min or more, the GLA test was considered negative and the test time was recorded as 16 min (13,14).

#### Statistical analysis

The SPSS<sup>®</sup> (SPSS 20, IL, USA) program was used for the statistical analysis of the serum Na, K, Ca, Mg, Zn, Cu and Fe levels. Statistical differences between the groups were assessed with the ANOVA and post-hoc Tukey HSD test. Comparison of the GLA test values between the ASM and CM groups was conducted using the Independent Samples T test. The results that were obtained were given as Mean  $\pm$  Standard error of mean (SEM). Values of P<0.05 or lower were considered statistically significant in the statistical assessment.

#### Results

The measurements established no statistical difference in serum Na (P=0.667), K (P=0.958), Ca (P=1.000) and Cu (P=0.139) levels between the groups. The change in Mg concentrations were similar within the mastitis groups (ASM and CM groups, P=0.65) and within the control groups (C1 and C2 groups, P=0.986). The ASM group Mg levels were statistically lower than the control groups (P<0.001). The CM group Mg levels were also statistically different from that of the control groups (P=0.014, P=0.005 respectively) (Table 1).

It was determined that the change in serum Zn levels was not statistically significant within the mastitis groups (ASM and CM, P=0.531) and

within the control groups (C1 and C2,  $P=0.995$ ). In the ASM group, Zn levels were affected by the infection and declined in comparison with the control groups ( $P<0.001$ ). CM group serum Zn concentrations were statistically different from that of the control groups ( $P=0.02$ ,  $P=0.01$  respectively) (Table 1).

The Fe concentrations were similar between CM and the control groups ( $P>0.05$ ), but statistically different between ASM and CM and control groups (ASM and CM  $P=0.01$ , ASM and C1  $P=0.001$ , ASM and C2  $P<0.001$  respectively) (Table 1).

The results of the GLA test were negative in the control groups. However, in the ASM group, GLA was  $11.8 \pm 3.41$  min. and in the CM group it was  $15.35 \pm 1.59$ . It was determined that the GLA test results of these two groups were statistically different ( $P<0.001$ ) (Table 1).

claim that serum Na levels decrease but that K levels are not affected (34). In our study, however, no statistical difference was found in serum Na and K levels in any of the groups ( $P=0.667$  and  $P=0.958$  respectively).

Serum Ca levels reportedly do not change (31,32,34) or decrease (8) in CM. Bleul et al. (3) found that serum Ca levels remained within the reference range in most of the cows they diagnosed with ASM. Studies have shown that Cu concentrations are not statistically affected in mastitis experimentally induced with *E. coli* or *S. aureus* in cows (9,24). However, in some studies (30,37), the serum Cu levels of animals with mastitis were statistically different from those of healthy animals. Our study found that serum Ca and Cu concentrations were similar in ASM, CM and control groups ( $P=1.000$  and  $P=0.139$  respectively).

**Table 1.** Change in serum Na, K, Ca, Mg, Cu, Zn and Fe concentrations by groups

Parameters	ASM (n=20) Mean $\pm$ SEM	CM (n=20) Mean $\pm$ SEM	C1 (n=20) Mean $\pm$ SEM	C2 (n=20) Mean $\pm$ SEM	P-value
Na %mg	210.68 $\pm$ 5.47	220.28 $\pm$ 6.78	211.33 $\pm$ 6.90	216.13 $\pm$ 5.97	0.667
K %mg	21.66 $\pm$ 0.40	21.65 $\pm$ 0.54	21.47 $\pm$ 0.40	21.81 $\pm$ 0.38	0.958
Ca %mg	7.59 $\pm$ 0.22	7.57 $\pm$ 0.25	7.59 $\pm$ 0.20	7.58 $\pm$ 0.19	1.000
Mg %mg	1.49 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	1.59 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	1.85 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.87 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	<0.001
Cu $\mu$ g/dL	74.04 $\pm$ 3.26	67.13 $\pm$ 2.88	65.95 $\pm$ 1.97	73.78 $\pm$ 4.01	0.139
Zn $\mu$ g/dL	58.06 $\pm$ 2.00 <sup>a</sup>	62.84 $\pm$ 2.30 <sup>a</sup>	73.37 $\pm$ 2.91 <sup>b</sup>	74.21 $\pm$ 2.67 <sup>b</sup>	<0.001
Fe $\mu$ g/dL	132.31 $\pm$ 3.12 <sup>a</sup>	149.57 $\pm$ 2.39 <sup>b</sup>	154.26 $\pm$ 3.90 <sup>b</sup>	155.22 $\pm$ 5.20 <sup>b</sup>	<0.001
GLA Test (min)	11.8 $\pm$ 0.76 <sup>a</sup>	15.35 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	Negatif	Negatif	<0.001

ASM: Acute septic mastitis (n=20), CM: Clinical mastitis (n=20), C1: Healthy cows, which together with ASM or CM cows (n=20), C2: Healthy cows, which together without ASM or CM cows (n=20)

SEM: Standard error of mean, GLA: Glutaraldehyde, min: Minute

<sup>a, b</sup>: The difference between values with different letters on the same line is significant at the P value

## Discussion and Conclusion

Trace elements and macro minerals are vitally important to human and animal health (25). Numerous studies have been conducted on the change in the serum levels of these elements in clinical mastitis as they play a role in several biological functions (2,8,9,30). However, information on the changes in serum levels of trace elements and macro minerals is more limited (3).

In a study conducted by Rişvanlı et al. (31), the authors reported that serum Na and K levels were lower in CM cows compared to the control group. However, similar studies have found that serum Na and K levels are not affected by mastitis (2,8,32). There are also researchers who

Mg concentrations reportedly decrease under conditions of stress and inflammation (16,18,33). Researchers have also noted that serum Mg levels decrease in CM and ASM, but were unable to establish a statistically significant difference with control groups (3,8,32). In our study, on the other hand, the Mg concentrations of the ASM and CM groups were lower than those of the control groups and the difference was statistically significant. These values are different from the information available in the literature and might be due to the rations being fed or the severity of the infection. Plasma Mg may be related to lypolysis during stress, cold, or starvation. Diet with inadequate Mg can reduce blood Mg (33).

Zn is an essential component of DNA and RNA synthesis. Cu and Zn join the superoxide dismutase (SOD) structure and serve in the antioxidant system. They may play a role in cell replication and proliferation (35). Zn is an essential element required for the normal growth of bacteria, and serum Zn concentrations decrease in response to infection (21). Studies on cows have shown that administration of oral Zn increases teat canal keratin levels and reduces the somatic cell count and the formation of mastitis (28). The lower serum Zn levels in clinical mastitis and experimentally-induced mastitis have been shown to be statistically significant compared to control groups (9,24,30). In our study, serum Zn levels were statistically different in ASM and CM compared to the control groups ( $P < 0.001$ ). This result is consistent with other studies (9,24,30). It is thought that serum Zn levels are affected by infection and decrease, and this may be due to the fact that Zn plays a non-specific role in host immunity.

Fe is required for the growth of gram-negative bacteria, it is thought that there are immune systems that reduce levels of Fe during infections and restrict the growth of bacteria (5,9). Studies have reported that Fe levels may decrease in cases of stress and inflammation (12,27). Serum Fe concentrations in cows with mastitis are not statistically different than those in healthy animals (24,32,37). In our study, there was no statistically significant difference between the group with clinical mastitis and the control groups ( $P = 0.548$ ). Serum Fe levels in the ASM group were statistically lower than those of the CM and control groups ( $P < 0.001$ ). In cows with experimental mastitis induced with *E. coli*, which is one ASM factor, serum Fe concentrations are reported to be statistically lower than pre-administration (9). The Fe findings obtained in our study are consistent with the literature. It was determined that serum Fe levels can be affected by severe infection originating in the udder.

Identification of proteins in the blood can provide important information about inflammation in the body. The GLA test is a quick, simple and semi-quantitative way to determine blood protein and fibrinogen conditions (20). Coagulation time on the GLA test has been shown to be shorter in cattle with traumatic reticuloperitonitis (13,14). In our study, the GLA test on the control groups was negative, but it was positive for

the ASM and CM groups with a mean of  $11.8 \pm 3.41$  and  $15.35 \pm 1.59$  min, respectively. These results indicate that there are changes in blood protein that indicate mild generalized inflammation in the cattle with mastitis in groups ASM and CM. The decline in Zn and Fe levels parallel to the results of the GLA test are remarkable (Table 1). This finding is similar to the decline in Zn levels that Karademir (16) found in cases of inflammation with the Foot and Mouth Disease vaccination in cattle. Similar studies that induce inflammation and stress with the infectious bovine rhinotracheitis in cattle have reported a decline in serum Zn and Mg levels like those in this study (6,29).

In conclusion, inflammation and stress that occurs with ASM and CM do affect serum mineral levels in cows. The presence of inflammation is supported by the GLA test results. The decline in Mg, Zn and Fe levels was expected with acute septic mastitis, but the fact that only Mg and Zn levels declined in clinical mastitis is noteworthy. No significant changes in Na, K, Ca and Cu values were observed. There are not many studies related to changes in serum trace elements and macro minerals in cows with ASM, so it was decided that these results would be a contribution to the literature. It may also be useful to measure Mg, Zn and Fe levels in order to diagnose mammary infections and this type of minerals can be applied in addition to treatment of mastitis.

#### References

1. Atakisi O, Oral H, Atakisi E, Merhan O, Pancarci SM, Ozcan A, Marasli S, Polat B, Colak A, Kaya S. Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk. *Res Vet Sci* 2010; 89(1): 10-3.
2. Atroshi F, Parantainen J, Sankari S, Järvinen M, Lindberg LA, Saloniemi H. Changes in inflammation-related blood constituents of mastitic cows. *Vet Res* 1996; 27(2): 125-32.
3. Bleul U, Sacher K, Corti S, Braun U. Clinical findings in 56 cows with toxic mastitis. *Vet Rec* 2006; 159(20): 677-9.
4. Blowey R, Edmondson P. *Mastitis Control in Dairy Herds*. Second Edition. Gloucester: CABI, 2010; p. 5-59.
5. Bullen JJ. The significance of iron in infection. *Rev Infect Dis* 1981; 3(6): 1127-38.
6. Chirase NK, Hutcheson DP, Thompson GB.

- Feed intake, rectal temperature, and serum mineral concentrations of feedlot cattle fed zinc oxide or zinc methionine and challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus. *J Anim Sci* 1991; 69(10): 4137-45.
7. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 1989; 72(1): 68-78.
  8. El Zubeir IE, ElOwni OA, Mohamed G. Effect of mastitis on macro-minerals of bovine milk and blood serum in Sudan. *J S Afr Vet Assoc* 2005; 76(1): 22-5.
  9. Erskine RJ, Bartlett PC. Serum concentrations of copper, iron, and zinc during *Escherichia coli*-induced mastitis. *J Dairy Sci* 1993; 76(2): 408-13.
  10. Green M. Toxic mastitis in cattle. In *Practice* 1998; 20(3): 128-33.
  11. Green MJ, Cripps PJ, Green LE. Prognostic indicators for toxic mastitis in dairy cows. *Vet Rec* 1998; 143(5): 127-30.
  12. Hershko C, Cook JD, Finch CA. Storage iron kinetics. VI. The effect of inflammation on iron exchange in the rat. *Br J Haematol* 1974; 28(1): 67-75.
  13. Karademir B. Effect of intraperitoneal exudate existing upon the total and differential leukocyte count in cattle with traumatic reticuloperitonitis. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2005; 11(2): 159-61.
  14. Karademir B. Evaluation of glutaraldehyde test in traumatic reticuloperitonitis in cattle. *Indian Vet J* 2006; 83(9): 996-8.
  15. Karademir B. Comparisons of some sample preparation methods for blood-serum copper and zinc at atomic absorption spectrometer. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2007; 13(1): 61-6.
  16. Karademir B. Effect of stress induced by vaccination on blood plasma copper, zinc, potassium and magnesium. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2007; 13(1): 49-54.
  17. Karademir B. Effects of fluoride ingestion on serum levels of the trace minerals Co, Mo, Cr, Mn and Li in adult male mice. *Fluoride* 2010; 43(3): 174-8.
  18. Karademir B, Eseceli H, Kart A. The effect of oral levothyroxine sodium on serum Zn, Fe, Ca and Mg levels during acute copper sulfate toxication in rabbits. *J Anim Vet Adv* 2010; 9(2): 240-7.
  19. Karademir B. Effects of oral zinc sulfate applications at different pH (ascorbic acid, vinegar of grapes and distilled water) on serum zinc levels in rabbits. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2011; 58(1): 11-6.
  20. Liberg P. Glutaraldehyde and formol-gel tests in bovine traumatic peritonitis. *Acta Vet Scand* 1981; 22(1): 78-84.
  21. Lohuis JA, Kremer W, Schukken YH, Smit JA, Verheijden JH, Brand A, Van Miert AS. Growth of *Escherichia coli* in whole and skim milk from endotoxin-induced mastitic quarters: In vitro effects of deferroxamine, zinc and iron supplementation. *J Dairy Sci* 1988; 71(10): 2772-81.
  22. Menzies FD, McBride SH, McDowell SW, McCoy MA, McConnell W, Bell C. Clinical and laboratory findings in cases of toxic mastitis in cows in Northern Ireland. *Vet Rec* 2000; 147(5): 123-8.
  23. Menzies FD, Gordon AW, McBride SH, Goodall EA. Risk factors for toxic mastitis in cows. *Vet Rec* 2003; 152(11): 319-22.
  24. Middleton JR, Luby CD, Viera L, Tyler JW, Casteel S. Short communication: Influence of *Staphylococcus aureus* intramammary infection on serum copper, zinc, and iron concentrations. *J Dairy Sci* 2004; 87(4): 976-9.
  25. Naresh R, Dwivedi SK, Dey S, Swarup D. Zinc, copper and cobalt concentration in blood during inflammation of the mammary gland in dairy cows. *Asian-Aust J Anim Sci* 2001; 14(4): 564-6.
  26. Oral H, Çolak A, Polat B, Cengiz M, Cengiz S, Baştan A, Kaya S. The effectiveness of the *Aloe vera* therapy for the treatment of subclinical mastitis in dairy cows. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2014; 11(3): 157-61.
  27. Oral H, Öğün M, Kuru M, Kaya S. Evaluation of certain oxidative stress parameters in heifers that were administered short term PRID. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2015; 21(4): 569-73.
  28. O'Rourke D. Nutrition and udder health in dairy cows: A review. *Ir Vet J* 2009; 62 (Suppl 4): 15-20.
  29. Orr CL, Hutcheson DP, Grainger RB, Cummins JM, Mock RE. Serum copper, zinc, calcium and phosphorus concentrations of calves stressed by bovine respiratory disease and infectious bovine rhinotracheitis. *J Anim Sci* 1990; 68(9): 2893-900.
  30. Ranjan R, Swarup D, Naresh R, Patra RC.



- Enhanced erythrocytic lipid peroxides and reduced plasma ascorbic acid, and alteration in blood trace elements level in dairy cows with mastitis. *Vet Res Commun* 2009; 29(1): 27-34.
31. Rişvanlı A, Türköz Y, Kalkan C, Çetin H. An investigation on the serum levels of biochemical variables in the cows with clinical mastitis. *FÜ Sağlık Bil Derg* 1999; 13(2): 131-4.
  32. Rişvanlı A, Kaygusuzođlu E, Çetin H, Öcal H. A study on the some electrolyte levels and mineral substances in blood sera of cows with clinical and subclinical mastitis. *YYÜ Vet Fak Derg* 2000; 11(1): 61-5.
  33. Sadeghian S, Kojouri G, Eftekhari Z, Khadivar F, Bashiri A. Study of blood levels of electrolytes of infected cattle with healthy cattle. *Intern J Appl Res Vet Med* 2011; 9(2): 204-10.
  34. Şimşek H, Aksakal M. The effect of vitamin E on some biochemical values in cows with subclinical mastitis. *YYÜ Vet Fak Derg* 2005; 16(1): 37-40.
  35. Spears JW, Weiss WP. Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *Vet J* 2008; 176(1): 70-6.
  36. Verheijden JH, van Miert AS, Schotman AJ, van Duin CT. Plasma zinc and iron concentrations as measurements for evaluating the influence of endotoxin-neutralizing agents in *Escherichia coli* endotoxin-induced mastitis. *Am J Vet Res* 1982; 43(4): 724-8.
  37. Yıldız H, Kaygusuzođlu E. Investigation of Ca, Zn, Mg, Fe and Cu concentrations in blood and milk of cows with negative and positive CMT results. *Bull Vet Inst Pulawy* 2005; 49(2): 209-13.

**Correspondence:**

Mushap KURU,  
Department of Obstetrics and Gynecology,  
Faculty of Veterinary Medicine,  
Kafkas University, Paşaçayırı Campus,  
36100, Kars-TURKEY  
Tel: +90 474 242 6807 / 5218 (extension),  
Fax: +90 474 242 6853  
E-mail: mushapkuru@hotmail.com



## Production of Traditional Yoghurt Using Starter Culture Obtained from Koumiss\*

Natalia KURT<sup>1</sup>, Momun ARZIBAYEV<sup>1</sup>, Zafer GONULALAN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kyrgyz National Agrarian University named after K. I. Skryabin, Bishkek-KYRGYZSTAN

<sup>2</sup>University of Erciyes, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Kayseri-TURKEY

**Summary:** The objective of this study is to use *Lactobacillus paraplantarum* and *Leuconostoc mesenteroides subs. cremoris* to obtain koumiss and practice them in preparation of yoghurt. Twenty five samples of koumiss bought from different places of Kyrgyzstan were used to obtain *Lactobacillus paraplantarum* and *Leuconostoc mesenteroides subs. cremoris*. Standard microbiological methods were conducted for isolation of starter culture microorganisms. Identification process was performed with characterizing by Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectroscopy (MALDI-TOF MS). The obtained starter culture microorganisms were used in preparation of yoghurt according to the traditional method of yoghurt production. Produced yoghurt samples and control group were exposed to sensorial analysis. Sensorial and physical properties of yoghurt prepared by using the isolated strains from koumiss were not found to be significantly different from commercial yogurt in statistical analyses. In conclusion, it was seen that starter culture obtained from koumiss can be used in production of yoghurt and also received results can be used as a base for investigations on using culture microorganisms obtained from koumiss in production of different types of dairy products.

**Key words:** Koumiss, *Leuconostoc mesenteroides subs. cremoris*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus ssp.*, yoghurt.

### Geleneksel Yoğurt Üretiminde Kımızdan Elde Edilen Starter Kültürlerin Kullanımı

**Özet:** Bu çalışma, kımız'dan elde edilen *Lactobacillus paraplantarum* ve *Leuconostoc mesenteroides subs. cremoris* bakterilerinin yoğurt üretiminde starter kültür olarak kullanımını incelemek için gerçekleştirilmiştir. Kırgızistan'ın farklı yerlerinden temin edilen 23 adet kımız örneğinden *Lactobacillus paraplantarum* ve *Leuconostoc mesenteroides subs. cremoris* standart kültür metotları kullanılarak izole edildi. İdentifikasyon için, matriks ile desteklenmiş lazer desorbsiyon/iyonizasyon kütle spektrometresi (MALDI-TOF MS) yöntemi kullanıldı. Elde edilen kültürler geleneksel yöntemle yoğurt yapımında starter kültür olarak kullanıldı. Üretimi yapılan yoğurt örnekleri ile kontrol olarak kullanılan yoğurt örneği duyu analizi ile değerlendirildi. İstatistiksel analizde yoğurt örnekleri, kontrol grubu arasında önemli bir fark tespit edilemedi. Sonuç olarak, kımızdan elde edilen starter kültürler ile yoğurt üretilbileceği, aynı zamanda elde edilen kültürlerin farklı süt ürünlerinin üretiminde kullanılmasının mümkün olabileceği ifade edilebilir.

**Anahtar kelimeler:** Kımız, *Leuconostoc mesenteroides subs. cremoris*, *Lactobacillus paraplantarum*, *Lactobacillus ssp.*, yoğurt.

### Introduction

Traditional yoghurt is produced by using a culture of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* bacteria to meet the standard of identity for yogurt. In addition, other microorganisms belonged to *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* genus, are also sometimes added during or after culturing yoghurt (7,15,18).

Koumiss is fermented milk traditionally made from mare's milk and is important to the people of the Central Asian steppes, including Mongo-

lia, Kazakhstan, Kyrgyzstan and in some Russian and Chinese regions (5,22). Koumiss is a dairy product similar to kefir, but is produced from a liquid starter culture (usually by back-slopping), in contrast to the solid kefir grains. Because mare's milk contains more sugars than the cow's or goat's milk fermented into kefir, koumiss has a higher, though still mild, alcohol content (9,19,22). Even in the areas of the world where koumiss is popular today, mare's milk remains a limited commodity.

Because of the health-protective effects of starter cultures, food produced by probiotic microorganisms is estimated as a functional product. To provide a supply of the high-quality and safe health-protective products, the range of products containing probiotic cultures should be in-

Geliş Tarihi/Submission Date : 07.03.2017

Kabul Tarihi/Accepted Date : 18.04.2017

\*This paper was summarized from the masters' level thesis of the same title

creased. Probiotics may produce bacteriocins, which are defined as ribosomally synthesized antimicrobial peptides, produced as a defense response and generally active against closely related bacteria (17).

Most probiotics belong to *Lactobacillus* and *Bifidobacteria* genera and, the former is the most abundant member of the group of lactic acid bacteria (LAB). Many lactobacilli are used as starter cultures for manufacturing cheeses, yoghurt, sourdough breads, silage, table olives, sauerkraut, fermented fish and sausages. Lactobacilli play a role as natural biopreservatives in non-fermented vegetables (2,6).

The lactobacilli include more than 25 unique species, and the first level of differentiation is based on end-product composition; some are homofermentative, whereas others are heterofermentative. The former are classified as organisms that produce >85% lactic acid as their end-product from glucose. The latter include organisms that produce approximately 50% lactic acid as an end-product, with considerable amounts of carbon dioxide, acetate, and ethanol (1).

*Lactobacillus paraplantarum* is a facultative heterofermentative rod shaped Gram-positive bacterium that grows from 15 °C to 37 °C, with NaCl concentrations up to 8% and it is closely related to *L. plantarum* and *L. pentosus*. (4,20). *L. paraplantarum* isolated from raw or spontaneously fermented cider, cabbages, capers (8).

The *Leuconostocaceae* family belongs to the order of Lactobacillales that are commonly called LAB like the *Lactobacillaceae* family. Their main trait is the production, exclusively or not, of lactic acid from carbohydrate fermentation. In the past, they formed the *Leuconostoc* genus, which was roughly defined as heterofermentative cocci. To date, this family comprises four genera: *Fructobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, and *Weissella* (14).

*Leuconostoc* strains are often present in dairy starter cultures and also in the dairy environment and thus could be considered as non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) in the same way as mesophilic lactobacilli. Their role in the formation of aroma and texture of certain dairy products is essential (3).

Strains of the taxa *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum* and *Leu. mesenteroides* ssp. *cremoris* are frequently used, together with *Lactococcus* spp., as mesophilic starter cultures

in dairy fermentations. The ability of *Leu. mesenteroides* ssp. *cremoris* to produce diacetyl and acetoin from citrate has led to its widespread use as a characteristic aroma producer in cultured dairy products, such as cultured buttermilk, creamery butter, cultured sour cream, and some cheeses (11,12,21).

*Leuconostocaceae* species have a relatively poor acidifying power and mainly are chosen for their capacity to produce typical aromas and flavors and to inhibit some undesirable contaminants. The balance between diacetyl, which is the most aromatic compound, and other products depends on the pH of the medium, temperature, and redox potential, and partially on the strain itself. The sensory quality of fermented milk also includes viscosity resulting from the synthesis of polysaccharides (14).

The aims of this study were, first, to investigate the effects of *L. paraplantarum* and *Leu. mesenteroides* subs. *cremoris* microorganisms isolated from koumiss in Kyrgyzstan, second, to prepare yoghurt using isolated microorganisms, and third, to compare the sensorial and physical characteristics of the prepared yoghurt with those of commercial yoghurt. This paper reports, for the first time, the successful isolation of *L. paraplantarum* and *Leu. mesenteroides* subs. *cremoris* from koumiss in Kyrgyzstan, and also shows that the characteristics of the yoghurt prepared by using isolated LAB were better than those of commercial yogurt. Based on the results, we can speculate that koumiss can be used as a source of LAB for preparation yoghurt and other dairy products.

## Materials and Methods

### Koumiss samples

In the period from June 2015 to March 2016, koumiss samples were collected at Bishkek and Narın regions in Kyrgyzstan. In each of the two regions, samples were taken from several places. Koumiss materials were carefully handled to avoid contamination, and each sample was immediately put in refrigerator and brought to laboratory.

### Isolation of culture microorganisms

Keeping aseptic laboratory techniques one ml of each sample of koumiss was taken and added to 9 ml Ringer solution, so  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  dilutions was made. One ml of each aliquot was put in Petri dishes and culture media was poured into shallow, covered dishes to harden. Duplicate experiments were done; MRS and M17

broth were used. The plates were incubated anaerobically using the Anaerogen system (Oxoid) at 30 °C for 72 h to obtain Lactic acid bacteria (LAB) colonies.

The LAB (1% v/v) were cultivated in sterile 10 mL aliquots of de Man Rogosa and Sharpe (MRS) broth and incubated for 24 h at 37 °C. The cultures were centrifuged at 5000 g for 15 min to separate bacteria. Biomass washed twice with sterile distilled water. The bacteria were then inoculated into skim milk (12% w/v) and incubated at 37 °C for 24 h as a pre-culture to obtain approximately 10<sup>8</sup> colony forming units (CFU)/mL (16).

#### **Characterization and identification of the isolated bacteria**

The microorganisms were identified by using a system formed by comparison with a reference spectrum obtained from colonies formed on M17 and MRS agar. Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) (VITEK® MS) (bioMérieux, France) was utilized to identify the protein profiles of cell structures of the microorganisms.

#### **Preparation of yoghurt**

For yoghurt production, pasteurized milk of 3.2% fat was purchased from the local market and stored at 6°C until use. Before inoculation milk was heated at 90°C for 10 min in a boiling water bath with continuous stirring to increase the viscosity of the final product. After that milk was immediately cooled to 45°C using tap water (19). Heat treated milk was then inoculated with 1% starter cultures (approximately 10<sup>8</sup> colony forming units (CFU)/mL.) and incubated at 43°C for about 6 hours until a curd formed and pH value of 4.5 was reached. pH values were measured using a glass electrode connected to Fisher Scientific AB 15 plus digital pH meter. After that yoghurt samples were put in refrigerator at 6°C for 12 hours to improve its consistency and sensorial characteristics.

#### **Sensory Analyses**

A panel of 23 untrained assessors evaluated the sensory attributes of the yoghurt samples for flavor, appearance and overall acceptance

based on the method developed by International Dairy Federation (13). The test was accomplished based on 5-point hedonic scale by panelists and scaled as 1 = dislike extremely, 2 = dislike moderately, 3 = neither like nor dislike, 4 = like moderately and 5 = like extremely.

The samples, each of which was given a three digit code, were served in plastic containers under normal light. The panelists received the samples randomly. They were asked to rinse their mouth with water between each sample testing.

#### **Statistical Analyses**

All data were subjected to one-way analysis of variance (ANOVA) using SPSS 20 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2002). Significance of results controlled using by Duncan test (10).

#### **Results**

Based on the results presented in this paper, it can be assumed that starter strains for yoghurt have been primarily derived from koumiss, and koumiss produced in Kyrgyzstan is potential source for *Lactobacillus ssp.* strains.

The characteristics of the selected strains isolated from koumiss were compared in relation to yoghurt production with those of the current commercial starter strains. Organoleptic results obtained from 23 panelists were estimated by using Duncan test.

As a result of analysis it is seen that yoghurt prepared with *L. paraplantarum* got 26.63 average mark, yoghurt prepared with *L. paraplantarum* and *Leu. mesenteroides subs. cremoris* got 26.26 average mark and purchased yoghurt got 24.39 average mark. There were no significant differences between groups (P>0.05) (Table 1).

#### **Discussions**

It was concluded that the selected LAB strains are similar to the industrial strains in respect to their ability to produce yoghurt. And from the preliminary sensory examinations, the quality of the yoghurt prepared by pure starter and starter combinations, which contained either one or two koumiss-originated strains, was shown to be within the high range compared with those of commercial yoghurt. These results suggest that,

**Table 1.** Organoleptic Analysis Results of Groups

Yoghurt Samples	Mean±SEM	P
<i>L. paraplantarum</i>	25.63±3.68	0.635
<i>L. paraplantarum</i> and <i>Leu. mesenteroides subs. cremoris</i>	26.26±3.36	0.713
Purchased yoghurt	24.39±6.14	0.222

at a minimum, yoghurt with an acceptable quality could be prepared using starter combinations of *L. paraplantarum* and *Leu. mesenteroides subs. cremoris* strains isolated from koumiss produced in Kyrgyzstan.

The results in this study clearly show that yoghurt bacteria exist in koumiss and also koumiss can be used as a source of starter culture for production other dairy products. Further microbiological studies as well as genetic studies using the complete genome sequences of strains isolated from koumiss produced in Kyrgyzstan will shed light on these questions in the near future. This is the first report on the isolation of *L. paraplantarum* and *Leu. mesenteroides subs. cremoris* strains from koumiss produced in Kyrgyzstan, as well as on the characterization of the yoghurt prepared using the isolated strains from koumiss.

Findings of this study imply, first, a koumiss produced in Kyrgyzstan is a source of *L. paraplantarum* and *Leu. mesenteroides subs. cremoris*, second, the microbiological and fermentation characteristics of the isolated strains from koumiss are distinguishable from those of the industrial strains currently used for yogurt production. Therefore, it is assumed that starter culture isolated from koumiss can be successfully used in commercial yoghurt production. Such yoghurt can be an alternative product during period of absence of mare's milk. Also this paper reports can be a base for the further studies about using of starter culture obtained from koumiss in production of other dairy products.

#### References

- Batt CA Introduction lactobacillus. Batt CA. eds. In: Encyclopedia of Food Microbiology. Second Edition. ISBN: 978-0-12-384730-0, Elsevier, CA San Diego, 2014; p. 409.
- Cebeci A, Gurakan C. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. Food Microbiol 2003; 20 (5): 511-518.
- Cogan TM. Improving Cheddar cheese flavour by microbiological way. Twenty Sixth International Dairy Congress. September, 24-27, 2002; Paris-France.
- Curk MC, Hubert JC, Bringel F. *Lactobacillus paraplantarum* sp. nov., a new species related to *Lactobacillus plantarum*. Int J Syst Bacteriol 1996; 46 (2): 595-8.
- Danova S, Petrov K, Pavlov P, Petrova P. Isolation and characterization of *Lactobacillus* strains involved in koumiss fermentation. Int J Dairy Technol 2005; 58:100-5.
- De Angelis M, Gobbetti M. Environmental stress responses in *Lactobacillus*: A review. Proteomics 2004; 4(1): 106-22.
- De Oliveira MN. Fermented Milks and Yoghurt. Batt CA. eds. In: Encyclopedia of Food Microbiology. Second Edition. ISBN: 978-0-12-384730-0, Elsevier, CA San Diego, 2014; p.918.
- Di Cagno C. Olive da mensa ed altri prodotti vegetali. Farris A, Gobbetti M, Neviani E, Vincenzini M. eds. In: Microbiologia dei prodotti alimentari, Milan, Italy:CEA-Casa Editrice Ambrosiana, 2012; pp. 365-82.
- Di Cagno RA, Tamborrino GG, Leone C, De Angelis M, Faccia M, Amirante P, Gobbetti M. Uses of mares' milk in manufacture of fermented milks. Int Dairy J 2004; 14 (9): 767-75.
- Duzgunes, O., Kesici, T. and Gürbüz, F. İstatistik Metodlari. İkinci Baskı. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları: 1291, Ders Kitabı: 369, Ankara, 1993; p.218. (in Turkish).
- Garvie EI. *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* (Knudsen and Sorensen) comb. nov. and *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum* (Beijerinck) comb. nov. Int J Syst Bacteriol 1983; 33(1):118-9.
- Johansen E, Kibenich A. Characterization of *Leuconostoc* isolates from commercial mixed strain mesophilic starter cultures. J Dairy Sci 1992; 75 (5):1186-91.
- Karagul YY, Drake MA. Sensory analysis of yogurt. Chandan RC, White CH, Kilara A, Hui YH. eds. In: Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 2006; pp. 265-70.
- Lonvaud FA. *Leuconostocaceae* family. Batt CA. eds. In: Encyclopedia of Food Microbiology. Second Edition. ISBN: 978-0-12-384730-0, Elsevier, CA San Diego, 2014; pp. 455-63.
- Michaylova M, Minkova S, Kimura K, Sasaki T and Isawa K. Isolation and characterization of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgaricus and *Streptococcus thermophilus* from plants in Bulgaria FEMS Microbiol Lett 2007; 269(1):160-9.
- Moslehisad M, Mirdamadi S, Ehsani MR. Ezzatpanah H, Moosavi-Movahedi AA. The proteolytic activity of selected lactic acid bacteria in fermenting cow's and camel's

- milk and the result and sensory characteristics of the products. *Int J Dairy Technol* 2013; 66(2): 279-85.
17. Oscariz JC, Pisabarro AG. Classification and mode of action of membrane-active bacteriocins produced by Gram-positive bacteria. *Int Microbiol* 2001;4(1):13-9.
  18. Shibby VK, Mishra HN. Fermented milks and milk products as functional foods: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2013; 53(5): 482-96.
  19. Tamime AY, Muir DD, Wszolek M. Kefir, koumiss and kishk. *Dairy Ind Int* 1999; 64 (5): 32-3.
  20. Tulini FL, Winkelströter LK, De Martinis ECP. Identification and evaluation of the probiotic potential of *Lactobacillus paraplantarum* FT259, a bacteriocinogenic strain isolated from Brazilian semi-hard artisanal cheese. *Anaerobe* 2013; 22: 57-63.
  21. Vedamuthu ER. The dairy *Leuconostoc*: use in dairy products. *J Dairy Sci* 1994; 77(9): 2725-37.
  22. Zhang W, Zhang H. Fermentation and koumiss. Hui YH, Evranu EÖ. eds In: *Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology, Second Edition*. ISBN 9781439850220 CRC Press London NY, 2012; pp. 165-71.

**Coorespondence:**

Prof. Dr. Zafer GONULALAN  
Erciyes University, Faculty of Veterinary  
Medicine, Department of Food Hygiene and  
Technology, Melikgazi, 38039,  
Kayseri-TURKEY  
Phone: +90 352 207 66 66/29785  
GSM: +90 538 916 77 92  
E-mail: zgonulalan@gmail.com







## Investigation of the Presence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in Bovine Origin Foods\*

Şebnem PAMUK<sup>1</sup>, Belgin SIRIKEN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Afyonkarahisar, TURKEY

<sup>2</sup>Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Water Products and Diseases, Samsun, TURKEY

**Summary:** This study was conducted to investigate the presence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in 200 bovine origin meat, milk and their products (minced meat, meatball, Inegöl meatball, sausage, pasteurized milk, Tulum cheese, fresh soft cheese and cecil cheese). *Salmonella* were isolated from 66 (33%) of 200 samples. While 45 (22.5%) of which were obtained from meat origin samples (16 minced meat, 10 inegöl meatball, 16 meatball and 3 sausage) and 21 (10.5%) of which was detected in cheese samples (6 tulum and 15 fresh soft cheeses). *L. monocytogenes* was detected in a total 6 samples (3%); 2 (1%) of the meat (one ground beef and one meatball) and 4 (2%) of the cheese samples (one tulum and 3 fresh soft cheeses). In contrast, *Salmonella* spp. or *L. monocytogenes* was not detected in pasteurized milk and sausage samples. The high prevalence of *Salmonella* spp. and presence of *L. monocytogenes* in the samples could pose public health risks for consumers. To avoid *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* contamination, hygienic rules of slaughter and meat processing or pasteurizing milk must be rigorously observed.

**Key words:** Food, *Listeria monocytogenes*, meat, milk, *Salmonella* spp.

### Sığır Orjinli Gıdalarda *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* Varlığının Araştırılması

**Özet:** Bu çalışma süt, et ve ürünlerini içeren 200 adet sığır orjinli gıdada (kıyım, kasap köfte, inegöl köfte, sucuk, pastörize süt, tulum peyniri, taze beyaz peynir ve çeçil peyniri) *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*)'in prevalansını araştırmak amacıyla yapıldı. Toplanan örneklerin 66'sından (%33) *Salmonella* spp., 6'sından (%3) *L. monocytogenes* izole edildi. Ürünlere göre değerlendirildiğinde; et orjinli örneklerin 45'inden (%22.5) (16 kıyım, 10 inegöl köfte, 16 kasap köfte, 3 sucuk) peynir örneklerinin ise 21'inden (%10.5) (6 tulum peyniri, 15 taze beyaz peynir) *Salmonella* spp. saptandı. *Listeria monocytogenes*'in ürünlere göre dağılımı ise; 2'si (%1) et (kıyım ve kasap köfte), 4'ü (%2) peynir (1 tulum peyniri, 3 taze beyaz peynir) olarak belirlendi. Pastörize süt ve sucuk örneklerinden *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* saptanmadı. Et, süt ve ürünlerindeki yüksek düzeydeki *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* varlığının, halk sağlığı riski oluşturabileceği düşünüldüğünden, söz konusu etkenlerden kaynaklı kontaminasyonu önleme çalışmalarında, mezbaha ve et işleme aşamalarında hijyen kuralları ile pastörizasyon uygulamalarının zorunluluğu üzerinde önemle durulmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** Et, gıda, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., süt

### Introduction

*Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* are serious safety concerns for the food industry and public health. These pathogens colonize the gastrointestinal tracts of a wide range of wild and domestic animals, especially animals those for human consumption (15). Studies have implicated contaminated foods of animal origin such as milk, beef and their products in the

transmission of the bacteria to humans.

Salmonellosis is one of the most common food-borne diseases. It has been recognized as human and animal pathogens for over a century. According to data, *Salmonella* spp. are estimated to cause about 1.03 million non-typhoidal infections in humans per year in the U.S. has been attributed with approximately 378 deaths and over 19,000 people requiring hospitalization. About 96% of these cases are believed to be food borne. *L. monocytogenes* is also an important food borne pathogen not because it causes large numbers of symptomatic cases but because of its relatively high case-fatality

Geliş Tarihi/Submission Date : 06.10.2016

Kabul Tarihi/Accepted Date : 18.14.2017

\*This manuscript was presented as a poster at the 2<sup>nd</sup> International Congress on Food Technology, Kuşadası, Turkey

rate. About 94% of listeriosis cases are hospitalized and about 16% die (20). Recent years, incidence rates of *L. monocytogenes* ranging from 0.3 to 1.3 per 100.000 capita have been reported in European countries, the US, Canada and Australia (56). According to listeriosis outbreaks, between 2010 and 2012, in the US has been attributed to imported ricotta cheese in the US (13). Similarly, raw milk, ice cream and cheddar cheese have implicated in salmonellosis in humans. Contamination of milk with these pathogens therefore poses a great health risks to humans (35).

Food producing animals may carry *Listeria*, and be a source of contamination for milk and meat. Biofilms containing *L. monocytogenes* in food production and processing facilities may constitute a persistent, ongoing, sometimes sporadic source of bacteria (52). Thermal processing of milk and meat will destroy *L. monocytogenes* but post-processing contamination does occur. Because this pathogen grows during refrigeration, simply keeping foods cold does not ensure their safety (20). *Salmonella* naturally live in the intestines of humans and other animals and therefore fecal material is usually the ultimate source of these bacteria. *Salmonella* are also present in the lymph nodes of some healthy cattle and other animals and this may be a source of *Salmonella* contamination of ground meat (29). It is reported that meat accounted for 29% of all outbreaks and 33% of outbreaks in the US and Canada with a known vehicle (20). Several studies have indicated that different prevalence rates of *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* are present in beef origin meats, milk and their products samples from Turkey and around of the world (18,21,31,34,41,46,51,54,55).

In the present study also was carried out to detect the prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in some bovine origin meat and milk and their products samples. For this purpose, a total of 200 bovine origin meat and milk and their products samples were analyzed using standard conventional culture methods.

## Material and Methods

### Sample collection

A total of 200 samples including 25 samples of minced meat, inegöl meatball, sausage, pasteurized milk, tulum cheese, fresh soft cheese and ceçil cheese marketed in the Middle- Aegean in Turkey were aseptically collected from the

retail markets, restaurants and bazaar, between November 2011-February 2012, and examined the presence of *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes*. Samples were transported to the laboratory under cold chain and analyzed within 2 h.

### Isolation of *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes*

Standard cultivation method was carried out for *Salmonella* spp. isolation as recommended by FDA (23). Twenty five g/mL of each food samples was transferred to plastic bags and homogenized with 225 mL of 1% (w/v) buffered peptone water (BPW) (Merck, Germany) and incubated at 37°C for 24h. After the overnight incubation, 0.1 mL aliquots were inoculated into tubes containing 10 mL Rappaport Vassiliadis (RV) broth and incubated for 24 h at 42°C. Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) agar plates were inoculated from each of the RV- broths and incubated for 18-24 h at 37°C. Up to five suspect colonies with typical *Salmonella* morphology were confirmed biochemically by inoculating into lysine iron agar (LIA), urea broth, tryptone broth, decarboxylase broth, MR-VP Medium, ONPG disk and triple sugar iron agar (TSIA) slopes with confirmation carried out using specific *Salmonella* O and H agglutinating antisera (Difco 2537-47).

*L. monocytogenes* was isolated using FDA (24) procedure. In this study, twenty five g/mL representative portion from each sample was introduced aseptically into a sterile stomacher bag containing 225 ml of *Listeria* selective enrichment broth (Oxoid CM 862, SR 0141, UK) and incubated for 24 h at 30°C. After that a loopful of the enrichment culture was streaked on the surface of on *Listeria* selective (Oxford) agar (Oxoid, CM0856, suppl. SR0140, UK). These selective agars were then incubated for up to 48 h at 35°C. Suspected colonies were those that appeared grayish colonies surrounded by black halos with possible greenish sheen onto the plates. Up to 5 suspected colonies were streaked onto tryptone soya agar (Oxoid, CM0131, UK) supplemented by 0.6% of yeast extract powder (TSA-YE) (Oxoid, LP0021, UK) and incubated at 35°C for 24 h. All of the isolates were subjected to Gram staining, motility test, catalase test, oxidase test, hemolysis test, CAMP test, carbohydrate utilization, and biochemical identification by Microbact™ *Listeria* 12L Kit System (Oxoid, MB1128A, UK).

## Results

According to analyzed results, *Salmonella* spp. were isolated from 33% (n=66) of these 200 samples. The rates of samples in which *Salmonella* were detected in 45% (45/100) of which isolated from meat samples (16 of minced meat, 10 of İnegöl meatball, 16 of meatball and 3 of sausage), and 21% (21/100) of which obtained from milk products (6 of tulum cheese and 15 of fresh soft cheese). In contrast, it was not isolated from cecil cheese and pasteurized milk samples.

*L. monocytogenes* was also isolated from total 6 (3%) samples; 2 (2%) of which from meat origin and 4 (4%) of which milk origin samples. According to samples distribution; it was isolated from one minced meat and one meatball samples, one of tulum cheese and three of fresh soft cheese samples. However, the bacterium was not isolated from cecil cheese and pasteurized milk samples. The results of this study are shown in Table 1.

56.7% (n=238) in ground beef samples, respectively (13, 34). Also, *Salmonella* contamination ratio was reported between 0.0% and 20.0% in the meatball and ground beef samples in Turkey (2, 8, 18, 27, 50, 60, 61). The prevalence of *Salmonella* in ground beef samples were reported 10% in Afyon and Aydın (50), 11.1% in Istanbul (8), 8% in Amasya (61), and 16% in Samsun (2), respectively. In contrast these results, Cetinkaya et al. (14) and Direkel et al. (18) reported that *Salmonella* was not detected in any of the analyzed ground beef samples. Therefore, the results of present study show that *Salmonella* contaminations are higher than that of report relating *Salmonella* contaminations in different areas of Turkey. There have been limited data available about meatball in Turkey. It was detected in 5.4%, 4% and 24% ratio reported by Yıldız et al. (60), Yildirim et al. (61) and Al (2), respectively. The results of the present study indicated that *Salmonella* contaminations were the highest in Turkey in comparison to the

**Table 1.** Prevalence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in food samples

Type of samples	<i>Salmonella</i> spp. (%)	<i>L. monocytogenes</i> (%)
Minced meat (n=25)	16 (64)	1 (4)
Meat ball (n=25)	16 (64)	1 (4)
İnegöl meatball (n=25)	10 (40)	0 (0)
Sausage (n=25)	3 (12)	0 (0)
Tulum cheese (n=25)	6 (24)	1 (4)
Fresh soft cheese (n=25)	15 (60)	3 (12)
Cecil cheese (n=25)	0 (0)	0 (0)
Pasteurized milk (n=25)	0 (0)	0 (0)
Total positive samples (n=200)	66 (33)	6 (3)

## Discussion

In the present study, *Salmonella* spp. was isolated from a total 33% of the 200 samples. According to samples distribution; 45 (45%, n=100) *Salmonella* contaminations were detected in meat samples, whereas 21 (21%, n=100) contaminations were detected in cheese samples. There have been various *Salmonella* isolation ratio in beef and beef related products reported from different parts of the world and the results are ranging from 0.0% to 56.7% (1, 4, 10, 12, 17, 21, 33, 36, 38, 69). Two of the reports from Canada and China showed that the contamination ratio with *Salmonella* in beef samples were 0.0% and 17.0% (13/78), respectively (4, 59). In recent studies, *Salmonella* prevalence was reported as 3% (n=100) and

other parts of the world's. However, the study of Cabrera-Diaz et al. (12) demonstrated a significant *Salmonella* contaminations in the world as well. Several earlier studies were conducted to determine the bacteria in the various types of sausages and the isolation of *Salmonella* spp. were ranged from 0.0 to 9.1% cases (21,37,39,40,51). Sırıken et al. (51) found that *Salmonella* spp. were detected about 7% in the 100 Turkish dry fermented sausage (sucuk) samples. There has been a wide variation in *Salmonella* spp. in beef meat and in beef meat related products as well as minced beef and meatball throughout the different areas in the world as reflected by the above-mentioned results. The differences could be due to the different geographical conditions, the number of ana-

lyzed samples, isolation methods, seasonal variations, and the cross contamination of meat from carcass to consumption steps as well as the number of salmonellosis case in cattle (may be via porter) etc. Cross contamination of *Salmonella* could occur during handling, processing, packing and distribution. Markets, butcher and other specialty food shops may offer a wide variety of specialist foods such as meats for sale directly to the consumer. We observed that beef meat and chicken meat samples present same table and contact each other particularly butcher shops. Therefore, the cross contamination of *Salmonella* spp. could occur during handling, processing, packing and distribution.

*Salmonella* spp. infections, besides poultry, have been also linked to outbreaks associated with the consumption of various types of cheese (36). There are wide variations among the contamination ratio of *Salmonella* spp. in among cheese samples according to cheese typing. In our country and other countries, various results were also showed the presence of *Salmonella* spp. in different types of cheeses. It was detected that 6 (2.4%) out of 250 cheese samples (16) and 3 (6%) of the 50 Van otlu (herby) cheese samples (54). Contrary to these findings, *Salmonella* spp. were not found in 80 white cheese and 40 cecil cheese samples by Gulmez and Guven (28) and 50 carra cheese samples by Aygun et al. (6). Twenty four tetilla cheese samples produced from raw cow's milk cheese, were not contaminated with *Salmonella* spp. (43). Similarly, *Salmonella* has not been detected in any type of cheese samples (3). Also, *Salmonella* spp. has not been detected in any of the 4437 samples of fresh, ripened and semi-hard cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk (39).

In the present study, *L. monocytogenes* was also isolated from total 6 (3%) of the samples that 4 (2%) of these samples were from meat origin. It has been reported that the contamination rate of *L. monocytogenes* in gound beef was 12.2% in Japan, 7.2% Turkey, 19% in Jordan and 37% in Argentina (5, 26, 30, 33). According to studies reported around the world, the prevalence of *L. monocytogenes* in different types of sausage was found to vary from 2.6% to 19% ratio. It was detected in 7% in Turkish sausage (51) and 11.6% in Turkish style fermented sausage (16), 19% in unpacked dry

sausages (45), 8.5% in fresh meat (32), 14% in uncooked sausage, and 3.7% in cooked sausages; 15% in sausages; 3.7% in Spanish-style sausages; 2.6% (42, 25) in whole or sliced (loose sold) fermented meats on retail sale samples. Moisture levels, protein content and salt concentrations also affect growth of this pathogen (53). Likewise, Diez et al. (19) reported that thirty days of drying of a fermented sausage, chourico de vinho, and reduced water activity are sufficient to destroy all pathogens. Cured meats also contain several added ingredients that restrict microbial growth, including salt, lactate, and nitrate/nitrite (53). However, natural and organic foods do not contain the addition of nitrite and some other antimicrobials. Therefore, *L. monocytogenes* could grow better in these products. When compared the present study to many other studies, the different prevalence rates detected in these studies might be due to variations in livestock farm management, sampling and isolation methods, human activity, hygienic conditions in slaughterhouse as well as food-processing environments. The production process of cooked meats includes a heating step that is probably sufficient to eliminate any *L. monocytogenes*, therefore, the presence of *L. monocytogenes* is most likely due to post-process contamination. Unpasteurized milk and dairy products made from raw milk serve as vehicles for transmission of pathogenic bacteria from cattle to humans. *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes* were detected in the tulum and fresh soft cheese in contrast the cecil cheese and pasteurized milk. The tulum cheese and fresh soft cheese are made from raw milk. During these types cheese making, heated procedure has not been applied. Whereas, cecil cheese is one of cooked-curd chesses. The same situation is valid for pasteurized milk. Poppe et al. (47)'s studies showed that 3-6% of raw milk samples and 19% of milk filters were positive for *Salmonella* spp. and soft cheeses made from unpasteurized or insufficiently pasteurized milk may also be contaminated with *Salmonella* spp. In this study, *Salmonella* spp. (21%) and *L. monocytogenes* (4%) were isolated from some milk products (tulum cheese and fresh soft cheese) in contrast to pasteurized milk. Our results are in agreements with Sagun et al. (49), Colak et al. (16) and Bouayad et al. (9). However, Rudolf and Scherer (48), (15.8%) and Torres-Vitela et al. (57) (15%) reported that

significantly higher contamination rate was noted for *L. monocytogenes* for cheese samples. In contrast these data, Lambertz et al. (37) found it in 0.4% ratio. The behaviour of *L. monocytogenes* in different kinds of cheese during ripening has been widely studied by some authors around the world. Although *L. monocytogenes* does not grow or survive in Mozzarella (11) or in pressed cooked cheeses (7), it grows in soft cheeses and washed smear cheeses (44). It can decrease but nevertheless survive more or less according to length of ripening in hard cheeses (58). Another studies, it is also reported that *L. monocytogenes* can be found more frequently in raw milk samples and soft cheeses. In soft and semi-soft cheeses, the water activity is higher than in hard cheeses, allowing growth of *L. monocytogenes* (22).

#### Conclusion

The results of this study demonstrated that the ground beef, meatball and cheese samples were contaminated with two major food-borne pathogens bacteria; *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes*. Therefore, these kinds of samples may be a potential vehicle for the transmission of these two bacteria to humans. The presence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. was in analyzed some bovine origin foods seems to be related with the use of raw milk, and non-hygienic production processes and the hygienic rules of slaughter processing must be rigorously observed. Therefore, it is essential to ensure the high safety standards such as raw milk quality, the process of effective pasteurization, storage condition, proper cleaning and sanitation processes in milk and dairy production places. Pre-slaughter and processing interventions prevent pathogenic bacterial contamination that may improve the health of the cattle reduce the presence and/or concentrations of the bacteria in the feces and hides of the cattle and consequently reduce the prevalence of beef contamination.

#### Acknowledgement

This study was financially supported by the Afyon Kocatepe University, Project code of 10.VF.02.

#### References

1. Abbassi-Ghozzi I, Jaouani A, Hammami S, Martinez-Urtaza J, Boudabous, A, Gtari M. Molecular analysis and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates recovered from raw meat marketed in the area of "Grand Tunis", Tunisia. *Pathol Biol* 2012; 60(5): 49-54.
2. Al G. Sığır kıyma ve köftelerinde *Salmonella* spp. varlığı ve antibiyotik dirençlilik profilleri. Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun, 2015; p. 1-55.
3. Angelidis AS, Chronis EN, Papageorgiou DK, Kazakis II, Arsenoglou KC, Stathopoulos GA. Non-lactic acid, contaminating microbial flora in ready-to-eat foods: a potential food-quality index. *Food Microbiol* 2006; 23(1): 95-100.
4. Aslam M, Checkley S, Avery B, Chalmers G, Bohaychuk V, Gensler G, Reid-Smith R, Borerlin, P. Phenotypic and genetic characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella* serovars isolated from retail meats in Alberta, Canada. *Food Microbiol* 2012; 32(1): 110-7.
5. Awaisheh SS. Incidence and contamination level of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in ready-to-eat meat products in Jordan. *J Food Prot* 2010; 73(3): 535-40.
6. Aygun O, Aslantas O, Oner S. A survey on the microbiological quality of Carra, a traditional Turkish cheese. *J Food Eng* 2005; 66(3): 401-4.
7. Bachmann FTP, Spahr IB. The fate of potentially pathogenic bacteria in Swiss hard and semihard cheeses made from raw milk. *J Dairy Sci* 1995; 78(3): 476-83.
8. Başkaya R, Karaca T, Sevinç İ, Çakmak Ö, Yıldız A, Yörük M: İstanbul'da satışa sunulan hazır kıymaların histolojik, mikrobiyolojik ve serolojik kailtesi. *YYÜ Vet Fak Derg* 2004; 15(1-2): 41-6.
9. Bouayad L, Hamdi TM. Prevalence of *Listeria* spp. in ready to eat foods (RTE) from Algiers (Algeria). *Food Control* 2012; 23(2): 397-99.
10. Bosilevac JM, Guerini MN, Kalchayanand N, Koochmaraie M. Prevalence and characterization of *Salmonellae* in commercial ground beef in the United States. *Appl Environ Microbiol* 2009; 75(7): 1892-900.
11. Buazzi MM, Johnson, M.E. And Marth, E.H. Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture of Mozzarella cheese. *J Food Protect* 1992; 55(2): 80-3.
12. Cabrera-Diaz E, Barbos-Cardenas CM, Perez-Montaño J, Gonzalez-Aguilar D, Pacheco-Gallardo C, Barba J. Occurrence,



- serotype diversity and antimicrobial resistance of *Salmonella* in ground beef at retail stores in Jalisco State, Mexico. J Food Prot 2013; 76 (12): 2004-10.
13. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of listeriosis linked to imported frescolina marte brand ricotta salata cheese. <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cheese-09-12/2012>. Erişim tarihi: 10.03. 2012.
  14. Cetinkaya F, Cibik R, Soyutemiz GE, Ozakin C, Kayali R, Levent B. *Shigella* and *Salmonella* contamination in various food stuffs in Turkey. Food Control 2008; 19(11): 1059-63.
  15. Chambers JR, Gong J. The intestinal microbiota and its modulation for *Salmonella* control in chickens. Food Res Int 2011; 44(10): 3149-59.
  16. Colak H, Hampikyan H, Bingol EB, Ulusoy B. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in tulum cheese. Food Control 2007; 18(5): 576-9.
  17. Dallal MMS, Doyle MP, Rezadehbashi M, Dabiri H, Sanaei M, Shabnam M, Bakhtiari R, Sharifiy K, Taremi M, Zali MR, Sharifi-Yazdi MK. Prevalence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* serotypes, *Campylobacter* and *Yersinia* spp. isolated from retail chicken and beef, Tehran, Iran. Food Control 2010; 21(4): 388-92.
  18. Direkel Ş, Yıldız Ç, Aydın FE, Emekdaş G. Mersin ili Yenişehir İlçesi'nde satışa sunulan çiğ kıymaların mikrobiyolojik kalitesinin değerlendirilmesi. Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg 2010; 3(2): 8-14.
  19. Diez J, Patarata L. Behavior of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* in chourico de vinho, a dry fermented sausage made from wine-marinated meat. J Food Prot 2013; 76(4): 588-94.
  20. Doyle E. Food safety review: Review of epidemiology of foodborne listeriosis, 1-25. [https://fri.wisc.edu/files/Briefs\\_File/FRI\\_Brief\\_FoodborneListeriosis\\_Sept2013.pdf](https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/FRI_Brief_FoodborneListeriosis_Sept2013.pdf). Erişim tarihi: 18.09.2013.
  21. Ertaş N, Abay S, Telli N, Hizlisoy H, Al S. Presence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* spp. in retailed sausages in Kayseri, Turkey. Fırat Üniv Sağlık Bilim Vet Derg 2014; 28(1): 25-8.
  22. Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. Microbiol Rev 1991; 55(3): 476-511.
  23. Food and Drug Administration (FDA). Bacteriological Analytical Manual: Chapter 5. *Salmonella*. 2011a. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070.149.htm>. Erişim tarihi: 28.11.2015.
  24. Food and Drug Administration (FDA). Bacteriological Analytical Manual. Chapter 10. Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*, 2011b. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>. Erişim tarihi: 28.11.2015.
  25. Food Safety Authority of Ireland (FSAI). First Trimester National Microbiological Survey 2004 (04NS1). Microbiological safety and quality of fermented meat. [http://www.fsai.ie/uploadedFiles/microbiological\\_fermented%20meat\\_2004.pdf](http://www.fsai.ie/uploadedFiles/microbiological_fermented%20meat_2004.pdf). 2004. Erişim tarihi: 01.02.2014.
  26. Foerster C, Vidal L, Troncoso M, Figueroa G. Characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from cattle and ground beef by pulsed-field gelelectrophoresis. Rev Argentina Microbiol 2012; 44(3):195-200.
  27. Gönülalan Z, Köse A. Kars ilinde satışa sunulan sığır kıymalarının mikrobiyolojik kalitesi. Fırat Üniv Sağlık Bilim Derg 2003; 17 (1) :49-53.
  28. Gülmez M, Güven A. Kars ilinde satışa sunulan çeçil (civil) peynirlerin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2001; 7(1): 63-70.
  29. Haneklaus AN, Harris KB, Gruiffin DB, Edrington TS, Lucia LM, Savel JW. *Salmonella* prevalence in bovine lymph nodes differs among feed yards. J Food Prot 2012; 75: 1131-33.
  30. Inoue S, Nakama A, Arai Y, Kokubo Y, Maruyama T, Saito A, Yoshida T, Terao M, Yamamoto S, Kumagai S. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in retail foods in Japan. Int J Food Microbiol 2000; 59(1-2): 73-7.
  31. Jakobsen RA, Heggeb R, Sunde EB, Skjervheim M. *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese. Food Microbiol 2011; 28(3): 492-96.
  32. Jemmi T, Pak S, Salman MD. Prevalence and risk factors for contamination with *L. monocytogenes* of imported and exported meat and fish products in Switzerland, 1992-

2000. Prevent Vet Med 2002; 54(1): 25-36.
33. Kalender H. Prevalence of *Listeria* species in ground beef and chicken meat sold in eastern Turkey. Pak Vet J 2012; 32(3): 456-8.
34. Khen BK, Lynch OA. Prevalence and characteristics of *Salmonella* in the beef chain in the Republic of Ireland. Zoonoses Public Health 2014; 61(8): 534-6.
35. Knabel SJ. Food borne illness: Role of home food handling practices. Food Technol 1995; 49(4):119-31.
36. Kousta M, Mataragas M, Skandamis P, Drosinos EH. Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. Food Control 2009; 21(6): 805-15.
37. Lambertz ST, Nilsson C, Brådenmark A, Sylvén S, Johansson A, Jansson LM, Lindblad M. Prevalence and level of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in Sweden 2010. Int J Food Microbiol 2012; 160(1): 24-31.
38. Little CL, Monsey HA, Nichols GL, Louvois J. The microbiological quality of ready to eat dried and fermented meat and meat products. Int J Environ Health Res 1998; 8(4): 277-84.
39. Little CL, Richardson JF, Owen RJ, De Pinna E, Threlfall EJ. *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003-2005. Food Microbiol 2008; 25(3): 538-43.
40. Maciak T, Sawicka-Wrzosek K. Microbial contamination of sausages. Zycie-Weterynaryjne 1996; 71(1): 341-3.
41. Mattick KL, Bailey RA, Jorgensen F, Humphrey TJ. The prevalence and number of *Salmonella* in sausages and their destruction by frying, grilling or barbecuing. J Appl Microbiol 2002; 93(4): 541-47.
42. Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P, Hogg T, Gibbs PA. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. Food Microbiol 2004; 21: 213-16.
43. Menéndez S, Godí ez R, Centeno JA, Rodríguez-Otero JL. Microbiological, chemical and biochemical characteristics of 'Tetilla' raw cows-milk cheese. Food Microbiol 2001; 18(2): 151-8.
44. Millet L, Saubusse M, Didiene R, Tessier L, Montel MC. Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. Int J Food Microbiol 2006; 108(1): 105-14.
45. Noack DJ, Jockel J. *Listeria monocytogenes*, its occurrence and significance in meat and meat products, and the application of detection procedures. Fleischwirtschaft 1993; 73(3): 581-84.
46. Öksüztepe G, Patir B, Calicioglu M. Identification and distribution of lactic acid bacteria during the ripening of Savak tulum cheese. Tr J Vet Anim Sci 2005; 29(3): 873-9.
47. Poppe P. Encyclopedia of Dairy Sciences. Second Edition. USA: Academic press, 2011; p. 3033.
48. Rudolf M, Scherer S. High incidence of *L. monocytogenes* in European red smear cheese. Int J Food Microbiol 2001; 63(1-2): 91-8.
49. Sagun E, Sancak YC, İsleyici Ö, Ekici K. The presence and prevalence of *Listeria* species in milk and herby cheese in and around Van. Tr J Vet Anim Sci 2001; 25(2001): 15-9.
50. Siriken B. The microbiological quality of ground beef in Aydin and Afyon provinces, Turkey. Revue Méd Vét 2004; 155 (12): 632-6.
51. Siriken B, Pamuk S, Özakin C, Gedikoglu S, Eyigör MA note on the incidences of *Salmonella* spp., *Listeria* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 serotypes in Turkish sausage (Soudjouck). Meat Sci 2006; 72(1): 177-81.
52. Srey S, Jahid IK, Ha SD. Biofilm formation in food industries: A food safety concern. Food Control 2013; 31(2): 572-85.
53. Sullivan GA, Jackson-Davis AL, Niebuhr SE, Xi Y, Schrader KD, Sebranek JG, Dickson JS. Inhibition of *Listeria monocytogenes* using natural antimicrobials in no-nitrate-or-nitrite-added ham. J Food Prot 2012; 75(6):1071-6.
54. Tekinsen K, Özdemir Z. Prevalence of Microbiological and compositional status of Turkish foodborne pathogens in Turkish Van otlu (Herb) White cheese. Food Control 2006; 17: 707-11.
55. Thevenot D, Delignette-Muller ML, Christians S, Vernozy-Rozand C. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products. Int J Food Microbiol 2005;102(1): 85-94.
56. Todd ECD, Notermans S. Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. Food Control 2011; 22(9): 1484-90.

57. Torres-Vitela MR, Mendoza-Bernardo M, Castro-Rosas J, Gomez-Aldapa CA, Garay-Martinez LE, Navarro-Hidalgo V, Villarruel-Lopez A. Incidence of *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, and Staphylococcal enterotoxin in two types of Mexican fresh cheeses. J Food Prot 2012; 75(1): 79-84.
58. Wemmenhove E, Stampelou I, Hooijdonk ACMV, Zwietering MH, Wellsbennik MHJ. Fate of *Listeria monocytogenes* in Gouda-microcheese: no growth, and substantial inactivation after extended ripening times. Int Dairy J 2013; 32(2): 192-98.
59. World Health Organisation (WHO). Foodborne listeriosis. Bull 1988; 66(1): 421-8.
60. Yıldız A, Karaca T, Çakmak Ö, Yörük M, Başkaya R. The histological, microbiological and serological quality of meat ball marketed in Istanbul. Yüzüncü Yıl Üniv Vet Fak Derg 2004; 15(1-2): 53-7.
61. Yıldırım T, Siriken B, Yavuz C. 2014. Amasya ilinde tüketime sunulan sığır kıyma ve köftelerinde *Salmonella* spp. varlığı ve antibiyotik dirençlilik profilleri. Amasya Ünivitesi Bilimsel Araştırma Projesi, 2015; FMB-BAP-13-040, Amasya.

**Correspondence:**

Assist. Prof. Dr. Şebnem Pamuk  
Afyon Kocatepe University, Campus of Ahmet Necdet Sezer, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Afyonkarahisar, Turkey  
Phone: 0 272 2282312-16140  
GSM: 0 505 2523543  
E-mail: spamuk@aku.edu.tr



## **Ağır Çekim (Araba) Atlarının Alt Ekstremitte ve Ayak Bölgesi Kemik Lezyonlarının Klinik ve Radyolojik Olarak Değerlendirilmesi**

Celal İZCİ<sup>1</sup>, Muharrem EROL<sup>2</sup>, Ebru GÖKŞAHİN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Konya-TÜRKİYE  
<sup>2</sup>Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Balıkesir-TÜRKİYE

**Özet:** Atlarda kemik lezyonlarının belirlenmesinde radyografi sık kullanılan görüntüleme yöntemlerinden birisidir. Çalışmada, halk elinde bulunan ve çeşitli nitelikteki yük taşıma ve ulaşım işlerinde kullanılan atlardaki alt ekstremitte ve ayak bölgesi kemik lezyonlarının taranarak elde edilen sonuçların literatür verileri ışığında tartışılması amaçlandı. Çalışma toplam 30 adet araba atında yapıldı. Anamnez sorgulaması ve klinik muayenesi tamamlanan atların; ön ve arka, sağ ve sol alt ekstremitte ve ayaklarının çeşitli pozisyonlarda radyografik çekimleri yapıldı. Her bir at için elde edilen radyografik görüntüler ayrı ayrı incelendi. Belirlenen lezyonlar yerine ve niteliğine göre tasnif edilip, tanımlayıcı istatistik yapılarak değerlendirildi. Radyolojik olarak incelenen atların %80'inde değişik nitelikte lezyonlar saptanırken, %20'sinde herhangi bir lezyon ile karşılaşılma. Atların %66.7'sinde osteoarthritis, %70.8'inde süro, %50'inde sesamoiditis, %54.1'inde periosteal kemik formasyonu tespit edildi. Lezyonların ön ve arka bacaklardaki dağılımı sırası ile %12.5 ile %8.3 iken, atların %79.2'ünde hem ön hem de arka bacaklarda lezyon tespit edildi. Belirlenen lezyonların hemen hepsinin kronik nitelikli olduğu söylenebilir. Sonuç olarak, bu tip ağır işlerde kullanılan atların refah problemlerinin ortadan kaldırılması gerektiği anlaşılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** At, alt ekstremitte, kemik lezyonu, radyografi

**Clinical and Radiological Evaluation of the Bone Lesions in Lower Extremity and Foot Region in Draft Horses**  
**Summary:** In this study; it is aimed to discuss the results, which are obtained from the evaluation of the lower extremity and foot region bone lesions in the horses, which are used in various qualities like cargo transportation and transportation, in the light of the literature. Radiography is one of the commonly used imaging techniques for diagnosis of bone lesions in horses. The radiography is one of the most commonly used imaging methods to determine bone lesions in horses. In this study, we used 30 horses that work as draft horses. After clinical examination and anamnesis of horses, radiographic exposures were made. All horses were taken x-ray for distal extremities. Radiographic images were analyzed separately for each horse and all lesions were classified for localization and property. All data were evaluated by descriptive statistics. After radiological examination, we observed that 80% percent of horses had different lesions however, we did not observe any lesion for 20% percent of horses. 66.7% percent of horses had osteoarthritis, 70.8% percent of horses had splint 50% percent of horse had sesamoiditis, 54.1% percent of horses had periosteal bone formation. The distribution of the lesions in the front and hind extremity respectively, 12.5% and 8.3%. 79.2% percent of lesion were determined both front and hind extremity in our horses. Almost all lesions that were determined was chronic lesions. Challenges of working and living conditions was found to be effective for lesion procedure. As a result, it has been understood all those welfare problems of heavy-duty horses need to be dealt.

**Key words:** Bone lesion, horse, lower extremity, radiography

### **Giriş**

Atların lokomotor sistem hastalıklarının tespitinde çoğu olguda klinik muayene yetersiz kalmakta ve görüntüleme yöntemlerine ihtiyaç bulunmaktadır. Radyolojik muayeneler atların alt ekstremitte ve ayak bölgesinin kemik doku hastalıkları içerisinde periosteal reaksiyonlar sonucu gelişen eksoztozlar, kırık ve çıkıklar, dejeneratif eklem hastalıkları, kemik yangıları, osteokondroz, kırıkta kalsifikasyonu ve yabancı cisim

batmaları gibi lezyonların tespitinde sık kullanılan önemli görüntüleme yöntemlerinden birisidir (12,16,24-26,32). Radyolojik muayenelerin yorumlanmasında atın yaptığı iş, signaleменти, klinik muayene (fiziksel ve topallık muayenesi) bulguları gibi veriler önemlidir (24).

Her yaşta atlarda topallığa neden olan ayak bölgesinin radyolojik lezyonları genellikle çok faktörlüdür. Birçok ayak lezyonu at yaşlanınca kadar radyolojik olarak görüntülenemez. Naviküler hastalık, laminitis gibi prognozu şüpheli hastalıklar bakımından ise, özellikle ön ayakların erken dönemlerde radyolojik muayenelerinin

yapılması önemlidir (4,7,9,18,19,24).

Atların tırnak-bukaçılık eksenindeki yapısal bozuklukların bacakların kas, tendo, ligament, eklem vb yapılarında eşit olmayan yük dağılımına neden olarak, öncelikle basış bozukluklarına ve performans düşüklüğüne, ileriki dönemlerde ise birçok ayak hastalığının gelişmesine yol açtığı bildirilmiştir (3,6,8,11,31). Radyografi ayağın dorso-palmar ve medio-lateral yönden dengede olduğunu tespit etmenin tek yoludur (17).

Sunulan bu çalışmada, oldukça zor şartlar altında çalıştırıldıkları bilinen ağır çekim atlarının alt ekstremitelerinde karşılaşılan lezyonların klinik ve radyolojik olarak toplu değerlendirilmesi yapılmış olup, değerlendirme sonuçlarının ve çözüm önerilerinin sunulması ile meslek birikimine

katkı sağlanması amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Çalışma, halk elinde bulunan ve çeşitli nitelikteki yük taşıma ve ulaşım işlerinde kullanılan toplam 30 adet araba atı üzerinde yapıldı. Atlar ikili gruplar halinde, fakültenin büyük hayvan nakil aracı ile Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniğine getirildi. Atlar, sahibinin de onayı alındıktan sonra, bakım ve beslenmesi yapılacak şekilde, fakültenin cerrahi kliniğinde bulunan bokslarda tutuldu. Aynı gün veya en geç ertesi gün içinde anamnez sorgulaması, klinik muayenesi ve radyografik çekimleri yapıldıktan sonra sahibine teslim edildi. Klinik muayene ve radyografik görüntüleme sırasında huy-suzlanan atlara, sakinleştirmek için 20µg/kg do-

**Tablo 1.** Atların bacaklarından alınan radyografik pozisyonlar

	Ön Ayak		Arka Ayak
Karpal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DPa (Dorsopalmar)</li> <li>• LM (Lateromedial)</li> <li>• D45L-PaMO (Dorsolateral Palmaromedial Oblik(45°))</li> <li>• D30M-PaLO (Dorsomedial Palmarolateral Oblik(30°))</li> <li>• Fleksiyon halinde LM (Flexed lateromedial)</li> </ul>	Tarsal:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lateromedial (LM)</li> <li>• Dorsoplantar (DPI)</li> <li>• D35L-PIMO (Dorsolateral-Plantaromedial oblik 35°)</li> <li>• D55M-PILO (Dorsomedial-Plantarolateral oblik 55°)</li> </ul>
Metakarpus:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DPa (Dorsopalmar)</li> <li>• LM (Lateromedial)</li> <li>• D55M-PaLO (Dorsomedial-palmarolateral oblik (55°))</li> <li>• D55L-PaMO (Dorsolateral-palmarolateral oblik (55°))</li> </ul>	Metatar-sus :	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lateromedial (LM)</li> <li>• Dorsoplantar (DPI)</li> <li>• D45L-PIMO (Dorsolateral-Plantaromedial oblik 45°)</li> <li>• D45M-PILO (Dorsomedial-Plantarolateral oblik 45°)</li> </ul>
Topuk:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• LM (Lateromedial)</li> <li>• Fleksiyon halinde LM (Flexed lateromedial)</li> <li>• D30Pr-PaDi (Dorsoproximal-palmarodistal oblik 30°)</li> <li>• D45L-PaMO (Dorsolateral-palmaromedial oblik 45°)</li> <li>• L20Pr20-MDiPaO (Lateroproximodorsal-mediiodistopalmar oblik 20°)</li> </ul>	Topuk:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• LM (Lateromedial)</li> <li>• Fleksiyon halinde LM (Flexed lateromedial)</li> <li>• D30Pr-PiDi (Dorsoproximal-plantarodistal oblik 30°)</li> <li>• D45L-PIMO (Dorsolateral-plantaromedial oblik 45°)</li> <li>• L20Pr20-MDiPIO (Lateroproximodorsal-mediiodistoplantar oblik 20°)</li> <li>• L45Pr-DiMO (Lateroproximal-distomedial oblik 45°)</li> </ul>
Ayak:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DPa (Dorsopalmar)</li> <li>• LM (Lateromedial)</li> <li>• D30Pr-PaDiO (Dorsoproximal-palmarodistal Oblik 30°)</li> <li>• D60Pr -PaDiO(Dorsoproximal-palmarodistal Oblik 60°)</li> <li>• PaDiO (Palmarodistal Oblik)</li> <li>• Pa45Pr-PaDiO(Palmaroproximal-palmarodistal Oblik 45°)</li> </ul>	Ayak:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DPI (Dorsoplantar)</li> <li>• LM (Lateromedial)</li> <li>• D30Pr-PiDiO (Dorsoproximal-plantarodistal Oblik 30°)</li> <li>• D60Pr -PiDiO(Dorsoproximal-plantarodistal Oblik 60°)</li> <li>• PaDiO (Plantarodistal Oblik)</li> <li>• Pa45Pr-PaDiO(Plantaroproximal-plantarodistal Oblik 45°)</li> </ul>

zunda detomidin hidrokloride (Domesedan, Zoetis, Türkiye) İV veya İM olarak uygulandı. Atların anamnez sorgulaması ile klinik ve fiziksel muayene bilgileri kayıt altına alındı. Anamnez sorgulaması ve klinik muayenesi tamamlanan atların; ön ve arka bacaklarda tırnak, topuk ve karpal bölgede sağ-sol bacak ısı dereceleri elektronik ısı ölçer ile kaydedildi. Tüm işlemleri biten atların ön ve arka, sağ ve sol alt ekstremitte ve ayaklarının aşağıda belirtilen pozisyonlarda radyografik çekimleri yapıldı.

Her bir at için elde edilecek radyografik görüntüler ayrı ayrı incelenerek, belirlenen lezyonlar yerine ve niteliğine göre tasnif edilip, tanımlayıcı istatistik yapılarak değerlendirildi.

### Bulgular

Çalışmada ağır çekim işlerinde çalıştırılan toplam 30 adet at kullanıldı. Atların 17'si dişi (% 56.7), 13'ü ise erkekti (%43.3). Atların ağırlıkları, dakikadaki nabız, solunum sayıları ve vücut ısıları Tablo 2'de sunulmuştur.

Atların alınan anamnez bilgilerinde; günlük çalışma sürelerinin iş olduğu müddetçe sınırsız olduğu bildirildi. Yine alınan anamnez bilgileri ve yerinde yapılan gözlemlere göre; atların hemen hepsinin amaca uygun yapılmamış mekanlarda barındırıldığı öğrenildi. Beslenmelerinin belli bir

program dahilinde ve hayvanın ihtiyacı esas alınmadan, mümkün olduğunda mevsimsel evsel artıklarla veya saman, ot, bulunabilirse arpa vb. yem maddeleri ile yapıldığı anlaşıldı.

Radyolojik muayeneleri yapılan atların alt ekstremitte ve ayak bölgelerinde 24 atta lezyon görüldürken (%80), 6 atta lezyona rastlanılmadı (% 20). Lezyonların bacaklara göre dağılımı incelendiğinde; alt ekstremitte 3 atta sadece ön ayaklarda (%12.5), 2 atta sadece arka ayaklarda (%8.3) lezyon görüldürken, 19 atta (%79.2) hem ön hem de arka ayaklarda lezyon tespit edildi. Lezyonların genel dağılımları Tablo 3'de sunulmuştur.

İncelemeye alınan atlarda radyolojik olarak lezyonlar konumlandıkları anatomik bölgeye göre topuk eklemine altında (ayak) kalan lezyonlar ve topuk eklemine üzerinde (alt ekstremitte-bacak) yerleşen lezyonlar olarak ikiye ayrıldı. Bu bağlamda lezyonlara, 9 atta (%37.5) alt ekstremitte bölgesinde, 1 atta (%4.2) ayakta rastlanırken, 14 atta (%58.3) hem alt ekstremitte hem de ayak bölgesinde rastlandı.

Araştırmada kullanılan atların yapılan klinik muayenelerinde 20 atta (%66.7) basış bozukluğu görüldü. Basış bozukluğu gösteren atların radyolojik olarak lezyon gösteren atlar içindeki payı

**Tablo 2.** Atların ağırlıkları (kg), vücut ısıları (°C) ve dakikadaki nabız ve solunum sayıları

	N	Ortalama±Std Sapma	Minimum	Maksimum
Ağırlık	30	239.4±22.1	204	284.5
Beden ısı	30	37.8±0.5	35.5	38.5
Nabız	30	41.9±12.0	26	84
Solunum	30	19.1±6.6	12	36

**Tablo 3.** Atlarda görülen lezyonların genel dağılımları

Lezyonlar	Lezyonların dağılımı		Lezyon görülenlerin içindeki payı	
	Sayı	%	Sayı	%
Osteoarthritis	16	53.3	16	66.7
Süro	17	56.7	17	70.8
Sesamoiditis	12	40	12	50
Naviküler hastalık	5	16.7	5	20.8
Gaga oluşumu	9	30	9	37.5
Kırık ve fissur	6	20	6	25
Periosteal kemik formasyonu	13	43.3	13	54.2
Diğer lezyonlar	7	23.3	7	29.2

**Tablo 4.** Taban Bukağılık Eksenindeki kırılmanın dağılımı (%)

	Tırnak-Bukağılık eksenini		Lezyon görülen atlar içindeki payı	
	Sayı	%	Sayı	%
Yok	10	33.3	4	16.7
TBE öne kırık	2	6.7	2	8.3
TBE arkaya kırık	16	53.3	16	66.7
Her ikisi	2	6.7	2	8.3

TBE: Tırnak Bukağılık Eksenini

%83.3 olarak belirlendi.

Atların tırnak-bukağılık ekseninin (TBE) radyolojik olarak değerlendirilmesinde, 10 atta herhangi bir bozukluk saptanmazken, 2 atta tırnak-bukağılık ekseninin öne kırıklığı, 16 atta geriye kırıklığı ve 2 atta da her ikisi birden saptanmıştır. TBE'deki yapısal bozukluğun, lezyon görülen atlar içerisinde %66,7 oranı ile en fazla geriye kırılma şeklinde olduğu belirlendi (Tablo 4). Lezyon görülen atların 8'inde (%33.3) radyolojik olarak medio-lateral denge (MLD) bozukluğu tespit edildi. MLD bozukluğuna bağlı lezyon görülme riskinin 1.37 kat fazla olduğu belirlendi ( $P<0.05$ )

Araştırmada kullanılan atların 16'sında radyolojik olarak osteoarthritis bulguları tespit edildi. Lezyonların hepsinin arka bacaklarda şekillendiği (%100), bunların 1 tanesinin (%6.3) topuk eklemde diğerlerinin (%93.7) ise tarsal eklemde şekillendiği belirlendi. 17 atta radyolojik olarak süro bulguları belirlendi. Olguların %52.9'u (9 atta) intermetakarpal süro %11.8'i (2 atta) postmetakarpal süro şeklinde tanımlandı. Olguların %35.3'ünde (6 atta) hem intermetakarpal hem de postmetakarpal süro oluşumu birlikte izlendi. 13 atta periosteal kemik formasyonu oluşumu belirlendi. Bu tür lezyonların özellikle ön ayaklarda (%69.2) daha fazla şekillendiği görüldü. Periosteal kemik formasyonları, lokalizasyonları yönünden incelendiğinde en fazla (%46.2) topuk eklemine üzerinde kalan bölgede şekillendiği tespit edildi.

Ön ve arka bacaklarda tırnak, topuk ve karpal bölgede sağ-sol bacak ısı dereceleri arasındaki fark, bacaklarda lezyonların lokalizasyonu ile karşılaştırmalı olarak incelendiğinde istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0.05$ ).

#### **Tartışma ve Sonuç**

Çalışma halk elinde bulunan ve çok değişik amaçlarla yük taşıma ve ulaşım işlerinde kullanılan ağır çekim (araba) atlarında yapıldı. Çalışma kapsamında hayvan sahiplerinden doğru ve güvenilir bir anamnez bilgisi elde edildiği söylenemez. Bunun nedeni olarak, atların bu işlerle uğraşan insanlar arasında çok cüzi fiyatlarla sık sık el değiştirdiği ve hayvanın bir kişi tarafından uzun süre sahiplenilmemesi söylenebilir. Alınan kısıtlı anamnez bilgilerine göre atların çoğunlukla yük taşıma işlerinde nadiren de ulaşım da kullanıldığı söylenebilir. Atların bakım ve barınma konularına ilişkin at sahiplerine gerekli öneri ve uyarılar yapılmış olmakla birlikte, hayvan sahiplerinin tutum ve davranışlarından bunların

çok etkili ve faydalı olacağı düşünülmektedir. Bu bağlamda, Konya bölgesi ağır çekim atlarında barınak, besleme ve çalışma koşulları açısından ciddi bir hayvan refahı sorununun olduğu söylenebilir.

Atların yaşları ile ilgili at sahiplerinden sağlıklı bilgiler alınamazken, çeşitli nedenler dolayı (çoğu atta diş yapılarının çok bozuk olması, tecrübe eksikliği vb) veri olarak kullanılacak nitelikte sağlıklı yaş tayinleri yapılamadı. Atların hemen hemen hepsinde düzenli tırnak bakımı ve nal uygulamasının yapılmadığı gözlemlendi. Tırnaklardaki medial-lateral dengesizlik ve tırnak-bukağılık eksenindeki geriye veya öne kırılmalar dikkat çekiçi bulundu. Bazı atlarda nal olarak araba lastiklerinin uygulandığı, bazılarında sadece bir ayakta veya iki ön veya arka ayakta nal bulunduğu, bu nalların aylar öncesinden uygulandığı ve buna bağlı aşırı tırnak uzaması ve tırnak çatlak ve kırıklarının olduğu belirlendi. İncelemeyle yapılan genel durum değerlendirilmesine ilişkin elde edilen bu bulguların, hayvanların çoğunun refah sorunu içinde yaşadığı görüşünü destekler nitelikte olduğu söylenebilir.

Klinik muayenesi yapılan atların, istatistiki değerlendirme sonuçlarına göre; basış bozukluğu bulunan atlarda lezyon görülme oranının 2.5 kat daha fazla olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).

Atlarda kemik lezyonlarının belirlenmesinde radyografi sık kullanılan önemli görüntüleme yöntemlerinden birisidir (15,25). Atlarda alt ekstremitte ve ayak bölgesi kemik yapılarının birbiri ile olan konumları nedeniyle, özellikle küçük hacim ve boyuttaki lezyonların görüntülenmesinde, tek pozisyonluk çekimler yerine birkaç pozisyonluk çekimlerin doğru teşhis ve değerlendirme açısından önemli olduğu kanısına varıldı.

Sunulan çalışmada; radyolojik olarak incelenen 30 atta karşılaşılan lezyonlar ve lezyonların ön ve arka ayaklardaki dağılımları, mevcut bilinen klasik bilgilere uygunluk gösterirken, atlarda kemik lezyonlarının belirlenmesinde radyografinin önemli bir görüntüleme ve teşhis yöntemi olduğunu vurgulayan literatür verileri destekler nitelikte bulunmuştur (16,22,24,26).

Sunulan araştırmada, atlarda belirlenen lezyonların konumlandıkları yerlere göre dağılımı incelenmiş ve lezyon görülen atların %30'unda lezyonların karpal/tarsal eklem ile topuk eklemi arasındaki alt ekstremitte bölümünde yerleştiği belirlenmiştir. Bu bulguların, atlarda ön ekstremitelerde karpal eklem arka ekstremitelerde



tarsal eklemlerin altında kalan alt ekstremitte bölgesinin, travma ve kontüzyonlara karşı koruyucu nitelikteki deri altı bağ dokusu, kas vb dokular yönünden zayıf olduğu, bu nedenle de kemik lezyonlarının daha çok karpal ve tarsal eklemlerin altında kalan kemik yapıları ile ayak kemiklerinde oluştuğunu bildiren literatür verileri ile uyumlu olduğu söylenebilir (2,5,21,28).

Araştırmada kullanılan atlarda görülen lezyonların genel dağılımları Tablo 3'de verilmiştir. Bu lezyonların hepsinin arka bacaklarda olması ve %93.7'sinin tarsal eklemlerde şekillenmesi dikkat çekici bulundu. Arka ayak ve bacakların itme görevi yaptığı dikkate alındığında, bu lezyonların büyük oranda arka ayak tarsal eklemlerde yerleşmelerinin, hayvanların yaptığı iş (ağır çekim) ile lezyonların oluşumu arasında yakın ilişki olduğunu belirten literatür verilerine uygunluk gösterdiği söylenebilir (14,15,27).

Metakarpus'un iç yan yüzünde McIII ile II arasında oluşan süroların gelişiminde yapısal bozukluklar, ağır ve yorucu çalışmalar ve beslenme hataları özellikle kalsiyum, fosfor, vit A, vit D eksikliği de hazırlayıcı faktör olarak etkir (1,23). Sunulan çalışmada kullanılan atların çalışma ve beslenme koşulları dikkate alındığında, belirlenen süro oluşumlarının literatür verilerine benzer olduğu söylenebilir.

Periosteal kemik formasyonu oluşumu belirlenen 13 atta, lezyonların %69.2 oranında ön ayaklarda yerleşmesi dikkat çekici bulundu. Lezyonların %46.2 oranında topuk eklemine üzerinde lokalize olması osselet olgusunu akla getirdi. Topuk bölgesinde özellikle de eklem ön yüzünde vurma, çarpma ve TBE'indeki kırılmalara ve MLD bozukluklarına bağlı ayak bölgesindeki tendo ve ligament gerginlikleri ile topuk eklemine kapsulasındaki gerginlik nedeniyle metakarpusun distalinde veya I. falanksın proksimalinde de gelişebilir. Daha ziyade ilgili kemiklerin ön yüzünde görülen yangı, dış yan tarafta seyreden m.ext.dig.lat'ın yapışma yerinde de oluşur (20). Genel olarak atlarda ön bacakların hayvanın ağırlığını çekmede rol oynadığı ve vücut ağırlığının yaklaşık %60'ının ön bacaklar tarafından taşındığı dikkate alındığında, bu fizyolojik konumdan dolayı atlarda periosteal kökenli kemik lezyonlarının ön bacaklar alt ekstremitte ve ayak bölgesinde daha fazla şekillenmesinin literatür bilgiye uygun olduğu düşünüldü.

Ayrıca beş atta naviküler kemikte lezyon, üç atta kartilago ungulaede ossifikasyon ve kalın-

laşma, 6 atta değişik kemik yapılarında (metakarpal ve metatarsal kemikler, sesamoid ve III. falanks) kırık ve fissur oluşumu ile birlikte metakarpus ve metatarsus III'te kemik kisti, kortekste kalınlaşma, incelme, üçüncü falanksta osteofitik üreme (Tablo 3) gibi münferit lezyonların görülmesi literatür verilerine uygunluk göstermektedir (10,13,19,20,29).

Atların tırnak-bukağılık ekseninin (TBE) radyolojik değerlendirilmesinde, 20 atta TBE'de bozukluk olduğu tespit edildi (Tablo 4). TBE'ninde bozukluk bulunan atların %80'inde TBE'sinin geriye kırıldığı belirlendi. Literatür verilerinde TBE'nin önden, arkadan ve yandan bakıda düz bir çizgi halinde olması gerektiği, bu hattın yandan bakıda öne veya arkaya kırılması, önden ve arkadan bakıda içe veya dışa doğru kırılmasının öncelikle yürüyüş bozuklukları ve performans düşüklüğüne, ileriki dönemlerde de birçok ayak hastalığının gelişmesine yol açtığı bildirilmiştir (3,6,11,31). MLD bozukluğunun atlarda dejeneratif eklem hastalıkları, eklemlerde parça kırıkları, sesamoid kemiklerde yangı ve kırık gibi birçok lezyonun oluşumuna yol açtığı bildirilmiştir (30). Nitekim; sunulan çalışma kapsamında yapılan istatistiki değerlendirmelere göre; atlarda MLD bozukluğuna bağlı lezyon görülme riskinin 1.37 kat fazla olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ). Bu veriler ışığında; gerek TBE'deki gerekse MLD'deki bozuklukların bacak ve ayakların kas, tendo, ligament, eklem vb yapılarında eşit olmayan yük dağılımına neden olarak, zamanla çeşitli lezyonların gelişimine yol açabileceği kanısına varıldı.

Bu çalışma kapsamında klinik ve radyolojik muayeneleri yapılan ağır çekim atlarının önemli kısmında, alt ekstremitte ve ayak bölgesi kemik yapılarında değişik nitelikli lezyonlar saptandı. Bu çalışmadan elde edilen etiyolojik değerlendirme, klinik ve radyolojik bulguları kapsamında, araba atlarının başta beslenme ve çalışma koşulları olmak üzere, bakım ve barınma şartlarına ilişkin yapılacak tespitler ve bunlar ışığında yapılacak yönlendirmeler sayesinde, bu hayvanların yaşam ve çalışma koşullarının düzeltilmesinin, önemli bir hayvan refahı sorununun çözümü için yol gösterici olacağı söylenebilir. Bu hayvanların maruz kaldıkları olumsuz yaşam ve çalışma koşullarının kısmen de olsa düzeltilmesinin, performanslarını artıracığı ve daha fazla katma değer oluşturacağı düşünüldü.

**Kaynaklar**

1. Adams OR. Lameness in Horses, Third Edition. Philadelphia: Lea Febiger, 1974; pp. 274-359.
2. Auer JA, Von Rechenberg B. Treatment of angular limb deformities in foals. *Clin Tech Equine Pract* 2006; 5: 270-81.
3. Balch O, White K, Butler D, Metcalf S. Hoof balance and lameness: Improper toe length, hoof angle and mediolateral balance. *Comp Cont Educ Pract* 1995; 17: 1275-83.
4. Baxter GM, Laskey RE, Tackett RL. In vitro reactivity of digital arteries and veins to vasoconstrictive mediators in healthy horses and in horses with early laminitis. *Am J Vet Res* 1989; 50(4): 508-17.
5. Byam-Cook KL, Singer ER. Is there a relationship between clinical presentation, diagnostic and radiographic findings and outcome in horses with osteoarthritis of the small tarsal joints? *Equine Vet J* 2009; 41(2): 118-23.
6. Caudron I, Grulke S, Miesen M, Vanschepdael P, Serteyn D. Clinical and radiographic assessment of equine. *J Equine Vet Sci* 1997; 17: 375-9.
7. Chaffin MK, Carter GK, Sustire D. Management of a keratoma in a horse: A case report. *J Equine Vet Sci* 1989; 323-6.
8. Chateau H, Degueurce C, Jerbi H, Crevier-Denoix N, Pourcelot P, Audigrié F, Pasqui-Boutard V, Denoix JM. Three-dimensional kinematics of the equine interphalangeal joints: articular impact of asymmetric bearing. *Vet Res* 2002; 33(4): 371-82.
9. Colles CM, Hickman J. The arterial supply of the navicular bone and its variations in navicular disease. *Equine Vet J* 1997; 25: 150-4.
10. Colles CM. Navicular disease and its treatment. In *Practice* 1982; 4: 29-35.
11. Denoix JM. The Equine Distal Limb: Atlas of Clinical Anatomy and Comparative Imaging. London, UK: Manson Publishing, 2000; p.103.
12. Hardy J. Etiology, diagnosis, and treatment of septic arthritis, osteitis, and osteomyelitis in foals. *Clin Tech Equine Pract* 2006; 5(4): 309-17.
13. Johnson JH. The foot. Mansmann RA, McAllister ES. eds. In: *Equine Medicine and Surgery*. Third Edition. Santa Barbara, CA: American Veterinary Publications, 1982; pp.1039-52.
14. Ley CJ, Ekman S, Dahlberg LE, Björnsdóttir S, Hansson K. Evaluation of osteochondral sample collection guided by computed tomography and magnetic resonance imaging for early detection of osteoarthritis in centrodistal joints of young Icelandic horses. *Am J Vet Res* 2013; 74(6): 874-87.
15. McIlwraith CW, Frisbie DD, Kawcak CE. The horse as a model of naturally occurring osteoarthritis. *Bone Joint Res* 2012; 1(11): 297-309.
16. McKnight AL. Digital radiography in equine practice. *Clin Tech Equine Pract* 2004; 3(4): 352-60.
17. Milner PP, Hughes I. Remedial farriery part 5: Principles of foot balance. *Companion Animal* 2012; 17(6): 1-5.
18. Moore JN, Allen D, Clark ES. Pathophysiology of equine laminitis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1989; 5(1): 67-71.
19. Pollitt CC. Equine laminitis. *Clin Tech Equine Pract* 2004; 3: 34-44.
20. Radue P. Carpal tunnel syndrome due to a fracture of the accessory carpal bone. *Equine Vet J* 1981; 3(8): 686.
21. Reeves M. Sesamoiditis. *J Am Vet Med Assoc* 1991; 15; 199(6): 682-3.
22. Rooney JR. Ringbone vs pyramidal disease. *Equine Vet Sci* 1981; 1: 23.
23. Ross M, Dyson SJ. *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. Second Edition. Missouri: Elsevier Saunders, 2003; p. 35.
24. Suslak-Brown L. Radiography and the equine prepurchase exam. *Clin Tech Equine Pract* 2004; 3(4): 361-4.
25. Van Weeren, PR. Etiology, diagnosis, and treatment of OCD. *Clin Tech Equine Pract* 2006; 5(4): 248-58.
26. Vanderperren K, Raes E, Hoegaerts M. Diagnostic imaging of the equine tarsal region using radiography and ultrasonography. Part 1: The soft tissues. *The Vet J* 2009; 179(2):179-87.
27. Vanderperren K, Raes E, Van Bree H, Saunders JH. Diagnostic imaging of the equine tarsal region using radiography and ultrasonography. Part 2: Bony disorders. *The Vet J* 2009; 179(2): 188-96.
28. Vanderperren K, Saunders JH. Diagnostic imaging of the equine fetlock region using radiography and ultrasonography. Part 2: The bony disorders. *The Vet J* 2009; 181(2):

- 123–36.
29. Verschooten F, Van Waerebeek B, Verbeeck J. The ossification of cartilages of the distal phalanx in the horse: An anatomical, experimental, radiographic and clinical study. *J Equine Vet Sci* 1996; 16: 291-305.
  30. Viitanen MJ, Wilson AM, Mc Guigan HP, Rogers KD, May SA. Effect of foot balance on the intra-articular pressure in the distal interphalangeal joint in vitro. *Equine Vet J* 2003; 35(2): 184-9.
  31. Wilson AM, Seelig TJ, Shield RA, Silverman BW. The effect of foot imbalance on point of force applicatiinn the horse. *Equine vet. J* 1998; 30(6): 540-45.
  32. Yücel R. Atların ortopedik hastalıkları. 1. Baskı. İstanbul: Aktif Yayıncılık, 2007; p. 50-5.

**Sorumlu Yazar:**

Yrd.Doç.Dr. Muharrem EROL  
Balıkesir Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi, Cerrahi ABD  
Çağış Yerleşkesi/ Altıeylül/ Balıkesir  
GSM: 05055629427  
E-posta: erolmuharrem@hotmail.com





## C-Reactive Protein and Serum Amyloid A in Male Dogs after Orchiectomy

Nejra HADŽIMUSIĆ<sup>1</sup>, Amina HRKOVIĆ<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology, Veterinary Faculty, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

<sup>2</sup>Department of Chemistry, Biochemistry and Physiology, Veterinary Faculty, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

**Summary:** The acute-phase response is considered part of the innate immune system. During acute phase response, concentrations of acute phase proteins occur. Therefore, acute-phase proteins are part of the innate immune response and its biological function, although variable, generally relate to defense to pathological damage and restoration of homeostasis. Their levels fluctuate in response to inflammation and tissue injury. The main acute-phase proteins in dogs are C-reactive protein (CRP) and serum amyloid A (SAA). Surgical trauma has effect on many parts of immunological and hematological profile. The aim of this study was to determine the perioperative dynamics of CRP and SAA in male dogs undergoing elective orchiectomy. Blood samples were collected by jugular venipuncture in the following order: before the surgery (day zero), on first (day one), third (day three) and seventh (day seven) postoperative day (POD). As markers of systemic inflammation, CRP and SAA levels were determined by ELISA using commercial kits. The study showed that the CRP and SAA changes rapidly. The peak CRP and SAA concentrations were detected on the first day after surgery. Serum CRP concentration on the seventh postoperative day was within physiological ranges, while SAA concentration was significantly higher. In conclusion, SAA and CRP measurements above basal levels are clearly indicative of systemic inflammation in dogs.

**Key words:** CRP, dogs, orchiectomy, SAA

### Orşektomi Sonrası Erkek Köpeklerde C-Reaktif Protein ve Serum Amiloid A

**Özet:** Akut faz tepkisi doğuştan gelen bağışıklık sisteminin bir parçası olarak düşünülür. Akut faz yanıtı sırasında, akut faz protein konsantrasyonları oluşur. Dolayısıyla, akut faz proteinleri doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin bir parçasıdır ve biyolojik fonksiyonu değişkendir, ancak genellikle patolojik hasarın savunulması ve homeostazın restorasyonu ile ilgilidir. Bunların seviyeleri iltihap ve doku yaralanmasına tepki olarak dalgalanmaktadır. Köpeklerin ana akut faz proteinleri C-reaktif protein (CRP) ve serum amiloid A'dır (SAA). Cerrahi travma, immünolojik ve hematolojik profiling pek çok bölümünde etkili olur. Bu çalışmanın amacı, elektif orşektomi uygulanan erkek köpeklerde CRP ve SAA'nın perioperative dinamiklerini belirlemektir. Kan örnekleri ameliyat öncesi (Sıfırıncı gün), post-operatif birinci gün, üçüncü gün ve yedinci gün vena jugularisten alındı. Sistemik inflamasyon belirteçleri olarak CRP ve SAA düzeylerini ölçmek için ELISA testi kullanıldı. Çalışma, CRP ve SAA'nın hızla değiştiğini gösterdi. Pik CRP ve SAA konsantrasyonları ameliyattan sonraki ilk gün tespit edildi. Postoperatif yedinci gündeki serum CRP konsantrasyonu fizyolojik aralıklardaiken, SAA konsantrasyonu anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi.

**Anahtar kelimeler:** CRP, köpekler, orşektomi, SAA

### Introduction

The acute phase response is a non-specific reaction to any tissue stimulation disturbing the homeostasis e.g., surgery, trauma, infection, or neoplasia and plays an important role as part of the innate immune system (3). C-reactive protein (CRP) and serum amyloid A (SAA) are major positive acute phase proteins (APP) in dogs and humans that show marked increases in concentration during systemic inflammation (4). One definition of a "biomarker" is "a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biological processes,

pathogenic processes, or pharmacological responses to therapeutic intervention" (1). Studies on biomarkers have gained growing interest in both human and veterinary medicine for various diseases and conditions, with the goal to find suitable biomarkers for early detection and diagnosis. Compared to other biomarkers of inflammation like body temperature, leukocyte counts and erythrocyte sedimentation rate, CRP has been suggested to be a more sensitive and reliable marker of systemic inflammation following surgery in dogs (3). Good biomarker should be characterized by a rapid change in its levels when the disease develops, but also by rapid normalization during recovery, to allow its use-

fulness when monitoring the effects of therapeutic intervention. In humans, CRP is useful for prognostication, i.e. prediction of survival rate and duration of hospitalization and to evaluate the response of treatment (10). High levels of CRP were observed in dogs with pyometra, polyarthritis, pancreatitis and panniculitis (5). However, many metabolic disorders were observed not to have significant increases. Consistent increase of acute phase proteins is observed with infectious diseases in dogs (2). Several investigations (2) have been conducted examining acute phase proteins increase in dogs with neoplastic disease. Research of dogs diagnosed with lymphoma, conducted by Nielsen et al. (8) showed 68% of dogs with abnormal levels of CRP. Studies have investigated SAA in various diseases, in humans and animals, including dogs (4,6,12). The changes in the concentrations of APPs are due largely to changes in their production by hepatocytes, which in turn are regulated by cytokines such as interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), which act in a complex network (9). Trauma, via surgery, also increases serum CRP and SAA concentration (5). Orchiectomy is used widely to modify undesirable behavior, prevent health problems, and control pet population, thus exposing a large number of male dogs to surgery each year. Orchiectomy in adult dogs is performed by a prescrotal incision (standard technique), scrotal ablation (pendulous scrotum), perineal approach (concurrent perineal surgery) or parapreputial incision (cryptorchid dogs). Serious complications after orchiectomy are rare, but may include scrotal swelling and bruising, hemorrhage, scrotal hematoma, abscess, granuloma, incisional problems (swelling, formation of seroma, infection), urinary incontinence, endocrine alopecia, behavioral changes (7). The aim of this study was to demonstrate and assess CRP and SAA concentrations before and after orchiectomy.

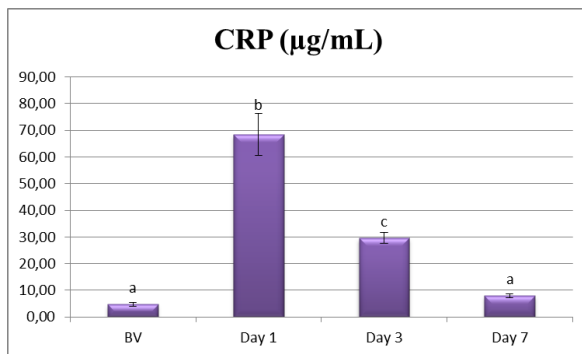
#### Material and Methods

Twelve clinically healthy male dogs with an age range of one–three years, were admitted to elective orchiectomy. Dogs were client-owned dogs with no history of clinical illness and no signs of illness on clinical examinations. The dogs were housed in individual cages, and were given commercial dry food twice a day and water *ad libitum* except for 24 h prior to general

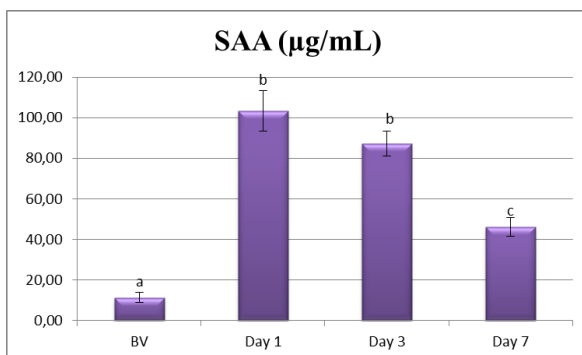
anesthesia. Surgical treatment was conducted in general anesthesia at Surgery Department of Faculty of Veterinary Medicine University of Sarajevo. Blood samples were collected from the distal cephalic vein into serum separating tubes (Vacutainer SST; Becton Dickinson, USA) for CRP and SAA measurement just before the orchiectomy (base values) as well as after 24 hours (day one), 72 hours (day three) and 168 hours (day seven). Serum samples were prepared by centrifugation ( $1.500 \times g$  for 10 min) and stored in plain micro tubes (Eppendorf, Germany) at  $-20^{\circ}\text{C}$  until CRP and SAA analysis. Serum CRP concentrations in the dogs were measured with ELISA microplate reader (Anthos 2001 ELISA-reader, Anthos Mikrosysteme, Krefeld, Germany) using a commercial canine CRP enzyme-linked immunosorbent assay kit (Tridelta Phase<sup>TM</sup> Range CRP Assay, Tridelta Development Limited, County Kildare, Ireland). For SAA, the analyses were performed using also a commercially available ELISA (Tridelta Phase<sup>TM</sup> Range SAA Assay, Tridelta Development Limited, County Kildare, Ireland). All statistical analyses were performed using the SPSS software package (for Windows, Version 11.5, SPSS Inc, USA). All data are shown as mean  $\pm$  standard deviation. The results were analyzed using the independent t-test. A P-value less than 0.05 and 0.001 were considered statistically significant.

#### Results

The mean serum levels of CRP on day one ( $68.39 \pm 7.87 \mu\text{g/mL}$ ) and day three ( $29.67 \pm 2.11 \mu\text{g/mL}$ ) were significantly higher ( $P < 0.001$  for day one and  $P < 0.05$  for day three) than the base value ( $4.84 \pm 0.73 \mu\text{g/mL}$ ) (Figure 1). No statistical difference was found between the base value and day seven ( $7.95 \pm 0.85 \mu\text{g/mL}$ ). The mean serum levels of SAA on day one ( $103.32 \pm 9.79 \mu\text{g/mL}$ ), day three ( $87.30 \pm 6.22 \mu\text{g/mL}$ ) and day seven ( $46.11 \pm 4.51 \mu\text{g/mL}$ ) were significantly higher ( $P < 0.001$  for day one and day three;  $P < 0.05$  for day seven) than the base value ( $11.30 \pm 2.49 \mu\text{g/mL}$ ) (Figure 2).



**Figure 1.** Perioperative kinetics of CRP in dogs undergoing orchietomy



**Figure 2.** Perioperative kinetics of SAA in dogs undergoing orchietomy

### Discussion

Biomarkers have a key role in biomedical research as well as in clinical practice. Data obtained after orchietomy indicate that CRP and SAA rise rapidly in the first 24 hours. Data collected over seven days following elective surgery showed that CRP rises very rapidly from normal concentrations of  $4.84 \pm 0.73 \mu\text{g/mL}$  to concentrations of  $68.39 \pm 7.87 \mu\text{g/mL}$ , peaking at day one, and then slowly decline. Serum amyloid A show a slower initial rise, but does not return to a normal concentration on day 7, whereas CRP had returned to normal. Tvarijonavičiute et al. (11) showed that orchietomy induce a short-term inflammatory process associated with the increase in serum levels of APPs. However, orchietomy did not result in long-term changes of circulating concentrations of APPs.

We have to underline that no post-operative complications were registered during our research. The first change during the acute phase response assume to be in cortisol concentration. Data from Northrop-Clewes (9), however, showed that the rise in concentration

of cortisol peaks already at six hours after surgery.

The study shows that the CRP and SAA changes rapidly. The maximum CRP and SAA concentrations were detected on the first day after surgery. Serum CRP concentration on the seventh postoperative day was within physiological ranges, while SAA concentration was significantly higher.

It is important to precisely understand the behavior of these inflammatory parameters which are induced by an elective complex surgery and expected in the course of "normal" postoperative evolution, and that it be routinely monitored in order to determine an abnormal response and prematurely detect complications or infection. C-reactive protein has peculiar characteristics potentially useful in clinical practice: rapid production in response to acute inflammatory processes and short half-life, which makes CRP better biomarker than SAA.

### References

1. Atkinson AJ, Colburn WA, DeGruttola VG, DeMets DL, Downing GJ, Hoth DF, Oates JA, Peck CC, Schooley RT, Spilker BA, Woodcock J, Zeger SL. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69(3): 89-95.
2. Cerón JJ, Eckersall PD, Martínez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol* 2005; 34(2): 85-99.
3. Christensen MB, Eriksen T, Kjelgaard-Hansen M. C-reactive protein: quantitative marker of surgical trauma and post-surgical complications in dogs: a systematic review. *Acta Vet Scand* 2015; 57:71.
4. Christensen MB, Langhorn R, Goddard A, Andreasen EB, Moldal E, Tvarijonavičiute A, Kirpensteijn J, Jakobsen S, Persson F, Kjelgaard-Hansen M. Comparison of serum amyloid A and C-reactive protein as diagnostic markers of systemic inflammation in dogs. *Can Vet J* 2014; 55(2): 161-8.
5. Cray C. Acute Phase Proteins in Animals. Conn MP. ed. In: *Animal Models of Molecular Pathology* First edition. Academic Press, 2011; pp. 113-48.
6. Dabrowski R, Kostro K, Szczubial M. Concentrations of C-reactive protein, serum amyloid A, and haptoglobin in uterine arterial and peripheral blood in bitches with



- pyometra. *Theriogenology* 2013; 80(5): 494-7.
7. Goethem B, Orchiectomy.Griffon D, Hamaid A. eds. In: *Complications in Small Animal Surgery*. First edition. Wiley-Blackwell, 2016; pp. 528-33.
  8. Nielsen L, Toft N, Eckersall PD, Mellor DJ, Morris JS. Serum C-reactive protein concentration as an indicator of remission status in dogs with multicentric lymphoma. *J Vet Intern Med* 2007; 21(6): 1231-6.
  9. Northrop-Clewes CA. Interpreting indicators of iron status during an acute phase response-lessons from malaria and human immunodeficiency virus. *Ann Clin Biochem* 2008; 45(1): 18-32.
  10. Pierce BL, Ballard-Barbash R, Bernstein L, Baumgartner RN, Neuhauser ML, Wener MH, Baumgartner KB, Gilliland FD, Sorensen BE, McTiernan A, Ulrich CM. Elevated biomarkers of inflammation are associated with reduced survival among breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2009; 27(21): 3437-44.
  11. Tvarijonaviciute A, Martinez-Subiela S, Carrillo-Sanchez JD, Tecles F, Ceron JJ. Effects of orchidectomy in selective biochemical analytes in beagle dogs. *Reprod Domest Anim* 2011; 46(6): 957-63.
  12. Zhang G, Sun X, Lv H, Yang X, Kang X. Serum amyloid A: A new potential serum marker correlated with the stage of breast cancer. *Oncol Lett* 2012; 3(4): 940-4.

**Correspondence:**

Nejra Hadžimusić  
Veterinary Faculty University of  
Sarajevo, Zmaja od Bosne 90, 71 000  
Sarajevo, Bosnia and Herzegovina  
E-mail: nejra.hadzimusic@vfs.unsa.ba



## Thermographic Assessment of Extremity Temperature Alterations of Cases with Bucked Shin Complex, Splints, Carpal Osteoarthritis and Sesamoiditis in Sport Horses

Latif Emrah YANMAZ, Zafer OKUMUŞ

Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Atatürk University, Erzurum-TURKEY

**Summary:** This study was aimed to describe the extremity temperature alterations of horses with bucked shin complex, splints, carpal osteoarthritis and sesamoiditis. In this study, 27 race horses with different breed (24 Arabian, three Thoroughbred), sex (23 males, four mares) and age (avg. 3.5-year-old) were used. After thermographic and clinical examinations, cases with existence of inflammation were subjected to radiographic examination. Clinical, radiographic and thermographic findings revealed that five horses had carpal osteoarthritis, two horses had bucked shin complex, 13 horses had splints, and seven cases had sesamoiditis. Medial aspects of carpus were 3-4°C warmer in carpal osteoarthritis cases compared to those of healthy carpus of same horses. The thermographic examination of bucked shin complex revealed that in Grade 1 (n=1), there was a hot spot in dorsal aspect of metacarpus and these spots had 4°C higher temperature than that of normal control limb. The medial aspects of metacarpus was 1-2°C warmer in splint cases compared to limb without lesions. The medial aspect of sesamoid bone was 6-7°C warmer in medial sesamoiditis cases compared to normal limbs. In conclusion, the temperature of extremity tends to increase on the affected region where the orthopaedic problem exists. Because thermography shows the localization of inflammation, it could be used as a supportive diagnostic method in orthopaedic problems of race horses which come out with inflammation.

**Key words:** Bucked shin complex, osteoarthritis, sesamoiditis, splints, thermography

### Spor Atlarında Sesamoiditis, Karpal Osteoarthritis, Süro ve Sorşin Olgularında Ekstremitte Sıcaklık Değişimlerinin Termografik Değerlendirilmesi

**Özet:** Bu çalışma sesamoiditis, karpal osteoarthritis, süro ve sorşinli atların ekstremitelerindeki sıcaklık değişimlerini tanımlamayı amaçladı. Bu çalışmada, farklı ırk (24 Arap, üç İngiliz), cinsiyet (23 erkek, dört dişi) ve yaşta (ortalama üç buçuk yaş) 27 yarış atı kullanıldı. Termografik ve klinik muayene sonrasında, yangının mevcut olduğu olgularda radyografik muayene gerçekleştirildi. Klinik, radyografik ve termografik muayeneler sonucunda yedi olguya sesamoiditis, 13 olguya süro, iki olguya sorşin ve beş olguya karpal osteoarthritis tanısı konuldu. Karpal osteoarthritis olgularında aynı atın normal karpus'u ile karşılaştırıldığında, karpus'un medial yüzünde 3-4°C'lik sıcaklık artışı belirlendi. Birinci derece Sorşin tanısı konulan olguda metacarpus'un dorsal yüzünde sıcak bir nokta vardı ve bu noktalar normal bacakla kıyaslandığında 4°C daha sıcaktı. Süro tanısı konulan olgularda normal bacakla karşılaştırıldığında metacarpus'un medial yüzünde 1-2°C'lik sıcaklık artışı görüldü. Medial sesamoiditis olgularında sesamoid kemiğin medial yüzünden alınan sıcaklık normal baccaktan 6-7°C daha yüksekti. Sonuç olarak, ekstremitte bölge sıcaklıkları ortopedik problemin lokalize olduğu etkilenen bölge üzerinde artış gösterir. Termografi yangının lokalizasyonunu gösterdiğinden, yarış atlarının yangıyla ilişkili ortopedik problemlerinde yardımcı bir tanı yöntemi olarak kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** Osteoarthritis, sesamoiditis, sorşin, süro, termografi

### Introduction

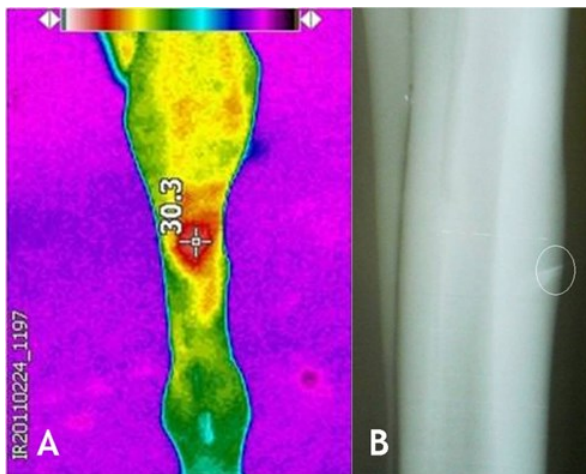
Bucked shin complex (BSC), splints (SP), carpal osteoarthritis (CO) and sesamoiditis (SE) are commonly seen in sport horse industry. The common causes of these orthopaedic problems are confirmation disorders, trauma, fatigue and overloading. The physical and radiographic examinations are common using methods in the diagnosis of these orthopaedic problems (5). Because extremity temperatures of horses can play an important role to detect inflammation and thereby orthopaedic injury, usage of infra-

red thermal camera has been increased in recent years (1,4,13,17). This methodology not only allows the clinician where the problem localizes, but also helps to measure tissue temperature to evaluate existence of inflammation (15). The aim of the present study was to describe the extremity temperature alterations of horses with BSC, SP, CO and SE.

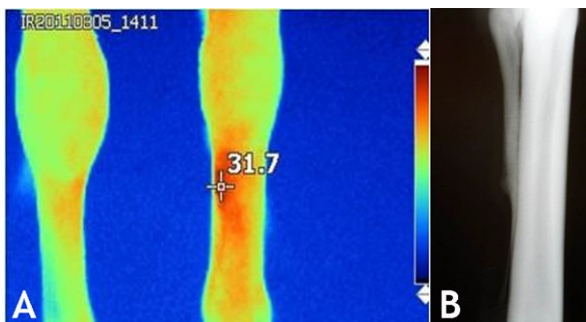
### Materials and Methods

#### Animals

Twenty seven race horses with different breed (24 Arabian, three Thoroughbred), sex (23 males, four mares) and age (avg. 3.5-year-old) were used in this study. The horses were pre-



**Figure 1. A)** Dorsal thermogram of Grade III BSC. There was a hot spot on the dorsal view which observed as a red colour. **B)** Latero-medial radiography of the same case, note the oblique fracture line in the circle.



**Figure 2. A)** Medial thermogram of left SP. Increased temperature over the lesion was seen as a hot spot (red colour). **B)** DMPLO metacarpal radiography of the same case revealed a periosteal new bone on the distal 1/3 of metacarpus II.

sented to Turkish Jockey Club Sanliurfa Racecourse hospital with the complaint of acute forelimb lameness and/or swelling.

#### **Clinical examination**

Clinical examinations included palpation of extremity, flexion and extension tests of associated joint and lameness evaluation in accordance with known protocols (6,9).

#### **Thermographic examination**

Thermographic examination was performed before the clinical and radiographic examination to prevent possible alterations in extremity temperatures due to palpation of extremity. To minimize interferences of light and air flow, thermographic examination were carried a room not receiving sunshine with a temperature 22 to 23°C. After allowing horses to rest for 15 min in this room, thermal camera (IR FlexCam S, Infrared Solutions Inc., Plymouth, MN) was kept one m distance from the examined region.

Thermographic scans were conducted on lateral and medial aspects of sesamoid bones, right and left carpus (dorsal, lateral, palmar and medial aspects), right and left metacarpus (dorsal, lateral and medial aspects). In all cases, the same animal's limbs without lesion evaluated as a control. The mean thermographic findings were calculated whenever possible (more than one case).

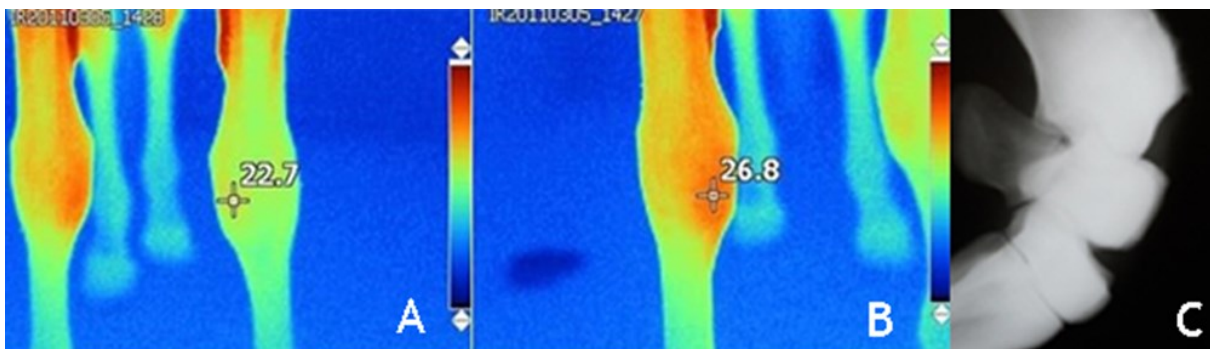
#### **Radiographic examination**

Radiographic examination of the fetlock (latero-medial, dorso-palmar and dorso 45° lateral-palmaromedial oblique), carpus (latero-medial, flexed latero-medial and dorso 45° lateral-palmaromedial oblique) and metacarpus (lateromedial, dorso 45° medial-lateralpalmar oblique and dorso 45° lateral-palmaromedial oblique) were performed in accordance with the thermographic suspicion region.

**Table 1.** The mean temperature of same animal's limbs with and without lesion

<b>Orthopedic Problem</b>	<b>Temperature of the lesion</b>	<b>Temperature of the same animal's limbs without lesion</b>
BSC Grade I (n=1)	23.70°C	19.60°C
BSC Grade III (n=1)	30.20°C	26.90°C
Right SP (n=5)	29.64°C	25.30°C
Left SP (n=8)	29.61°C	26.80°C
Right CO (n=5)	28.74°C	24.54°C
Medial SE (n=4)	32.38°C	28.13°C
Lateral SE (n=3)	30.03°C	25.86°C

BSC: Bucked shin complex; SP: Splint; CO: Carpal Osteoarthritis; SE: Sesamoiditis



**Figure 3.** A) Medial thermograms of left normal carpus and right carpus with CO. Increased temperature was seen on the medial view of the carpal joint as a red colour, healthy left carpal joint was seen as a yellow colour. B) Right carpus was about 4°C warmer than healthy one. C) Flexed lateromedial carpal radiography of the same animal. Note the distal radial exostosis in the circle.

### Diagnosis

Diagnoses of the cases were confirmed with clinic and radiographic examinations. Grade 1 BSC was diagnosed when there was a pain on the dorsal palpation of the metacarpus without radiographic abnormality. Grade 3 BSC was diagnosed when there was a pain on the dorsal palpation of the metacarpus and radiographic evidence of fracture line. SP was considered when there was a periosteal reaction on metacarpus II. CO was considered when there was an osteophyte formation on carpal region. SE was defined when there were an enlarged vascular channels and/or osteophyte formation and/or deformation.

### Results

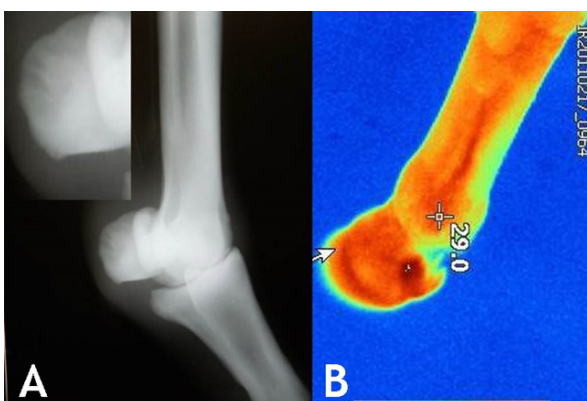
#### Clinical findings

Palpation and flexion of the carpal joint resulted with pain in CO cases, and these cases had moderately lower leg lameness. No swelling was detected in CO cases. A hard painful swelling on the medial side of the metacarpus was noted in five horses of the SP cases. No swelling was detected in eight cases with SP; however palpation of medial side of metacarpus revealed a pain in these cases. All the SP cases had mild lower leg lameness. Palpation and flexion of fetlock joint caused severe pain in SE cases and all of the cases had moderate lower leg lameness. Palpation of dorsal side of the metacarpus caused a pain response in BSC cases (n=2). Grade 3 BSC caused lower leg lameness, whereas no lameness was observed in Grade 1 BSC.

#### Thermographic findings

Thermographic examination of Grade 1 BSC (n=1) revealed a hot spot in dorsal view of metacarpus and the temperature of these lesions were 4°C higher than that of control limb. There were no any temperature differences in other aspects of Grade 1 BSC. Hot spots were seen in dorsal (Fig. 1A), medial and lateral aspects of metacarpus in Grade 3 BSC (n=1), and these hot spots were 4°C warmer than that of control limb.

The temperature of medial aspects of metacarpus was 3-4°C heater in SP cases (n=13) compared to limb without lesions (Fig. 2A). The temperatures of medial aspect of carpus (Fig. 3A) were 4°C higher in all CO cases (n=5), compared to the same animal healthy carpus (Fig. 3B). Dorsal and lateral aspect of carpus were 2-



**Figure 4.** A) Lateromedial radiography of lateral sesamoiditis. Note the enlarged vascular channels in the circle and osteophyte formation on the basis of sesamoid bone. B) Lateral thermogram of lateral sesamoiditis. Hot spot (29°C) seen as a red colour over the sesamoid bone.

3°C warmer in four out of five CO cases. However, there was no increased temperature in palmar aspects of all CO cases.

The increased temperature of fetlock was seen in four cases of medial SE, and three cases of lateral SE. The medial aspect of sesamoid bone temperature in medial SE cases were 4°C higher than normal limbs. Additionally, the hot spots were also seen in lateral aspects of all medial SE cases. In lateral SE cases, 5°C increased temperatures were detected in lateral aspects of sesamoid bone (Fig. 4B). The mean temperature of orthopedic problems (the same animal's limbs with and without lesion) was shown in Table 1.

#### **Radiographic findings**

Radiographic findings of CO cases were osteophyte formation on distal of the radius (n=3) (Fig. 3C), third carpal bone (n=1) and radiocarpal bone (n=1). Periosteal reaction (Fig. 2B) was noted on metacarpus II in SP cases (n=13). Enlarged vascular channels (n=2) (Fig. 4A), osteophyte formation (n=4) and deformation (n=1) were detected on sesamoid bones in SE cases. Oblique fracture line was noted on the dorsal view of third metacarpal bone in Grade 3 BSC (n=1) (Fig. 1B).

#### **Discussion**

The thermography is the non-invasive imaging technique that determines the inflammation (12). The determination of extremity temperature to reveal the existence of inflammation is important for early diagnosis of the encountered orthopaedic problems in horses (17). Our results confirmed previous reports stated that the bone needs to be in relatively close contact with the skin for using infrared thermal camera to evaluate orthopaedic problems in horses which originated from the bone (16).

Bucked shin complex, SE, CO and SP are associated with inflammation and frequently seen in racehorses (5). BSC commonly affects horses in the first two years of training due to overload of exercise, which lead to change the morphology of the dorsal surface of the metacarpus (7). BSC with Grade 1 and 2 cause diffuse periostitis, whereas Grade 3 is associated with stress fracture on the dorsal cortex of metacarpus III (2). In Grade 1 and 2 hot spots are seen on the dorsal surface of metacarpus and these hot spots are 1-2°C warmer than surrounding tissue. Otherwise, in Grade 3 hot spots are also seen in lateral and medial aspects of the meta-

carpus, and these hot spots are 2-3°C warmer than surrounding tissue (3). Similarly, our results showed increased temperature in only dorsal aspect of metacarpus in Grade 1 and these hot spots were 4°C warmer than the same animal control limb. Moreover, in Grade 3 in addition to the dorsal aspect, we also recognized 4°C temperature increase in medial and lateral aspects of metacarpus compared to control limb of the same animal.

Splint caused a local inflammatory swelling on the medial side of the metacarpus II (8). It has been reported that hot spots are easily recognized by thermography over the lesion if the bone is closely contact the skin such as metacarpal bones (11). Similarly in the current study, SP caused hot spots on the lesion, and medial metacarpal temperatures were 3-4°C higher than normal control limb.

The inflamed joints show an increased heat over the joint when viewed from the lateral and medial sides (14). Similarly, in our study, CO caused an increased temperature on the medial, dorsal and lateral views. Because the palmar view did not show any increased temperature in all of our cases, it seemed insignificant to use this direction for detecting CO when the problem is associated with distal radius, third carpal bone and radiocarpal bone.

Sesamoiditis is caused by great stress placed on the fetlock during training or racing, resulting with inflammation (10). There is no information in the literature to evaluate extremity temperatures of horses with SE. In this research, it was found that sesamoid bone temperature was 6-7°C higher in SE cases than control limbs. The lateral aspects of the sesamoid bone temperature were increased about 4-5°C even medial sesamoiditis cases. Depending on our results, it could be said that sesamoiditis caused severe inflammation at the fetlock joint, and this inflammation can be easily detected by thermography. The main limitation of this study is the lack of statistical analysis due to insufficient data to perform and/or lack of standardization among the cases. Nevertheless, this study has showed that the thermography point out the localization of orthopaedic problems in horses which resulted with temperature increase over the associated area and helps the clinician to figure out where the problem is, and to perform the detailed examination after the detection of suspicion area.



Based on these findings, it can be said that thermography may be useful for diagnosis of BSC, CO and SE in horses. Moreover, it is concluded that using thermography in horses with SP helps the clinician to evaluate the existence of inflammation. In conclusion, the thermography can show and quantitatively prove the existence of inflammation in horses with bucked shin complex, sesamoiditis, carpal osteoarthritis and splints, but it must be emphasized that thermography in the diagnosis of orthopaedic problems of horses is only useful in combination with a thorough clinical examination including additional imaging technique such as radiography.

### References

1. Berkman C, Albernaz RM, Basile RC, De Lacerda-Neto JC, De Queiroz-Neto A, Ferraz GC. Exercise on treadmill did not enhance the temperature of the equine foot. *Ciencia Rural* 2011; 41(8): 1398-404.
2. Davidson EJ, Ross MW. Clinical recognition of stress-related bone injury in racehorses. *Clin Tech Equine Pract* 2003; 2(4): 296-311.
3. Eddy AL, Van Hoogmoed LM, Snyder JR. The role of thermography in the management of equine lameness. *Vet J* 2001; 162(3): 172-81.
4. Figueiredo T, Dzyekanski B, Pimpao CT, Silveria AB, Capriglione LG, Michelotto PV. Use of infrared thermography to detect intrasynovial injections in horses. *J Equine Vet Sci* 2013; 33(4): 257-60.
5. Goodman NL, Baker BK. Lameness diagnosis and treatment in the quarter horse race horse. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1990; 6(1): 85-108.
6. Hewetson M, Christley RM, Hunt ID, Voute LC. Investigations of the reliability of observational gait analysis for the assessment of lameness in horses. *Vet Rec* 2006; 158(25): 852-7.
7. Jackson BF, Lonnell C, Verheyen KL, Dyson P, Pfeiffer DU, Price JS. Biochemical markers of bone metabolism and risk of dorsal metacarpal disease in 2-year-old thoroughbreds. *Equine Vet J* 2005; 37(1): 87-91.
8. Jenson PW, Gaughan EM, Lillich JD, Bryant JE. Splint bone disorders in horses. *Compendium* 2003; 25(5): 383-9.
9. Keegan KG, Dent EV, Wilson DA, Janicek J, Kramer J, Lacarrubba A, Walsh DM, Cassells MW, Esther TM, Schiltz P, Frees KE, Wilhite CL, Clark JM, Pollitt CC, Shaw R, Norris T. Repeatability of subjective evaluation of lameness in horses. *Equine Vet J* 2010; 42(2): 92-7.
10. Mclellan J, Plevin S. Do radiographic signs of sesamoiditis in yearling thoroughbreds predispose the development of suspensory ligament branch injury. *Equine Vet J* 2014; 46(4): 446-50.
11. Michelotto BL, Rocha R, Michelotto PV. Thermographic detection of dorsal metacarpal/metatarsal disease in 2-year-old thoroughbred race horses: A preliminary study. *J Equine Vet Sci* 2016; 44: 37-41.
12. Redaelli V, Bergero D, Zucca E, Ferrucci F, Costa LN, Crosta L, Luzi F. Use of thermography techniques in equines: Principles and applications. *J Equine Vet Sci* 2014; 34(3): 345-50.
13. Soroko M, Dudek K, Howell K, Jodkowska E, Henklewski R. Thermographic evaluation of race horse performance. *J Equine Vet Sci* 2014; 34(9): 1076-83.
14. Soroko M, Henklewski R, Filipowski H, Jodkowska E. The effectiveness of thermographic analysis in equine orthopedics. *J Equine Vet Sci* 2013; 33(9): 760-2.
15. Turner TA. Diagnostic thermography. *Vet Clin North Am Equine Pract* 2001; 17(1): 95-113.
16. Yanmaz LE, Okumus Z, Dogan E. Instrumentation of thermography and its applications in horses. *J Anim Vet Adv* 2007; 6(7): 858-62.
17. Yanmaz LE, Okumus Z. Using infrared thermography to detect corneal and extremity temperatures of healthy horses. *Israel J Vet Med* 2014; 69(1): 20-3.

### Correspondence:

Latif Emrah YANMAZ  
 Department of Surgery, Veterinary Faculty  
 Atatürk University, Erzurum  
 Mobile phone: +90 507 696 67 81  
 Office phone: +90 442 231 71 52  
 E-mail: emrah.yanmaz@atauni.edu.tr





## Sütçü İnek ve Düvelerde Postpartum Dönem Serum IgG ve Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılması\*

Uğur AYDOĞDU<sup>1</sup>, Hasan GÜZELBEKTEŞ<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya-TÜRKİYE

<sup>3</sup>Kırgızistan Türkiye Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Bişkek-KIRGIZİSTAN

**Özet:** Bu çalışmada, sütçü inek ve düvelerde doğum sonrası serum immunoglobulin G (IgG), makromineraler ve bazı biyokimyasal parametreler karşılaştırıldı. Yirmidört baş yeni doğum yapan düve ve 24 baş iki veya daha fazla doğum yapan inek olmak üzere 48 inekten doğumdan hemen sonra kan örnekleri alındı. Serum IgG seviyesi ELISA metodu ile makromineral ve biyokimyasal parametreler ise otoanalizör kullanılarak belirlendi. Düve ve ineklerin serum biyokimyasal parametreleri ve IgG seviyeleri karşılaştırıldığında; düvelerde serum alkalen fosfataz (ALP), laktat dehidrojenaz (LDH) ve fosfor seviyeleri ineklere göre önemli oranda ( $P<0.05$ ) yüksek, IgG ve magnezyum (Mg) seviyeleri ise önemli oranda ( $P<0.05$ ) düşük bulundu. Sonuç olarak, doğum sonrası düve ve inekler arasında serum immunoglobulin G, makromineral ve bazı biyokimyasal parametrelerde önemli farklılıkların olduğu ve sütçü sığırlarda postpartum dönemde bu değişimlerin göz önünde bulundurulmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Biyokimyasal parametreler, immunoglobulin G, sığır

### Comparison of Serum IgG and Biochemical Parameters at the Postpartum Period in Dairy Cows and Heifers

**Summary:** The aim of this study was to compare the levels of serum IgG and biochemical parameters at the postpartum period in dairy cows and heifers. Blood samples were taken immediately after birth from 48 cows, including twenty-four heifers and 24 cows which experienced two or more deliveries. Serum IgG level was determined by ELISA method and macromineral and biochemical parameters by using autoanalyzer. When serum biochemical parameters and IgG levels of heifers and cows were compared; in heifers, serum ALP, LDH and phosphorus levels were significantly higher ( $P<0.05$ ) and IgG and Mg levels were significantly lower ( $P<0.05$ ). In conclusion, it is determined that there are significant differences in serum immunoglobulin G, macromineral and some biochemical parameters between heifer and cows at the postpartum period and that it would be useful to consider these changes in postpartum period in dairy cows.

**Key words:** Biochemical parameters, cattle, immunoglobulin G

### Giriş

Süt ineklerinde laktasyonun başlaması yapı ve metabolizmayı etkileyebilecek ani değişiklikler meydana getirebilir (26). Çiftlik hayvanlarında bazı serum biyokimyasal parametrelerin tespitiyle hayvanların sağlık durumuna yönelik önemli bilgiler elde edilebilir. Özellikle subklinik seyir gösteren metabolizma hastalıklarının belirlenmesi için laboratuvar analizler yapılmaktadır (3,22,23). Biyokimyasal ve hematolojik bileşenlerdeki değişiklikler, hayvanın fizyolojik veya patolojik durumunun önemli göstergeleridir (1,4).

Organizmada pek çok dokunun normal fonksi-

yonu ve fizyolojik işlevleri için gerekli en önemli maddeler kalsiyum (Ca), fosfor (P) ve magnezyum (Mg)' dur. Memelilerde bu minerallerin homeostazisi olağanüstü bir titizlikte devam ettirilmektedir (3). Sığırların serum elektrolit profili, yaş, emzirme evresi, beslenme, gebelik ve laktasyon evresi ve eşlik eden hastalık gibi birkaç faktörden etkilenebilir (3,7,22).

Ruminantlarda hepatoselüler hasarın belirlenmesinde aspartat aminotransferaz (AST) ve laktat dehidrojenaz (LDH) enzimlerinden yararlanılabilmektedir. Ancak AST ve LDH geniş doku varyasyonu göstermektedir ve en yaygın olarak karaciğer ve kas dokusunda bulunmaktadır. Serum kreatin kinaz (CK) aktivitesi ise kas hasarının duyarlı ve spesifik bir indikatördür. Kas hasarı ve nekrozu da AST, LDH ve CK aktivitesinde belirgin artışa neden olmaktadır. Ayrıca eritrositlerde yüksek LDH aktivitesine sahiptir.

Geliş Tarihi/Submission Date : 02.05.2017

Kabul Tarihi/Accepted Date : 20.06.2017

\*Bu makale Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 12102014 proje numarası ile desteklenen doktora tezinden üretilmiştir.



Sığırlarda serum gama glutamiltransferaz (GGT) ve alkalin fosfataz (ALP) aktivitesindeki artışlar kolestazis ile ilişkili olabilir. Birçok dokuda GGT aktivitesi bulunmasına rağmen bu enzim karaciğer spesifik olarak düşünülür ve GGT aktivitesi ruminantlarda ALP'ye göre hepatik hastalıkların daha iyi bir göstergesidir. Ruminantlarda ALP seviyelerinin referans aralığı geniştir ve bu nedenle serum ALP aktivitesi ruminantlarda hepatobilyer hastalıkların teşhisi için düşük diyagnostik değere sahiptir. Sağlıklı sığırlarda kan ALP aktivitesinin neredeyse tamamı kemik orijinlidir. Genç ve büyümekte olan hayvanlarda osteoblastik aktivitedeki yüksekliğe bağlı ALP aktivitesinde de artış görülmektedir (23,25).

Bu araştırmada, iki veya üzerinde doğum yapan sütçü inekler ile ilk doğumunu yapan sütçü düvelerde doğum sonrası serum immunoglobulin G, makromineraler ve bazı biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

#### Gereç ve Yöntem

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulunun 14.03.2012 tarih ve 2012/030 sayılı izni ile gerçekleştirildi. Araştırma Konya ilinde holstein ırkı sütçü sığırlara sahip özel bir işletmede yapıldı. Hayvan materyali olarak 24 baş ilk doğum yapan düve ve 24 baş iki veya üzerinde doğum yapan inek olmak üzere toplam 48 baş sığır kullanıldı.

#### Kan Örneklerinin Alınması

Doğumu takiben ineklerin V. jugularisinden usulüne uygun olarak 8 mL kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri 30 dk oda ısısında bekletilip

pıhtılaşması sağlandıktan sonra soğutmalı santrifüj (Nüve-NF 800R) kullanılarak +4°C'de 5000 devirde 10 dk santrifüj edilip serumlar çıkarıldı. Serum örnekleri analiz yapıncaya kadar -20°C'de saklandı.

#### Kan analizleri

İnek ve düvelerin serum örneklerinden immunoglobulin G (BioX diagnostics, Belçika) seviyeleri üreticinin talimatları doğrultusunda ELISA prosedürü uygulanarak spektrofotometre (Thermo Multiscan Go, ABD) ile ölçüldü. Serum kan üre nitrojen (BUN), kreatinin, total protein, albumin, total bilirubin, GGT, LDH, AST, ALP, CK, Ca, P, Mg, glukoz, kolesterol, trigliserid konsantrasyonları ticari kitler ile otoanalizer (BT 3000 plus, Roma, İtalya) kullanılarak belirlendi.

#### İstatistiksel Analiz

Araştırma sonuçları ile ilgili veriler ortalama ve standart hata olarak sunuldu. Düve ve inek grupları arasındaki istatistiksel farklılıklar Student T testi ile analiz edildi. İstatistik analizlerde SPSS 15.0 paket programı kullanıldı.

#### Bulgular

Düve ve ineklerin serum IgG, biyokimyasal parametreler ve makromineral düzeylerindeki değişimler Tablo 1 ve 2'de sunulmuştur.

Düve ve ineklerin serum makromineral, biyokimyasal parametreler ve IgG seviyeleri karşılaştırıldığında; düvelerde serum ALP, LDH ve P seviyeleri ineklere göre önemli oranda ( $p<0.05$ ) yüksek, IgG ve Mg seviyeleri ise önemli oranda ( $p<0.05$ ) düşük bulunmuştur (Tablo 1-2).

**Tablo 1.** Düve ve ineklerin serum IgG seviyesi ve biyokimyasal parametrelerine ait tanımlayıcı istatistikler ve önem kontrolleri (Ortalama±standart hata)

Parametreler	Düve (n=24)	İnek (n=24)	P değeri
IgG (mg/dl)	1888.46±128.03	2498.71±143.92	<b>0.003</b>
BUN (mg/dl)	11.75±0.53	12.25±0.62	0.542
Kreatinin (mg/dl)	1.21±0.04	1.14±0.05	0.262
Total Protein (g/dl)	7.00±0.13	7.06±0.11	0.761
Albumin (g/dl)	3.75±0.05	3.72±0.04	0.591
Globulin (g/dl)	3.25±0.13	3.34±0.10	0.567
AST (U/L)	65.92±3.49	71.42±3.31	0.259
ALP (U/L)	233.33±12.73	167.29±11.32	<b>&lt;0.001</b>
LDH (U/L)	1911.29±62.34	1655.33±42.29	<b>0.002</b>
GGT (U/L)	24.21±2.07	24.71±2.46	0.877
CK (U/L)	210.58±28.68	197.83±29.41	0.758
Total Bilirubin (mg/dl)	1.46±0.05	1.32±0.06	0.084
Glukoz (mg/dl)	94.29±5.16	90.67±8.25	0.711
Kolesterol (mg/dl)	88.43±2.77	81.79±2.35	0.074
Trigliserid (mg/dl)	28.63±1.54	25.38±0.96	0.080

**Tablo 2.** Düve ve ineklerin serum makromineral seviyelerine ait tanımlayıcı istatistikler ve önem kontrolleri (Ortalama±standart hata)

Parametreler	Düve (n=24)	İnek (n=24)	P değeri
Kalsiyum (mg/dl)	7.81±0.13	7.54±0.15	0.168
Fosfor (mg/dl)	5.15±0.17	4.40±0.18	<b>0.004</b>
Magnezyum (mg/dl)	1.43±0.03	1.65±0.04	<b>&lt;0.001</b>

### Tartışma ve Sonuç

Sığırlarda doğum süreci önemli bir stres faktörüdür. Doğum ve laktasyonun başlaması ineklerin homeostatik mekanizmalarına büyük fizyolojik zorluklar getirmektedir (2,12). Bu stres faktörleri de metabolizmada değişikliklere neden olabilmektedir.

İmmunoglobulinler (Ig), yüksek moleküler ağırlığa sahip proteinlerdir (6). Ig'lerin aminoasit içeriği, memelilerde süt veya serumda bulunan diğer proteinlerin aminoasit diziliminden tamamen farklıdır (5). İnek serum Ig sınıfından en bol bulunan IgG'dir ve IgG serum ve kolostral Ig'lerinin %85-90'ını oluşturmaktadır (6). Devery-Pocius ve Larson (8), ilk laktasyondaki holstein ırkı ineklerin laktasyonun erken dönemindeki serum IgG1 ve IgG2 düzeylerinin iki ve üzerinde laktasyona sahip ineklere göre düşük düzeyde olduğunu rapor etmişlerdir. Sunulan bu çalışmada düvelerin serum IgG düzeyleri ineklere göre önemli oranda ( $p<0.05$ ) düşük olduğu tespit edildi. Bu düşüklük muhtemelen düvelerin ineklere göre yaş ile ilişkili olarak çiftlik bazlı patojenlere daha az maruz kalmasına bağlı spesifik antikor cevabının düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Araştırmamızda düve ve ineklerde tespit edilen ortalama (minimum-maksimum) IgG düzeyleri (mg/dl) sırasıyla 1888 (923-3485) ve 2499 (1464-3868) olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda belirlenen düve ve ineklerin serum IgG düzeyleriyle Devery-Pocius ve Larson (8) tarafından yapılan çalışmada belirlenen IgG düzeyleri benzerlik gösterdi.

Klinik biyokimyasal profil birkaç organ sisteminin değerlendirilmesinde kullanılabilen değerli diyagnostik bir araçtır (23). Düve ve inek serum biyokimyasal parametreler karşılaştırıldığında BUN, kreatinin, total protein, albumin, globulin, total bilirubin, glukoz, kolesterol, trigliserid seviyeleri ve AST, GGT, CK enzim aktiviteleri arasında bir fark belirlenmez iken, düvelerde serum ALP ve LDH enzim aktiviteleri ineklere göre önemli oranda ( $p<0.05$ ) yüksek bulundu. Düve ve ineklerin serum BUN, kreatinin, total protein, albumin, globulin, total bilirubin, glukoz, kolesterol düzeyleri ile AST, GGT, CK ve ALP enzim

aktiviteleri referans değerler arasında iken, serum trigliserid düzeyi ve LDH aktivitelerinin referans sınırların üzerinde olduğu belirlendi (10,22). ALP aktivitesi genç ve büyüyen hayvanlarda osteoblastik aktivite nedeniyle yüksek seviyede bulunmaktadır (23,25). Yapılan araştırmalarda, ilk doğumunu yapan sığırlarda ALP aktivitesinin birden çok doğum yapan sığırlara göre yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir ve yüksek ALP aktivitesinin yüksek osteoblastik aktiviteyle ilgili olabileceği ifade edilmiştir (7,18). Diğer araştırmalarda da serum kemik doku spesifik-ALP aktivitesinin doğum zamanında ilk doğumunu yapanlarda çoklu doğum yapanlara göre yüksek olduğu rapor edilmiştir (9,24). Araştırmamızda düvelerdeki serum ALP aktivitesinin ineklerinkine göre önemli seviyede ( $p<0.05$ ) yüksek olması osteoblastik aktiviteyle ilişkili olabilir. LDH enzim aktivitesi vücutta geniş doku varyasyonu göstermektedir. En yüksek seviyede bulunduğu yerler karaciğer ve kas dokusudur. Eritrosit de yüksek LDH aktivitesine sahiptir. Serumun pıhtılaşması için uzun süre bekletildiğinde yada örneklerdeki hemoliz LDH aktivitesinde yanlış yükselmelere neden olabilir (23). Çalışmamızdaki örneklerde olabilecek hafif hemolizler nedeniyle LDH aktivitesi normal referans sınırların üzerinde tespit edilmiş olabilir.

Sütçü ineklerin mineral durumu çeşili faktörlerden etkilenir. Doğum sayısı, geçiş dönemindeki inekler ve yenidoğan buzağuların mineral durumunu etkileyen önemli bir faktördür (17,19). Doğum sonrası sütçü sığırlarda fizyolojik olarak hipokalsemi görülebilir. Postparturient sığırların birçoğu sağlıklı sığırlar için bildirilen referans aralıklara göre hipokalsemiktir, ancak sağlıklı postparturient sütçü sığırlar için bildirilen değerlere göre hipokalsemik değildir (23). Kalsiyum homeostazisini etkileyen üç faktör vardır. 1-Kolostrum ile aşırı kalsiyum kaybını karşılayacak derecede bağırsaklardan kalsiyum emilimi ve kemiklerden mobilizasyon yoktur. 2-Doğumda bağırsaklardan kalsiyum absorpsiyonunun bozulmasıdır. 3-Normal serum kalsiyum seviyesinin sürdürülmesi için iskelet sistemindeki depolardan kalsiyum salınımındaki yetersizlik-

lerdir. Bu yüzden erken postpartum dönemde sığırların plazma kalsiyum konsantrasyonu azalır. Plazma ve iyonize kalsiyumun postpartum depresyonu yaşlı sığırlarda ilk doğumunu yapan sığırlara göre daha fazladır (16,22). Araştırmamızda ineklerin serum kalsiyum seviyesi düvele- rinkinden düşük olarak tespit edilmesine karşın düve ve inek serum kalsiyum değerleri arasında istatistiksel fark belirlenmedi. Bu çalışmada inek ve düvelerin kan kalsiyum değerleri sağlıklı sığırların referans değerlerinden düşük olarak tespit edildi. Bu sonuç doğumdan sonra gözle- nen fizyolojik hipokalsemiyle uyumluydu. Sığır- larda buzağılama zamanında kalsiyum seviyesi- nin azaldığı bildirilmiştir (13,15,20). Bu sonuçlar sığırlarda buzağılama zamanında kalsiyum se- viyesinin azaldığını belirten çalışmalarla (13,15,20) uyumlu bulunmuştur. Sığırlarda doğum zamanında düşük fosfor sevi- yesine etki eden birkaç faktör vardır. Birinci ola- rak, laktasyonun başlamasıyla artan fosfor ihti- yacı, ikinci olarak düşük Ca seviyesi ile ilişkili artan parathormon seviyesine bağlı P'un idrar ile kaybının yükselmesi ve sonuncu olarak da doğum öncesi ineklerin düşük gıda alımına bağ- lı olarak bağırsaklardan yetersiz P alımıdır (16). Araştırmamızda düve ve inek serum fosfor sevi- yeleri yetişkin sığırların normal referans aralıkla- rına göre düşük olarak tespit edildi. Ayrıca dü- velerin serum fosfor seviyesi ineklerinkine göre önemli oranda ( $P<0.05$ ) yüksek olarak belirlen- di. Yapılan çalışmalarda sığırlarda buzağılama zamanında fosfor seviyesinin azaldığı bildiril- miştir (13,20,21). Yapılan bir araştırmada, genç sığırlardaki serum P seviyelerinin yetişkin hay- vanlara göre önemli seviyede yüksek olduğu rapor edilmiştir (20). Bu sonuçlar çalışmamızda belirlenen sonuçlar ile uyumluluk göstermiştir. Hipokalsemili sığırlarda, kemiklerden yüksek Mg mobilizasyonu, hücrelerin Mg alımının ve idrar ile Mg atılımının azalması gibi nedenlerden do- layı yüksek serum Mg seviyesine rastlanabilir. Aksine, Mg eksikliği parathormon ve böbrekler tarafından sentezlenen 1,25 dihidroksivitamin D3 sentezini azaltır (16). Yapılan araştırmalarda sığırların doğum zamanında yüksek serum Mg seviyesine sahip olduğu bildirilirken (11,13,14,15,27) aksine Piccione ve ark (21) doğum öncesi ve sonrasına göre serum Mg se- viyesinin doğum anında düştüğünü belirtmiştir. Sunulan bu araştırmada, düvelerin serum Mg seviyesi ineklerinkinden önemli oranda ( $p<0.05$ ) düşük olarak bulundu. Ayrıca çalışmamızda

belirlenen serum Mg seviyeleri sığırlar için belirlenen referans sınırların altındaydı.

Sonuç olarak, doğum sonrası düve ve inekler arasında serum immunoglobulin G, kalsiyum, fosfor ve magnezyum düzeyleri ile bazı biyokim- yasal parametrelerde önemli değişimlerin oldu- ğu ve sütçü sığırlarda postpartum dönemde bu değişimlerin göz önünde bulundurulmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

#### Kaynaklar

1. Ahmad I, Gohar A, Ahmad N, Ahmed M. Haematological profile in cyclic, non cyclic and endometritic cross-bred cattle. *Int J Agr Biol* 2003; 5(3): 332-4.
2. Avcı C, Kızıl Ö. Geçiş dönemindeki inekler- de stres parametreleri üzerine mineral uygu- lamasının etkileri. *F Ü Sağ Bil Vet Derg* 2012; 26(2): 87-91.
3. Başoğlu A, Sevinç M. Metabolik ve Endokrin Hastalıklar. Ankara: Pozitif Press, 2004; p.1- 143.
4. Bedenicki M, Potocnjak D, Harapin I, Radi- sic B, Samardzija M, Kreszinger M, Zubcic D, Djuricic D, Bedrica L. Haematological and biochemical parameters in the blood of an indigenous Croatian breed-Istrian cattle. *Archiv Tierzucht* 2014; 57(18): 1-7.
5. Bergmann-Leitner ES, Mease RM, Duncan EH, Khan F, Waitumbi J, Angov E. Evalua- tion of immunoglobulin purification methods and their impact on quality and yield of anti- gen specific antibodies. *Malaria J* 2008; 7: 129-38.
6. Butler JE. Bovine immunoglobulins: A re- view. *J Dairy Sci* 1969; 52(12): 1895-09.
7. Cozzi G, Ravarotto L, Gottardo F, Stefani AL, Contiero B, Moro L, Brscic M, Dalvit P. Short communication: Reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: Effects of parity, stage of lactation, and sea- son of production. *J Dairy Sci* 2011; 94(8): 3895-901.
8. Devery-Pocius JE, Larson BL. Age and pre- vious lactations as factors in the amount of bovine colostrum immunoglobulins. *J Dairy Sci* 1983; 66(2): 221-6.
9. Devkota B, Takahashi M, Sasaki K, Osawa T, Izaike Y, Yamagishi N. Fluctuation in plasma bone metabolic markers in multipa- rous and primiparous holstein cows during early to peak lactation. *J Vet Med Sci* 2013; 75(9): 1257-60.
10. Fielder SE. Serum biochemical reference

- ranges. <http://www.msdtvetmanual.com/appendixes/reference-guides/serum-biochemical-reference-ranges>. Erişim tarihi: 14.04.2017.
11. Gaona RC, Alegria KG, Hernandez EA, Patino LG. Protein and mineral metabolites for dairy cows during the transition period under tropical conditions. *Rev Fac Nal Agr Medellin* 2012; 65(2): 6719-28.
  12. Goff JP, Horst RL. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J Dairy Sci* 1997; 80(7): 1260-8.
  13. Goff JP, Horste RL. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. *J Dairy Sci* 1997; 80(1): 176-86.
  14. Goff JP, Kimura K, Horst RL. Effect of mastectomy on milk fever, energy, and vitamins A, E, and  $\beta$ -carotene status at parturition. *J Dairy Sci* 2002; 85(6): 1427-36
  15. Jagos P, Dvoitak V, Bouda J. Levels of minerals in the blood plasma of cows and their calves fed from buckets. *Acta Vet Brno* 1981; 50(1-2): 33-41.
  16. Kincaid R. Changes in the concentration of minerals in blood of peripartum cows. Mid-South Ruminant Nutrition Conference. April, 6-7, 2008; Texas-USA.
  17. Kume S, Yamamoto E, Kudo T, Toharmat T, Nonaka I. Effect of parity on mineral concentration in milk and plasma of Holstein cows during early lactation. *AJAS* 1998; 11(2): 133-8.
  18. Kume S, Nonaka K, Oshita T. Relationship between parity and mineral status in dairy cows during the periparturient period. *Anim Sci J* 2003; 74(3): 211-5.
  19. Kume S, Tanabe S. Effect of parity on colostrum mineral concentrations of holstein cows and value of colostrum as a mineral source for newborn calves. *J Dairy Sci* 1993; 76(6): 1654-60.
  20. McAdam PA, O'Dell GD. Mineral profile of blood plasma of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1982; 65(7): 1219-26.
  21. Piccione G, Messina V, Marafioti S, Casella S, Giannetto C, Fazio F. Changes of some haematochemical parameters in dairy cows during late gestation, post partum, lactation and dry periods. *Vet Zootech-Lith* 2012; 58(80): 59-64.
  22. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. *Veterinary Medicine. Tenth Edition*. Philadelphia, PA: WB Saunders, 2007; p.1618-2050.
  23. Russell KE, Roussel AJ. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. *Vet Clin Food Anim* 2007; 23(3): 403-26.
  24. Sato R, Onda K, Kato H, Ochiai H, Kawai K, Iriki T, Kaneko K, Yamazaki Y, Wada Y. An evaluation of the effect of age and the peri-parturient period on bone metabolism in dairy cows as measured by serum bone-specific alkaline phosphatase activity and urinary deoxypyridinoline concentration. *Vet J* 2013; 197(2): 358-62.
  25. Turgut K. *Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. İkinci Baskı*. Konya: Bahçıvanlar, 2000; p.179-201.
  26. Umucalılar HD, Gülşen N. *Çiftlik Hayvanlarında Beslenme Hastalıkları*. Konya: SÜ Basımevi, 2005; p.59-69.
  27. Wilson GDA, Hunter JT, Derrick GH, Aitken WM, Kronfeld DS. Fetal and maternal mineral concentrations in dairy cattle during late pregnancy. *J Dairy Sci* 1977; 60(6): 935-41.

#### Sorumlu yazar:

Yrd. Doç. Dr. Uğur AYDOĞDU  
 Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
 İç Hastalıkları Anabilim Dalı  
 58140 Sivas-TÜRKİYE  
 E-posta: uguraydogdu17@gmail.com  
 Tel: 0 346 2191010/2583/117  
 Fax: +90 346 2191812





## Niğde ve Kayseri’de Satışa Sunulan Köy ve Market Yumurtalarının Mikrobiyolojik Kalitesi

Fulden KARADAL<sup>1</sup>, Nurhan ERTAS ONMAZ<sup>2</sup>, Harun HIZLISOY<sup>3</sup>, Yeliz YILDIRIM<sup>2</sup>, Serhat AL<sup>2</sup>,  
Zafer GONULALAN<sup>2</sup>, İsmail ÜLGER<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Bor Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Niğde-TÜRKİYE

<sup>2</sup>Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>3</sup>Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

<sup>4</sup>Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE

**Özet:** Bu çalışmada, market ve köy yumurtalarının mikrobiyolojik kalitelerinin araştırılması amaçlandı. Bu kapsamda, Niğde ve Kayseri’deki çeşitli market ve açık pazarlardan alınan toplam 200 yumurta (100 market ve 100 köy) örneği mikrobiyolojik analize tabi tutuldu. Her bir yumurta kabuğu ve içeriği koliform, *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. ve maya- küf bakımından incelendi. İncelenen yumurta örneklerinin hiçbirinde *Campylobacter* spp. ve *S. aureus*’a rastlanmazken, bir örnekte (yumurta kabuğu) *Salmonella* spp. belirlendi. Ayrıca 27 (%13.5) yumurta kabuğunun ve 6 (%3) içeriğinin koliform bakteriler ile sırasıyla 12 (%6) ve 31 (%15.5) yumurta kabuğunun ise sırasıyla *E. coli* ve maya- küf ile kontamine olduğu tespit edildi. Koliform, *E. coli* ve maya- küf sayılarının ortalama değerleri sırasıyla 3.69-5.62 log kob/mL, 3.35-3.55 log kob/mL, ve 6.80-6.97 log kob/mL olarak belirlendi. Elde edilen veriler, incelenen yumurta kabuklarındaki mikrobiyel yükün, buzdolabı ve mutfak ortamlarını kontamine edebileceğini; içerik kontaminasyonlarının ise az pişmiş yumurta tüketimi yoluyla halk sağlığı açısından risk teşkil edebileceğini ortaya koymaktadır. Bu çalışmada elde edilen verilere dayanarak, marketlerde ve köy pazarlarında satışa sunulan yumurtaların +8°C’nin altındaki sıcaklıklarda muhafaza edilmesi konusunda gerekli önlemlerin alınması, üretici ve tüketicilerin yumurtanın soğukta muhafaza edilmesi gereken riskli bir gıda olduğu konusunda bilinçlendirilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Köy yumurtası, market yumurtası, mikrobiyolojik kalite, prevalans

### The Microbiological Quality of the Village and Market Eggs Sold at Retail in Nigde and Kayseri

**Summary:** In this study, it is aimed to investigate the microbiological quality of market and village eggs. A total of 200 eggs (100 market and 100 village) were randomly collected from different markets and village bazaars in Nigde and Kayseri. Each egg shell and content were investigated for coliform, *E. coli*, *Campylobacter* spp., *S. aureus*, *Salmonella* spp. and yeast- mold contaminations. None of the egg samples were contaminated with *Campylobacter* spp. and *S. aureus* while *Salmonella* spp. was determined in one sample (eggshell). In addition, it was determined that 27 (13.5%) egg shells and 6 (3%) egg contents were found contaminated with coliforms, where 12 (6%) and 31 (15.5%) of the egg shells were found contaminated with *E. coli* and yeast and mold respectively. Total coliform, *E. coli* and yeast- mold counts were detected to range from 3.69 to 5.62 log cfu/mL, 3.35 to 3.55 log cfu/mL and 6.80 to 6.97 log cfu/mL, respectively. Obtained data revealed that the microbiological load on egg shells may lead to contaminations in refrigerator and kitchen environments while egg content contaminations may constitute a risk for public health through undercooked egg consumption. In conclusion, preventive measures must be taken to keep both market and village eggs under +8 °C during storage, besides, producers and consumer’s awareness should be raised about the fact that egg is also a risky food that must be kept cold.

**Key words:** Market egg, microbiological quality, prevalence, village egg

### Giriş

Yumurta ülkemizde ve dünyada sevilerek tüketilen, biyolojik değeri yüksek, organizmanın ihtiyaç duyduğu temel besin maddelerini karşılayabilen, orta kalorili (150 kcal/100 g), önemli bir hayvansal gıdadır (7). Yumurta ayrıca, ekonomik bir gıda maddesidir. Yapılan araştırmalar ailelerin eğitim seviyeleri ve gelir durumlarının

yumurta tüketim oranı ile ilişkili olmadığını, yumurtanın toplumun tüm kesimleri tarafından sıklıkla tüketildiğini rapor etmektedir (18,25).

Yumurtanın uygun hijyenik kalitede olması, tüketici sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Yumurtada mikrobiyel üremenin, yumurta kalitesini belirgin olarak etkilediği; yumurta kabuğu ve içeriğindeki kontaminasyonun tüketici sağlığı için önemli mikrobiyolojik tehlikeler içerebileceği belirtilmektedir (13). Yumurtanın mikroorganizmalarla kontaminasyonu vertikal ya da

horizontal yollarla olabilmekte; vertikal kontaminasyonda enfeksiyon etkenleri ovaryum (transovaryan kontaminasyon), ovidukt, vagina ve kloaka gibi üreme organlarında bulunmakta ve yumurtayı kontamine etmektedirler (24) Horizontal kontaminasyon ise mikrobiyal etkenlerin yumurta kabuğuna penetrasyonu ve yumurta içeriğine bulaşması sonucu oluşmaktadır. Yumurta kabuğunun temas ettiği tüm ortamlar (örn: dışkı, toprak ve atık maddeler), kırık yumurta, kümes ve kümes içerisindeki ekipmanlar (örn: kafes, folluk, suluk) ve personel, kontaminasyon kaynağı olabilmektedir (28). Genellikle yumurtanın içeriğinden ziyade kabuğu; yüksek nem, sıcaklık veya hijyenik olmayan ortamda muhafaza, düşük kabuk kalitesi, yumurtanın yıkanması ya da sıcaklık farkı ile yumurta yüzeyinde oluşan terleme gibi faktörlerden dolayı daha sık kontamine olmaktadır (32).

Türk Gıda Kodeksi Yumurta Tebliği (37), yumurta ve yumurta ürünlerinin mikrobiyolojik kriterleri ve hijyeni hususunda, Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (36), Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği (35) ile Gıda Hijyeni Yönetmeliğinde (34) yer alan hükümlere uygun olması gerektiğinin altını çizmektedir.

Bu çalışmada Niğde ve Kayseri'deki marketlerde satışa sunulan yumurtalar ile halk pazarlarında köy yumurtası adı altında sunulan yumurtalara ait içerik ve kabuk örneklerinde bazı patojenlerin varlığının belirlenmesi ve bu örneklerin mikrobiyolojik kalite yönünden incelenerek karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

### Gereç

Bu çalışmada Kayseri ve Niğde illerindeki pazar ve marketlerden iki haftalık periyodik aralıklar ile alınan toplam 200 adet yumurta (100 adet köy ve 100 adet market yumurtası) materyal olarak kullanıldı. Numuneler aseptik koşullarda soğuk zincir altında alınarak laboratuvara getirildi ve 1-2 saat içerisinde analizleri yapıldı.

### Mikrobiyolojik analizler

Numuneler koliform grubu bakteri, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. ve maya- küf yönünden incelendi. Bu amaçla öncelikle yumurta kabuğunun yüzeyinden Tamponlanmış Peptonlu Su (BPW) (Merck 107228, Almanya) ile ıslatılmış steril eküvyonlu çubuk yardımıyla örnek alındı. Alınan örnek 15 mL peptonlu su içeren tüpe konuldu ve 2 dk homojenize edildi. Elde edilen 15 mL peptonlu su mikroorganizma izolasyonu için kullanıldı. Yumurta içeriğinden numune alınması amacı ile; yumurta kabuğu %72'lik alkolle silinerek asepsi-

si sağlandı ve aseptik şartlarda steril makas ve pens yardımı ile hava kesesinin olduğu taraftan açıldı. Yumurta akı ve sarısı steril bir kaba alındı ve karıştırılarak homojenize edildi (31). Homojenize edilen yumurta içeriğinden mikroorganizmaların izolasyonu için 10 gr tartılarak 90 mL BPW ile karıştırıldı. Bu işlemlerden sonra yumurta kabuğu ve yumurta içeriğinden hazırlanan süspansiyonlardan 100'er µL alınarak incelenen mikroorganizmalar için spesifik besiyerlerine yayma plak yöntemi ile ekildi.

**Koliform bakteri ve *E. coli* izolasyonu:** Bu analiz için 0.05 mg Cefixime ve 2.5 mg Tellurite (CT Supplement 109202, Merck, Almanya) içeren Chromocult Coliform agar (118441, Merck, Almanya) kullanıldı. Besiyerinde 37 °C'de 18-24 saat inkübasyon sonucu gelişen kolonilerden mavi renkli olanlar *E. coli*, pembe renkli koloniler ise koliform olarak değerlendirildi (12)

***S. aureus* izolasyonu:** Numuneler Egg-Yolk Tellurite (Merck, Almanya) içeren Baird Parker Medium (BPM, Oxoid, İngiltere) besiyerine ekildi ve 37° C'de 2-3 gün inkübasyona bırakıldı. Inkübasyon süresi sonunda BPM'de üreyen parlak siyah ve etrafı hale ile çevrili olan koloniler *S. aureus* olarak değerlendirildi ve şüpheli kolonilere katalaz ve koagülaz testleri uygulandı (26).

***Campylobacter* spp. izolasyonu:** İncelenen numunelerden *Campylobacter* türlerinin izolasyonu ISO 10272'ye göre yapıldı (19). Bu amaçla, numuneler sefoperazon, amfoterisin B, teikoplantin selektif supplement (CAT) içeren Modified Charcoal Desoxycholate Agar'a (mCCDA, Oxoid, İngiltere) ekilerek 42 °C'de 48-72 saat mikroaerobik ortamda inkübe edildi. Inkübasyon süresi sonunda konveks, parlak, düzgün kenarlı ve grimsi renkte şüpheli kolonilere fenotipik testler (Gram boyam, oksidaz, katalaz, H<sub>2</sub>S ve Hip-purat hidrolizi) uygulandı.

**Maya-Küf izolasyonu:** Numunelerden maya-küf izolasyonu ISO 21527-2'e göre, Dichloranrose-Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar (Merck 1.00466, Almanya) kullanılarak gerçekleştirildi. Ekim yapılan petriler 25 °C ± 1 °C 'de aerobik koşullarda 5-7 gün inkübe edildi. Koloniler, inkübasyon süresi sonunda makroskopik ve mikroskopik özelliklerine göre izole edildi (21).

***Salmonella* spp. izolasyonu:** Yumurta kabuğundan elde edilen 15 mL peptonlu sudan alınan 10 ml sıvı ve 10 gr yumurta içeriği ayrı ayrı 90'ar mL tamponlanmış peptonlu suya (Merck 1.07228, Almanya) ilave edildi ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek ön zenginleştirme işlemine tabi tutuldu. Inkübasyon süresi sonunda elde edilen kültürden ISO 6579'e göre *Salmonella* spp. izolasyonu gerçekleştirildi (20). Elde

edilen şüpheli kolonilere indol, sitrat, üreaz, fermentasyon, MR (Metil Red) ve VP (Voges-Proskauer) testleri uygulandı.

**Salmonella spp.'nin moleküler identifikasyonu:** *Salmonella* türlerinin DNA ekstraksiyonu Instagene™ Genomic DNA ekstraksiyon kiti (Bio-Rad, Hercules, CA, ABD) kullanılarak yapıldı. Çalışmada Aabo ve ark., (1) tarafından bildirilen primerler (ST11:5' AGC CAA CCA TTG CTA AAT TGG CGC A3'; ST15:5' GGT AGA AAT TCC CAG CGG GTA CTG 3') kullanıldı. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) için; 5 µL template DNA, 5 µL 10xPCR buffer (Vivantis Technologies, Malezya), 1.5 U Taq polymerase (Vivantis Technologies, Malezya), 500 µM dNTPMix (Vivantis Technologies, Malezya), 3 mM MgCl<sub>2</sub> (Vivantis Technologies, Malezya) ve her primerden 25 pmol (Sentromer DNA Teknolojileri, Türkiye) içeren 50 µL hacimde reaksiyon karışımı hazırlandı. DNA amplifikasyonunda başlangıç denatürasyonu 95 °C'de 1 dk olarak belirlendi, 94 °C'de 15 s, 57 °C'de 15 s, 72 °C'de 30 s olan amplifikasyon değerleri 30 siklus olarak uygulandı ve 72 °C'de 8 dk final ekstensiyon ile sonlandırıldı. Tüm ampikonlar % 1.5'lük agaroz jelde elektroforeze tabi tutuldu ve sonuçlar UV transilluminator (Vilber Lourmat, Marne La Vallee, Fransa) sisteminde analiz edildi. *Salmonella* spp. için 429 bp büyüklüğünde bant oluşumu beklendi.

#### Mikrobiyel kontaminasyon sonuçlarının varyans analizi

Çalışmada market ve köy yumurtalarında mikroorganizma görülme oranları arasındaki farklılık Ki-kare; kabuk ve içerikteki mikroorganizma sayıları arasındaki farklılığın önem kontrolü

Mann-Whitney U testi ile belirlendi. Mikroorganizma sayıları log<sub>10</sub> tabanına dönüştürüldü.

#### Bulgular

Çalışma kapsamında yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda, yumurta örneklerinin 77'sinde (%38.5) [71 (%35.5) kabuk ve 6 (%3) içerik] kontaminasyon tespit edildi. İncelenen köy yumurtası örneklerinden birinde (%0.5) *Salmonella* spp. belirlendi. Elde edilen izolat PZR ile doğrulandı. İncelenen yumurta örneklerinden 33'ünde (27 kabuk, 6 içerik) koliform, 12 (%6) yumurta kabuğunda *E. coli* ve 31 (%15.5) yumurta kabuğunda maya-küf izole edilirken, yumurta örneklerinin hiçbirinde *Campylobacter* spp. ve *S. aureus*'a rastlanmadı (Tablo 1). Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucunda, köy ve market yumurtası kabuk ve içeriklerinden izole edilen koliform ve *E. coli* varlığı arasındaki farklılık önemsiz bulunurken (p>0.05); maya-küf varlığı önemli düzeyde farklı bulunmuştur (p<0.05) (Tablo 1).

Çalışmada incelenen köy ve market yumurtası kabuklarında ve içeriklerinde ortalama koliform, *E. coli* ve maya-küf sayıları Tablo 2'de belirtilmiştir. Belirlenen mikroorganizma sayıları arasında analiz edilen yumurta çeşitlerine göre bir farklılık bulunamamıştır (Tablo 2).

#### Tartışma ve Sonuç

Yumurta kabuğu ve içeriği *Campylobacter* spp., *S. aureus*, *Salmonella* spp. ve *E. coli* gibi patojen bakterilerle kontamine olabilmektedir (3,8,11,33). *Campylobacter* türlerinin en önemlisi olan *C. jejuni* gelişmiş ülkelerde bakteriyel ishale en yaygın nedenidir ve etkenin kanatlı hayvanlardaki prevalansı yüksek olduğundan kontamine kanatlı ürünlerinin tüketimi, enfeksi-

**Tablo 1.** Yumurta örneklerinde mikroorganizma varlığı ve görülme oranları arasındaki farklılık

Mikroorganizma	Market Yumurtası (n=100)		Köy Yumurtası (n=100)		P değeri
	Kabuk n (%)	İçerik n (%)	Kabuk n (%)	İçerik n (%)	
<i>Salmonella</i> spp.	-	-	1 (%1)	-	-
Koliform	14 (%14)	2 (%2)	13 (%13)	4 (%4)	0.836
<i>E. coli</i>	6 (%6)	-	6 (%6)	-	1
Maya- Küf	9 (%9)	-	22 (%22)	-	0.011

**Tablo 2.** Yumurta örneklerindeki mikroorganizma sayıları ve istatistiksel değerlendirme sonuçları

Mikroorganizma*	Market Yumurtası			Köy yumurtası			P değeri	
	Min	Max	(X)± SD	Min	Max	(X)± SD		
Kabuk	Koliform	4.14	6.91	5.21±0.228	4.59	6.88	5.62±0.229	0.224
	<i>E. coli</i>	2.47	4.41	3.55±0.317	2.3	4.62	3.35±0.374	0.818
	Maya-Küf	4	7.79	6.80±0.389	4	8.86	6.97±0.283	0.564
İçerik	Koliform	3.96	4.04	4±0.04	3.49	4.11	3.69±0.144	0.533
	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-
	Maya-Küf	-	-	-	-	-	-	-

\*Mikroorganizma sayıları log<sub>10</sub> kob/g olarak verilmiştir.



yonun başlıca sebebi olarak gösterilmektedir (15). *C. jejuni*'nin kanatlı üreme organlarından izole edildiği bildirilmiş olmasına rağmen (8); Fonseca ve ark. (16) yumurtadaki çeşitli koruyucu faktörlerin *C. jejuni*'nin yumurtaya nüfuz etmesini ve yumurta içeriğinde hayatta kalmasını önlediğini rapor etmektedirler. Bu bakımdan etkenin yumurta içeriğinde bulunmadığı (16), yumurta kabuğundaki prevelansının da düşük düzeyde olduğu belirtilmektedir (3). Benzer şekilde bu çalışmada da incelenen yumurta örneklerinde de *Campylobacter* spp. tespit edilememiştir.

Bu çalışmada, yumurta örneklerinde *S. aureus*'a rastlanmamıştır. *Staphylococcus* türleri, kanatlılar dahil tüm sıcakkanlı canlıların biotasında ve doğada yaygın olarak bulunmaktadır ve bu çalışmanın sonuçlarından farklı olarak, Polonya ve Çek Cumhuriyeti'nde yapılan bazı çalışmalar etkenin yumurtaya çiftlik ortamından başlayarak damgalama, paketlenme, nakliye ve saklama aşamalarında bulaşabildiğini ortaya koymuştur (10,27,33). Yapılan çalışmalarda yumurta kabuğunda *Staphylococcus* türlerinden *Staphylococcus equorum* subsp. *linens*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus xylosus* ve *Staphylococcus lentus*'un yumurta kabuklarında dominant biota olduğu belirtilmektedir (5,10).

Gıda kaynaklı salgınlardan en çok izole edilen bakteriler arasında ikinci sırada yer alan *Salmonella* serotipleri, en çok yumurta ve yumurta ürünleri tüketen kişilere bulaşmaktadır. *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium kontamine yumurtalardan en sık izole edilen serotiplerdir ve *S. Enteritidis*'in birçok ülkede salmonelloz salgınlarından sorumlu olduğu belirtilmektedir (38). *Salmonella* türleri yumurtalara vertikal veya horizontal yolla bulaşabilmekte; yumurta kabuğu içine nüfuz ederek yumurta içeriğinde çoğalabilmektedirler (17). Bu çalışmada, analiz edilen bir (%0.5) köy yumurtası kabuğunda *Salmonella* spp. izole edildi. Buna karşın ülkemizde ve Suudi Arabistan, İran ve Mauritius Cumhuriyeti'nde yapılan bazı araştırmalarda araştırmacılar, inceledikleri hiçbir numune grubunda *Salmonella* spp saptamadıklarını bildirmektedirler (3,6,11,23,29). Bu çalışma ile paralel olarak Begum ve ark. (4) %0.27 ile De Reu ve ark. (9) *Salmonella* spp.'nin yumurta örneklerindeki prevelansının çok düşük olduğunu bildirmişlerdir. Erkan ve ark. (14) ise köy ve market yumurta kabuklarında *Salmonella* spp. kontaminasyonunu sırası ile %10 ve %21 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Yumurtalarda *Salmonella* spp. varlığı ile ilgili farklı sonuçların sebebi, yu-

murtanın üretim ve saklama aşamalarında muhafaza sıcaklığı, dışkı ile kontaminasyon derecesi ve örneklem genişliği olabilir (6,14).

Koliform mikroorganizmalar gıdanın mikrobiyolojik kalitesi ve güvenliğinin belirlenmesinde indikatör olarak kullanılmaktadırlar. Gıdalarda koliformların varlığı, dışkı kaynaklı diğer mikroorganizmaların mevcut olabileceğinin göstergesidir (22). Bu çalışmada market yumurtalarının %16'sında (%14 kabuk ve %2 iç) ve köy yumurtalarının %17'sinde (%13 kabuk ve %4 iç) 3.69-5.62 log<sub>10</sub> kob/mL düzeyinde koliform bulundu. Çeşitli çalışmalarda yumurta kabuğu ve içeriğindeki koliform sayısının 2.35- 3.69 log<sub>10</sub> kob/mL arasında olduğu belirtilmektedir (14,23). Çalışmada ayrıca 12 (%12) yumurta kabuğundan (6 market ve 6 köy) 3.35-3.55 log<sub>10</sub> kob/mL düzeyinde *E. coli* izole edildi. Bu çalışmaya paralel olarak Bahobail ve ark. (3) inceledikleri yumurtaların %8.8'inden (yumurta kabuğu); buna karşın Erkan ve ark. (14) market yumurtası kabuklarının %33 ve köy yumurtası kabuklarının %35'inden *E. coli* izole edildiğini bildirmişlerdir. Etkenler kanatlı hayvanların sindirim sisteminde doğal olarak bulunduğu yumurtalarda koliform ve *E. coli* kontaminasyonunun kaynağı olarak öncelikle kanatlı dışkısı, daha sonra ise toplama ve muhafaza süreçlerindeki zayıf hijyenik koşullar gösterilmektedir (22).

Çalışmada incelenen 9 (%9) market ve 22 (%22) köy yumurtası kabuğunda sırasıyla ortalama 6.80 ve 6.97 log kob/mL düzeylerinde maya- küf izole edildi. Bu çalışmaya benzer şekilde Salem ve ark. (30) ve Ahmed ve ark. (2) da analiz ettikleri yumurta örneklerinden  $\geq 5$  log<sub>10</sub> kob/ mL düzeyinde maya- küf izole ettiklerini rapor etmişlerdir. Ancak Bahobail ve ark. (3) tarafından küf kontaminasyon aralığı 1.1-3.4 log<sub>10</sub> kob/mL olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada, incelenen yumurtalarda mikrobiyel kontaminasyonun koliform, *E. coli* ve maya-küf sayısı yönünden önemli düzeyde yüksek olduğu düşünülmektedir. Yumurtada maya- küf kontaminasyonuna kontamine yemlerin, hijyenik olmayan kümes ve muhafaza şartlarının neden olabileceği belirtilmektedir (30).

Son yıllarda sağlıklı beslenme ile ilgili kaygıların ön plana çıkması ile köy yumurtası adı altında satılan yumurtalara olan ilgi artmıştır. Türkiye'de çeşitli tüketici grupları ile yapılan araştırmalarda tüketicilerin %83.25-92.8'lik oranlarla köy yumurtasını tercih ettikleri belirlenmiştir (18,25). Bu çalışmada incelenen market ve köy yumurtalarının maya-küf kontaminasyon düzeyinde istatistiksel açıdan önemli bir farklılık belirlendi. Türk Gıda Kodeksi Yumurta Tebliği'nde de yu-

murtanın, hijyenik olmayan malzemeler (yaprak, saman vb.) içinde satışı sunulamayacağı ve temiz ve kuru yerlerde ve yabancı kokulardan ari biçimde, darbelerden, doğrudan güneş ışığından ve büyük sıcaklık dalgalanmalarından korunarak depolanmasının (3) belirtildiği göz önüne alındığında; etiketsiz olarak ve saman vb. materyal içerisinde satışı sunulan köy yumurtalarının, TKG tarafından 28 gün (3) olarak belirlenen raf ömrü kriterine uygunlukları açısından sıklıkla takip edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Bu çalışmada elde edilen veriler, incelenen yumurta kabuklarındaki mikrobiyel yükün, buzdolabı ve mutfak ortamlarını kontamine edebileceğini; içerik kontaminasyonlarının ise az pişmiş yumurta tüketimi yoluyla halk sağlığı açısından risk teşkil edebileceğini ortaya koymaktadır. Dolayısıyla gerek market gerekse de köy pazarlarında satışı sunulan yumurtaların +8 °C'nin altındaki sıcaklıklarda muhafaza edilmesi konusunda gerekli önlemlerin alınması ve üretici ve tüketicilerin -yumurtanın da soğukta muhafaza edilmesi gereken riskli bir gıda olduğun konusunda bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Ayrıca, Türkiye'de üretilen yumurtaların hijyenik özellikleri ve mikrobiyel yükleri hakkında kontrollerin sıklaştırılması, yumurta üretiminin tüm aşamalarında, ilgili yönetmeliklerin belirtmiş olduğu hususlar ile hijyenik şartlara dikkat edilmesi, kanatlı hayvanların rutin sağlık kontrollerinin yapılarak yumurta kaynaklı olabilecek zoonozların önüne geçilmesinin önemli olduğu vurgulanmalıdır.

#### Kaynaklar

1. Aabo S, Rasmussen, OF, Rossen L, Sorensen PD, Olsen JE. Salmonella identification by the polymerase chain reaction. Mol Cell Probe 1993; 7 (3): 171-8.
2. Ahmed HF, Deeb MMA, Aman IM. Studies on market hen eggs in kafr El-Sheikh and El - Gharbia Governorates. Vet Med J Giza 2002; 50 (4): 610-5.
3. Bahobail AAS, Hassan SA, El-Deeb BA. Microbial quality and content aflatoxins of commercially available eggs in Taif, Saudi Arabia. Afr J Microbiol Res 2012; 6(13): 3337-42.
4. Begum K, Reza TA, Hague M, Hossain A, Hassan FMK, Hassan SN, Akhter N, Ahmed A, Barua U. Isolation, identification and antibiotic resistance pattern of *Salmonella* spp. from chicken eggs, intestines and environmental samples. Bangladesh Pharmaceut J 2010; 13(1): 23-7.
5. Board RG, Tranter HS. The microbiology of eggs. Stadelman WJ, Cotterill OJ. eds. In: Pages in Egg Science and Technology. New York: Food Products Press, 1995; pp.81-103.
6. Cader S, Goburdhun D, Neetoo H. Assessment of the microbial safety and quality of eggs from small and large scale hen breeders. J World's Poult Res 2014; 4(4): 75-81.
7. Carrillo S, Rios VH, Calvo C, Carranco ME, Casas M, Perez-Gil F. N-3 fatty acid content in eggs laid by hens fed with marine algae and sardine oil and stored at different times and temperatures. J Appl Phycol 2012; 24: 593-9.
8. Cox NA, Bailey JS, Richardson LJ, Buhr RJ, Hiatt KL, Siragusa GR, Cosby DE, Wilson JL, Bourassa DV, Musgrove MT. Detection of *Campylobacter* and *Salmonella* in the mature and immature ovarian follicles of late-life broiler breeder hens. Poult Sci 2006; 85 (8): 1378-82.
9. De Reu K, Heyndrickx M, Grijspeerdt K, Rodenburg B, Tuytens F, Uyttendaele M, Debevere J, Herman L. Assessment of the vertical and horizontal aerobic bacterial infection of shell eggs. World's Poultry Sci J 2006; 62(supplement): 564.
10. De Reu K, Heyndrickx M, Grijspeerdt K, Rodenburg TB, Tuytens F, Uyttendaele M, Debevere J, Herman L. Estimation of the vertical and horizontal bacterial infection of hen's table eggs. XVIII European symposium on the quality of poultry meat & XII European symposium on the quality of eggs and egg products, September, 2-5, 2007; Prague-Czech Republic.
11. Doğruer Y, Telli N, Telli AE, Kahraman HA, Güner A. Pastörize sıvı yumurta ile kabuklu yumurtanın bazı kalite özellikleri bakımından kıyaslanması. Eurasian J Vet Sci 2015; 31 (3): 177-83.
12. Dontorou A, Papadopoulou C, Filioussis G, Economou V, Apostolou I, Zakkas G, Salamoura A, Kansouzidou A, Levidiotou S. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. Int J Food Microbiol 2003; 82 (3): 273-9.
13. Egg Marketing-A Guide For The Production and Sale of Eggs, Chapter 2: Marketing Quality Eggs. Food and Agriculture Organization (FAO) Agricultural Services Bulletin, Rome, Italy: ISSN 1010:1365, 2003; pp: 29-41.
14. Erkan ME, Vural A, Güran HŞ. Diyarbakır ili'nde satışı sunulan köy ve market yumurtalarının hijyenik kalitesi üzerine bir araştırma. DÜ Vet Fak Derg 2008; 1(1): 11-6.

15. European Food Safety Authority (EFSA). The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. EFSA Journal. Italy, 2009. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2009.223r/epdf>. Erişim Tarihi: 20.02.2017.
16. Fonseca BB, Beletti ME, de Melo RT, Mendonça EP, Coelho LR, Nalevaiko PC, Rossi DA. *Campylobacter jejuni* in commercial eggs. Braz J Microbiol 2014; 45(1):76-9.
17. Gast RK, Holt PS. Deposition of phage type 4 and 13a *Salmonella* Enteritidis strains in the yolk and albumen of eggs laid by experimentally infected hens. Avian Dis 2000; 44 (3): 706-10.
18. İskender H., Kanbay Y. Üniversite öğrencilerinin yumurta tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. YYU Vet Fak Derg 2014; 25(3): 57-62
19. International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for detection of thermotolerant *Campylobacter*. ISO,10272. 1995.
20. International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs-horizontal method for the detection of *Salmonella* spp, ISO, 6579. 2002.
21. International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds-Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0.95, Switzerland. ISO, 21527-2. 2008.
22. Kornacki JL, Johnson J. Enterobacteriaceae, coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. Downes FP, Ito K. eds. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington D.C: American Public Health Association, 2001; pp. 69-82.
23. Mahdavi M, Jalali M, Ghasemian Safaei H, Shamloo E. Microbial quality and prevalence of *Salmonella* and *Listeria* in eggs. Int J Environ Health Eng 2012; 1(6): 16-20.
24. Messens W, Grijspeerdt K, Herman L. Eggshell penetration by *Salmonella*: A review. Worlds Poult Sci J 2005; 61: 71-85.
25. Mızrak C, Durmuş İ, Kamanlı S, Demirtaş ŞE, Kalebaşı S, Karademir E, Doğu M. Determination egg consumption and consumer habits in Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2012; 36(6): 592-60.
26. Normanno G, Firinu A, Virgilio S. Mula G, Dambrosio A, Poggiu A, Decastelli L, Mioni R, Scuota S, Bolzoni G, Di Giannatale E, Salinetti AP, La Salandra G, Bartoli M, Zuccon F, Pirino T, Sias S, Parisi A, Quaglia NC, Celano GV. Coagulase-positive *Staphylococci* and *Staphylococcus aureus* in food products marketed in Italy. Int J Food Microbiol 2005; 98 (1): 73-9.
27. Pyzik E, Marek A. Characterization of bacteria of the genus *Staphylococcus* isolated from the eggs of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Pol J Vet Sci 2012; 15 (4): 767-72.
28. Ricke SC, Birkhold SG, Gast RK. Eggs and egg products. Downes FP, Ito K. eds. In: Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods. Washington: American Public Health Association, 2001; pp. 473-9.
29. Safaei HG, Jalali M, Hosseini A, Narimani T, Sharifzadeh A, Raheimi E. The prevalence of bacterial contamination of table eggs from retail markets by *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli* in Shahrekord, Iran. Jundishapur J Microbiol 2011; 4(4): 249-53.
30. Salem RM, El-Kaseh RM, El-Diasty EMA. study on the fungal contamination and prevalence of Aflatoxins and some antibiotic residues in table eggs. Arab J Biotech 2009; 12(1): 65-72.
31. Singh S, Yadav AS, Singh SM, Bharti P. Prevalence of *Salmonella* in chicken eggs collected from poultry farms and marketing channels and their antimicrobial resistance. Food Res Int 2010; 43(8): 2027-30.
32. Svobodova, J. Tumova E. Factors affecting microbial contamination of market eggs: A review. Sci Agric Bohemica 2014; 45 (4): 226-37.
33. Stepien-Pysniak D, Marek A, Rzedzicki J. Occurrence of bacteria of the genus *Staphylococcus* in table eggs descended from different sources. Pol J Vet Sci 2009; 12 (4):481-4.
34. Türk Gıda Kodeksi (TGK), Gıda Hijyeni Yönetmeliği, 2011a, Resmi Gazete Tarihi: 17.11.2011 Resmi Gazete Sayısı: 28145.
35. Türk Gıda Kodeksi (TGK), Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği, 2011b, Resmi Gazete Tarihi: 27.12.2011 Resmi Gazete Sayısı: 28155
36. Türk Gıda Kodeksi (TGK), Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 2011c, Resmi Gazete Tarihi: 29.12.2011 Resmi Gazete Sayısı: 28157-3

37. Türk Gıda Kodeksi, Yumurta Tebliği, 2014, Resmi Gazete Tarihi: 20.12.2014 Resmi Gazete Sayısı: 29211
38. Thorns CJ. Bacterial food-borne zoonoses. Rev Sci Tech 2000; 19(1): 226-39.

**Sorumlu yazar:**

Yrd. Doç. Dr. Fulden Karadal  
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi,  
Bor Meslek Yüksekokulu, 51700, Bor/Niğde  
Tel: 0388 3114527/114  
E-posta: fkaradal@ohu.edu.tr





## Türkiye Arıcılık Sektöründe Mevcut Durum, Sorunlar ve Çözüm Önerileri

Mustafa Bahadır ÇEVİRİMLİ, Engin SAKARYA

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı,  
Ankara-TÜRKİYE.

**Özet:** Arıcılık Türkiye ve Dünya'da her geçen gün gelişen, ekonomik getirisi ve ürün çeşitliliği artan bir sektördür. Türkiye'de kovan sayısı ve bal üretimi her geçen yıl artmakta ancak verimlilikte gerileme yaşanmaktadır. Başta verim düşüklüğü olmak üzere Türkiye arıcılık sektörünün birçok teknik ve ekonomik sorunu bulunmaktadır. Bu çalışma ile sektörün mevcut durumu, teknik ve ekonomik sorunları tespit edilerek, sektörün öncelikli sorunlarına çözüm önerileri getirilmesi amaçlanmıştır. Türkiye arıcılık sektörü destekleme politikalarında, üretimin planlanması, verimliliğin artırılması, dış ticarete rekabet gücünün sağlanması hedeflenmelidir. Arıcılık işletmelerinde gelir artışı için; işletmelere güncel teknik bilgi ve kaliteli ucuz girdinin sağlanması, ürün çeşitliliğinin artırılması ve kooperatif yapıların pazarlama faaliyetlerinin etkinleştirilmesi gelir artırıcı tedbirler olarak görülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Arıcılık sektörü, bal, desteklemeler, hayvancılık ekonomisi, pazarlama

### Current Situation, Problems and Solutions for Beekeeping Sector in Turkey

**Summary:** The beekeeping becomes a sector, which is developing and of which the economic return and product diversity are increasing with each passing day in the world and Turkey. The beehive number and honey production has increasing every passing year but a decrease has been experienced in productivity. There are many technical and economic problems in beekeeping sector in Turkey, especially the low productivity. It is aimed by detecting the current situation and problems in beekeeping sector in Turkey via this study at offering solutions for the primary problems. The support policies in the beekeeping sector in Turkey should have the quality to increase the competitive capacity in foreign trade and also the productivity in production. In order to increase the incomes of the beekeeping enterprises, its essential to provide the actual technical and financial support, product diversity to the enterprises and to activate the cooperatives for marketing.

**Key words:** Beekeeping sector, honey, marketing, support measures, livestock economics

### Giriş

Arıcılık; flora ve iklim koşullarına bağlı olarak yapılan hayvansal üretim faaliyetidir. Bal arılarının yaşamlarını sürdürebilmesi ve başta bal olmak üzere çeşitli ürünler üretebilmeleri bitkilere ve arıların sağlıklı olmalarına bağlıdır. Arıcılık; bal arısı kolonilerinin kendi ihtiyaçlarından fazla olan bal, polen, propolis gibi ürünleri kovanlarında stoklamalarını sağlamaya, böylelikle bal başta olmak üzere diğer arıcılık ürünlerini elde etmeye yönelik yapılan faaliyetler bütünüdür (8). Arıcılık insan gıdası olarak bal ve diğer ürünlerin üretiminin yanı sıra bitkilerin tozlaşmasında da etkin rol oynayarak bitkisel üretime katkıda bulunmakta olup, bu ve benzer yönleriyle insanlığa hizmet eden önemli bir hayvansal üretim koludur. Arıcılık faaliyetinin, diğer hayvancılık faaliyetlerine göre daha az sermaye ve işgücü ge-

rektirmesi, arazi varlığı olmadan da gerçekleştirilebilmesi gibi önemli avantajları bulunmaktadır (4).

Türkiye kovan sayısı ve toplam bal üretimi açısından Çin'den sonra dünyada ikinci sırada yer almaktadır. Ancak Türkiye bal verimliliği ve üretilen balın ihraç edilerek ülke ekonomisine katma değer sağlanması konularında aynı seviyelerde yer alamamaktadır. Bu durum ülkemizin büyük bir potansiyel barındıran arıcılık sektöründen yeterince faydalanamadığını göstermektedir (7,17).

### Türkiye ve Dünya'da Arıcılık Sektörü

Arıcılık sektörü günümüzde hızla büyüyen, ekonomik getirisi yüksek ve ürün çeşitliliği fazla olan bir ticari faaliyet alanı haline gelmiştir. Bununla birlikte, Türkiye'de arıcılık sektörünün birçok teknik ve ekonomik sorunu bulunmaktadır. Bu sorunları genel olarak bal verimi düşüklüğü, arı hastalıkları ve zararlıları, ihracat kapasitesini istenilen seviyelere çıkaramama, arıcılık işlet-

meleri açısından ürün pazarlamada yaşanan zorluklar ve örgütlenmedeki bazı yetersizlikler, destekleme politikaları, gezginci arıcılıkta yaşanan sorunlar şeklinde sıralamak mümkündür. Sektörün mevcut sorunlarına ilaveten, dünyada arıcılığın küreselleşmesi ve artan uluslararası rekabet arıcılık üzerindeki baskısını her geçen gün artırmaktadır (7,24).

#### **Dünya'da Arıcılık Sektöründe Üretim ve Verimlilik**

Dünya'da kırsal alanda gerçekleştirilen, arıcılık faaliyetleri ve arıcılık sektörüne olan ilgi her geçen yıl artmaktadır. Dünya toplam bal üretimi, mevcut kovan sayısı ve bal verimine ilişkin 2003-2013 yıllarına ait rakamlar ve yıllara göre değişimi Tablo 1'de sunulmuştur (5).

Dünya'da 2013 yılı itibarıyla en çok bal üreten ilk beş ülke sırasıyla Çin, Türkiye, Arjantin, Ukrayna ve Rusya'dır. Bu ülkelere ilişkin bal üretim miktarı, kovan sayısı ve bal verimine ilişkin bilgiler Tablo 2'de sunulmuştur (5)

Tablo 2 incelendiğinde, 2013 yılı FAOSTAT verileri itibarıyla Çin'in 8 900 000 adet kovan ile dünya kovan varlığının %11'ine, 450 300 ton bal üretimi ile dünya bal üretiminin %27.1'ine sahip olduğu görülmektedir. Tablodan Çin'in bal üretim miktarı bakımından diğer ülkelere göre açık ara önde olduğu anlaşılmaktadır. Türkiye ise 6 641 348 kovanla dünya kovan varlığının % 8.2'sine sahip olup, 94 694 ton bal üretimi ile dünya toplam bal üretiminin %5.7'sini gerçekleştirerek en çok bal üreten ikinci ülke konumun-

**Tablo 1.** Dünya toplam bal üretim miktarı, kovan sayısı ve bal verimi

Yıllar	Bal Üretim Miktarı (ton)	Endeks	Kovan Sayısı	Endeks	Bal Verimi (kg)	Endeks
2003	1 321 826	100	71 631 600	100	18.5	100
2004	1 362 633	103	73 038 610	102	18.7	101
2005	1 419 072	107	73 388 559	102	19.3	105
2006	1 515 737	115	75 176 920	105	20.2	109
2007	1 477 709	112	74 902 668	105	19.7	107
2008	1 545 045	117	76 066 452	106	20.3	110
2009	1 533 806	116	76 767 599	107	20.0	108
2010	1 555 980	118	76 907 329	107	20.2	110
2011	1 636 399	124	78 202 046	109	20.9	113
2012	1 616 819	122	80 446 912	112	20.1	109
2013	1 663 798	126	80 986 086	113	20.5	111

Tablo 1'den 2003-2013 yılları arasında dünya bal üretiminde %26 oranında artış yaşandığı ve toplam bal üretiminin 1 663 798 tona ulaştığı görülmektedir. 2003 yılında 18.5 kg olan bal verimi 2013 itibarıyla %11 oranında artışla 20.5 kg düzeyine yükselmiştir. Aynı dönemde dünyadaki arılı kovan varlığı %13 oranında artarak 80 986 086 adet olmuştur.

Türkiye'yi sırasıyla 80 000 ton ile Arjantin, 73 713 ton ile Ukrayna ve 68 446 ton bal üretimi ile Rusya izlemektedir. Bal verimlilikleri incelendiğinde, kovan başına 50.6 kg ile en yüksek bal verimine sahip ülke Çin'dir. Türkiye hariç bal üretiminde ilk beşte yer alan ülkelerin hepsinin verimlilik rakamları, 2013 yılı Dünya ortalama bal verimi olan 20.5 kg düzeyinden yüksektir (5).

**Tablo 2.** 2013 Yılı en çok bal üreten ilk beş ülkenin toplam bal üretim miktarı, kovan sayısı ve bal verimi

Ülkeler	Bal Üretim Miktarı (ton)	Dünya Bal Üretimindeki Payı (%)	Kovan Sayısı	Dünya Kovan Sayısı Pay (%)	Bal Verimi (kg)
Çin	450 300	27.1	8 900 000	11.0	50.6
Türkiye	94 694	5.7	6 641 348	8.2	14.3
Arjantin	80 000	4.8	2 970 000	3.7	26.9
Ukrayna	73 713	4.4	2 936 000	3.6	25.1
Rusya	68 446	4.1	3 284 176	4.1	20.8

### Türkiye’de Arıcılık Sektöründe Mevcut Durum ve Sorunlar

Türkiye’nin doğal koşulları, coğrafi konumu, uygun iklim şartları ve zengin bitki örtüsü arıcılık faaliyetlerine elverişlidir. Anadolu’nun kendine özgü topografik yapısı, çiçeklenmenin farklı bölgelerde yılın hemen her mevsiminde gerçekleşmesi, arıcılık faaliyetlerinin Türkiye’nin bütün bölgelerinde yapılmasına ve sektörün gelişmesine olanak sağlamaktadır. Flora anlamında Türkiye’nin, sahip olduğu 12 000 tür bitkinin yaklaşık 3 000 kadarı endemiktir (1,3,16).

Türkiye’de 2004-2014 yıllarına ilişkin bal üretim miktarı, kovan sayısı ve bal verimliliğine ait bilgiler aşağıda Tablo 3’te sunulmuştur (21).

Türkiye toplam arılı kovan varlığı 2014 yılı itibarıyla 7 082 732 adet olup, 2004-2014 döneminde arılı kovan varlığında %61 oranında artış gerçekleşmiş, aynı dönemde toplam bal üretim miktarının %40 aratarak 103 525 tona ulaştığı tablodan anlaşılmaktadır. Ancak kovan sayısı ve bal üretim miktarlarındaki artışa rağmen, bal verimliliğinin düştüğü gözlemlenmektedir. Nitekim 2004 yılında bal verim miktarı 16.8 kg düzeyindeyken 2014 yılına kadar olan süreçte %13 oranında azalarak 14.6 kg’a gerilemiştir. Toplam bal üretimindeki artışın verimlilikteki artıştan kaynaklanmadığı, kovan sayısındaki artıştan ileri geldiği anlaşılmaktadır (21).

Türkiye toplam bal üretimi, kovan sayıları ve bal

**Tablo 3.** Türkiye toplam bal üretim miktarı, kovan sayısı ve bal verimi

Yıllar	Bal Üretim Miktarı (ton)	Endeks	Kovan Sayısı (adet)	Endeks	Bal Verimi (kg)	Endeks
2004	73 929	100	4 399 725	100	16.8	100
2005	82 336	111	4 590 013	104	17.9	107
2006	83 842	113	4 851 683	110	17.3	103
2007	73 935	100	4 825 596	110	15.3	91
2008	81 364	110	4 888 961	111	16.6	99
2009	82 003	111	5 339 224	121	15.4	91
2010	81 115	110	5 602 669	127	14.5	86
2011	94 245	127	6 011 332	137	15.7	93
2012	89 162	121	6 348 009	144	14.0	84
2013	94 694	128	6 641 348	151	14.3	85
2014	103 525	140	7 082 732	161	14.6	87

**Tablo 4.** 2014 Yılı Türkiye İBBS-1 itibarıyla bal üretimi, kovan sayıları ve verimlilikler

Bölgeler	Bal Üretim Miktarı (ton)	Türkiye Bal Üretimindeki Payı (%)	Kovan Sayısı (adet)	Türkiye Kovan Sayısı Pay (%)	Bal Verimi (kg)
Ege	24 928	24.1	1 510 346	21.3	16.5
Doğu Karadeniz	19 794	19.1	976 479	13.8	20.3
Akdeniz	18 668	18.0	1 219 602	17.2	15.3
Ortadoğu Anadolu	8 424	8.1	706 646	10.0	11.9
Güneydoğu Anadolu	6 560	6.3	535 336	7.6	12.3
Batı Marmara	5 768	5.6	362 496	5.1	15.9
Orta Anadolu	4 850	4.7	351 557	5.0	13.8
Kuzeydoğu Anadolu	4 506	4.4	398 765	5.6	11.3
Batı Karadeniz	4 103	4.0	418 203	5.9	9.8
Doğu Marmara	3 271	3.2	332 080	4.7	9.9
Batı Anadolu	1 927	1.9	203 414	2.9	9.5
İstanbul	722	0.7	67 808	1.0	10.7



verimi hakkında İstatistiki Bölge Birimleri Sınıflandırması 1. Düzey (İBBS-1) itibarıyla, arıcılık faaliyetlerine ilişkin bilgiler Tablo 4'te sunulmuştur (21).

Ege bölgesi 24 928 ton ile Türkiye'de en çok bal üreten bölgedir. Bunu sırasıyla 19 794 ton ile Doğu Karadeniz ve 18 668 tonla Akdeniz bölgesi takip etmektedir. Arılı kovan sayıları incelendiğinde 1 510 346 adet kovan varlığı ile Ege bölgesi Türkiye'de en çok arılı kovana sahip bölge olup, bunu sırasıyla 1219602 arılı kovan ile Akdeniz bölgesi ve 976 479 arılı kovan ile Doğu Karadeniz bölgesi izlemektedir. Bal verimliliğinde 20.3 kg ile Doğu Karadeniz bölgesi ilk sırada olup, bunu 16.5 kg ile Ege bölgesi ve 15.9 kg ile Batı Marmara bölgesi izlemektedir. Verimlilikte ilk üç sırada yer alan bu bölgelerin hepsinin ortalama bal verimi 14.6 kg olan Türkiye ortalamasından yüksek olmasına karşın, Dünya ortalama bal verimi olan 20.8 kg düzeyinin altındadır.

Kaynak bilgilerine göre bal verimini etkileyen başlıca faktörler; arı hastalık ve zararlıları, kolonide ana arı değişim yılı ya da yaşı, mevcut bitki örtüsünün durumu ve iklim, arıcılık faaliyetinin tek geçim-yan gelir kaynağı olup olmaması veya hobi amaçlı yapılması, gezgin arıcılık yapılması şeklinde sıralanabilir. Türkiye'de arıcılığın gelişmesini engelleyen ve bal verimini düşüren en önemli etkenlerin başında arı hastalık ve zararlıları gelmektedir. Hastalıklarla mücadelede rastgele ve hatalı yapılan uygulamalar hem ekonomik kayıplara hem de hastalığın sağlam kolonilere yayılmasına neden olmaktadır (22,23).

Bal verimini etkileyen önemli faktörlerden bir diğeri ana arı yaşıdır. Kârlı ve verimli arıcılığın temelinde ana arının genç olması yatmaktadır.

Kaynaklarda ana arının en yüksek verimde olduğu çağın iki yaş olduğu belirtilmektedir. Bu yaştan sonra ana arının yumurta veriminde azalma olduğu bilinmektedir. Türkiye'de yapılan sınırlı ve bölgesel çalışmalara göre ana arı yaşının ortalama 3 olduğu tespit edilmiş, bu durumun Türkiye'de üretilen ana arı sayısının yetersizliğinden kaynaklandığı bildirilmektedir (23).

#### **Türkiye Arıcılık Sektöründe Örgütlenme, Destekleme Politikalarında Mevcut Durum ve Sorunlar**

Ülkemizdeki kovan varlığının doğru tespit edilmesi, arı ve arı ürünleri üretimi konularındaki istatistiki bilgilerin toplanarak veri tabanı oluşturulması, hastalıklarla mücadelede etkinliğin sağlanması, gezginci arıcılığın disiplin altına alınması ve üretimin artırılmasına yönelik tüm arıcılık işletmelerinin ve arılı kovanların kaydedilmesi amacıyla Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (GTHB) ve Türkiye Arı Yetiştiricileri Merkez Birliği (TAB)'nin 2008 yılına yaptıkları protokol çerçevesinde Arıcılık Kayıt Sistemi (AKS) yürürlüğe girmiştir. Arıcılık destekleme ödemeleri 2009 yılından bu yana AKS üzerinden yapılmaktadır (10).

Ülkemizdeki arıcılık işletmeleri TAB ve Bal Üreticileri Birliği çatıları altında örgütlenmektedir. Ayrıca arıcılık işletmelerinin birlik çatısı altında toplanmasını teşvik etmek amacıyla Türkiye Arıcılar Birliği veya Bal Üreticileri Birliği'nden herhangi birisine üye olan üreticilere, birliklere üye olmayan üreticilere kıyasla TL bazında daha fazla destek verilmiştir (10,18).

Hayvancılık sektöründe günümüze kadar uygulanan destekleme politikalarından, arıcılık sektörü yeteri kadar faydalanamamıştır. Diğer taraftan bu üretim alanındaki örgütlenme düzeyinin yetersiz oluşu günümüzde önemli bir sorun ola-

**Tablo 5.** Yıllar itibarıyla Türkiye arıcılık sektörüne yapılan desteklemeler

Yıllar	Destek Alan Arıcılık İşletme Tipi	Ana Arı Desteği (TL/ adet)	Süzme Bal Desteği (TL/ kg)
2003	Birlik Üyesi	6	-
	Üye Olmayanlar	4	-
2004	Birlik Üyesi	10	-
	Üye Olmayanlar	5	-
2005	Birlik Üyesi	15	0.4
	Üye Olmayanlar	7.5	0.3
2006	Birlik Üyesi	15	0.6
	Üye Olmayanlar	7.5	0.3
2007	Birlik Üyesi	15	0.6
	Üye Olmayanlar	7.5	0.3

rak karşımızda durmaktadır. Arıcılık sektörüne yönelik desteklemeler 2003 yılından itibaren başlamış, bu kapsamda ana arı, bombus arısı üretimi ve kullanımı, bal üretim desteği ve arılı kovan, ihracat desteklemeleri gibi birçok destek verilmeye başlanmıştır. Arılı kovan, bombus arısı ve ihracat destekleri günümüzde halen uygulanan destekler arasında yer almaktadır (10,18).

Türkiye arıcılık sektörüne 2003 yılından itibaren verilen desteklemeler ve destek miktarları Tablo 5'te sunulmuştur (19).

Arıcılık sektörüne verilen desteklerin 2003 ve 2004 yılları için sadece ana arı desteği şeklinde gerçekleştiği görülmektedir. Arıcılık işletmelerinin örgütlenmesini teşvik etmek amacıyla birliklere üye olan işletmelere olmayanlara göre TL bazında daha yüksek destekleme yapıldığı Tablo 5'ten anlaşılmaktadır. 2005 yılından itibaren

ana arı desteği devam etmiş, ayrıca üretilen süzme bala da destekleme getirilmiştir. Ayrıca 2005 yılında örtü altı yetiştiricilikte doğal yollarla bitkisel tozlaşmayı sağlamak, bu amaçla kullanılan tarımsal ilaçlamayı azaltmak ve bombus arısı üretimini artırmak için bombus arısı işletmeleri de destekleme kapsamına alınmıştır. Ana arı ve üretilen süzme bala verilen desteklemeler 2008 yılına gelindiğinde kaldırılmış ve sadece arılı kovan desteği getirilmiş, bombus arısı üretimi için destekleme ödemesine ise devam edilmiştir. 2014 yılı itibarıyla arıcılık işletmelerine arılı kovanlarının her birisi için nektar akım döneminde en az yedi adet çerçeve arı bulunmak şartıyla kovan başına 10 TL destek ödemesi yapılmıştır. Diğer taraftan bal ihracatında desteklemeler, 120 TL/ton ihracat iadesi olarak devam etmiştir (20).

**Tablo 6.** Desteklenen faydalanan işletme ve kovan sayıları ile destekleme miktarları

Yıllar	Bal Arısı Desteklemeleri				Bombus Arısı Desteklemeleri			
	İşletme Sayısı	Ana Arı (adet)	Süzme Bal (ton)	Arılı Kovan (adet)	Destekleme Miktarı (TL)	İşletme Sayısı	Koloni Sayısı (adet)	Destekleme Miktarı (TL)
2004	1 200	163 867	-	-	1 168 000	-	-	-
2005	6 183	222 391	17 975	-	5 839 000	1 062	4 150	83 000
2006	11 512	354 473	40 125	-	15 999 000	8 354	25 720	1 286 000
2007	9 475	362 916	25 007	-	21 655 000	9 220	34 220	1 711 000
2008*					22 367 000	-	-	-
2008	17 495	-	-	2 426 681	10 920 000	3 050	14 222	640 000
2009	26 663	-	-	3 656 052	21 936 000	5 334	35 547	1 777 000
2010	31 561	-	-	4 271 199	25 627 194	6 564	51 550	2 577 500
2011	35 533	-	-	4 927 781	34 494 467	8 040	70 267	4 216 020
2012	37 757	-	-	5 032 592	40 260 736	8 841	84 689	5 081 340
2013	41 305	-	-	5 459 483	43 675 864	10 335	102 711	6 162 660
2014	44 576	-	-	6 061 120	60 611 200	10 737	112 808	6 768 480

2008\* geriye dönük yapılmış ödemeler

Türkiye'de arıcılık sektörüne ilişkin desteklemlerden faydalanan arıcılık işletme sayıları, kovan sayıları ve destekleme tutarlarına ilişkin bilgiler Tablo 6'da sunulmuştur (19).

Tablo incelendiğinde, desteklemlerden faydalanan arıcılık işletme sayısı ve destekleme tutarlarının her geçen yıl artış gösterdiği anlaşılmaktadır. Verilmeye başlandığı 2008 yılında arılı kovan desteklemelerinden faydalanan işletme sayısı 17 495, desteklenen arılı kovan sayısı 2 426 681'dir. Arılı kovan desteklemelerinden faydalanan işletme sayısında 2014 yılı itibarıyla % 154 oranında artış gerçekleşmiş ve sayı 44 579'a, desteklenen arılı kovan sayısı yaklaşık % 150 oranında artarak 6 061 120'ye ulaşmıştır. Bu desteklemlerde işletmelere getirilen 30 ve üzeri sayıda arılı kovana sahip olma şartı, sektörde üretim faaliyetine katılan işletmelerin % 14.5'ini desteklemlerden mahrum bırakmıştır.

Türkiye arıcılık sektörünün 2003 yılından itibaren desteklemeler kapsamına alınması ve 2009'da arıcılık kayıt sisteminin aktifleşmesi ile arıcılık sektöründe izlenebilirlik ve kayıt dışılığın önlenmesi günümüzde daha mümkün hale gelmiştir. Ancak gelişmiş ülkelerin sektöre dönük destekleme politikaları incelendiğinde, ülkemizde uygulanan destekleme politikalarının yeniden

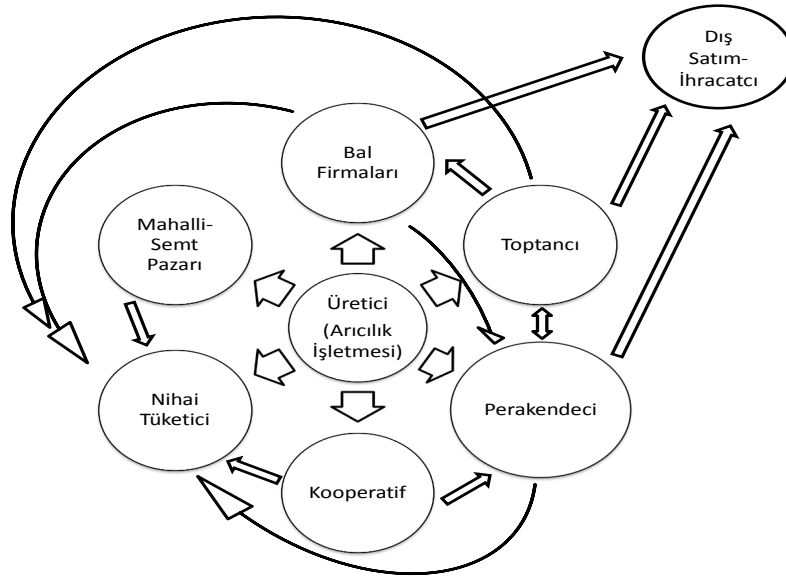
gözden geçirilmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır.

### **Türkiye'de Bal Pazarlama Yapısı ve Pazarlamada Yaşanan Sorunlar**

Türkiye'de bal pazarlama alt yapısının geleneksellik arz ettiği söylenebilir. Genelde pazarlama sisteminde basamaklar üretici, toptancı ve perakendeci şeklinde üç temel grupta toplanmaktadır (14). Türkiye'de bal pazarlama yapısı ve kanalları Şekil 1'de verilmiştir.

Türkiye'de üretilen balların önemli bir kısmı toptancılar tarafından işleyici firmalara ulaştırılmakta, ballar bu tesislerde işlenip, ambalajlandıktan sonra büyük tüketim merkezlerindeki nihai tüketiciye ulaştırılmaktadır. Geriye kalan miktarı ise üretim bölgelerindeki yerel pazarlarda bizzat üreticiler tarafından toptan veya perakende olarak pazarlanmaktadır. Bu pazarlama kanallarına ek olarak arıcılık işletmeleri ürünlerini işleyici firmalara verebilmekte ve/veya kooperatifler aracılığı ile ürünlerine pazar bulabilmektedir. Arıcılık işletmeleri kooperatifler aracılığıyla pazarlamayı kâr marjı düşüklüğünden dolayı en son alternatif olarak düşünmektedir (15).

Başta bal olmak üzere diğer arıcılık ürünlerinin pazarlanmasında Türkiye'deki geleneksel pazarlama yapısı, pazarlamada etkinliği azaltmakta ve üreticiyi elde ettiği gelir anlamında tatmin



**Şekil 1.** Türkiye'de bal pazarlama alt yapısı ve kanalları

etmemektedir. Muğla ve İzmir'de faaliyet gösteren arıcılık işletmelerine yönelik gerçekleştirilen bir çalışmada, üreticiler ürünlerini toptancılar aracılığı ile pazarladıklarında satış tutarının %42'sinin üreticiye aktarıldığı bildirilmektedir. Üreticilerin ürünlerini kooperatife, dış satımcı veya fabrikaya pazarladıklarında satış tutarının sırasıyla %40, %48 ve %50'sinin kendilerine ulaştığı ifade edilmektedir. Üreticiler ürünlerini doğrudan doğruya tüketiciye ulaştırdıklarında ise bir kg bal tutarının %88'inin kendilerine geri döndüğü bildirilmektedir (15). Arıcılık sektöründeki pazarlama yapısında kooperatif yapıların etkin olduğunu söylemek genel anlamda mümkün değildir. Arıcılık işletmelerinin pazarlama ile ilgili sorunlarının başında; ürünlerin istenilen zamanda ve istenilen fiyattan satılamaması, balda kalite-fiyat ilişkisinin olmaması ve tüketicilerin kaliteli bal konusunda bilgi düzeyinin düşük olması gelmektedir (17).

#### **Dünya ve Türkiye Bal Dış Ticaretinde Mevcut Durum ve Sorunlar**

Dünya'da dış ticarete söz konusu olan bal miktarı her geçen yıl artmakta ve dünya toplam bal üretimi içerisinde ihrac edilen balın ticaret hacminde artış gözlemlenmektedir. Buna ilişkin olarak Dünya'da uluslararası ticarete konu olan toplam bal miktarı, dünya bal ihracatının dünya toplam bal üretimindeki payı, ticaret hacmi ve oransal değişimlerine ilişkin veriler aşağıda Tablo 7'de sunulmuştur (6).

Tablo incelendiğinde 2002-2012 yılları arasında Dünya'da ticarete konu olan bal miktarı %28 oranında artarak 405 581 tondan 518 751 tona yükselmiştir ancak satılan balın yüzdesinde

önemli bir değişim yaşanmamıştır. Bunun nedeni Dünya'da toplam bal üretiminin yıllar içinde artmasıdır. Aynı dönemde dünya bal ihracat hacmi %149'luk bir artış ile 697 695 000 US\$'dan 1 737 321 US\$ düzeyine ulaşmıştır.

Dünya'da 2012 yılı verileri itibarıyla en çok bal ihraç eden üç ülke 110 158 ton ile Çin, 75 135 ton ile Arjantin ve 32 040 ton ile Meksika'dır. Türkiye'nin 2012 yılı bal ihracatı 1 263 ton olup, Dünya bal ihracatı sıralamasında 40. sırada yer almaktadır. İhraç edilen bal miktarları bakımından Dünya ihracatının %21.24'ünü Çin tek başına, Arjantin %14.48'ini, Meksika %6.18'ini gerçekleştirirken, Türkiye'nin Dünya bal ihracatındaki payı %0.24'tür. Çin, Arjantin ve Meksika bal ihracatında yıllar içinde kendi aralarında yer değiştirmiş olsalar da, son 15 yıllık süreçte dünya ortalama bal ihraç fiyatlarının altında bir fiyat düzeyinden ihracat gerçekleştirebildikleri için ilk üç sırada bu ülkelerden başka bir ülke yer almamıştır (6).

Türkiye bal dış ticaret hacminin yıllar içerisinde çok dalgalı bir seyir izlediği söylenilebilir. Örneğin Türkiye 2000 yılında toplam 3 515 ton bal ihracatı gerçekleştirirken, 2002 yılında Çin'de çıkan Sars hastalığı sebebiyle bu rakam 16349 tona ulaşmıştır. Buna karşın, Türkiye'nin bal ihracatı 2006-2010 yılları arasında 1 000 tonun altına gerilemiştir. Örneğin, 2013 yılı itibarıyla bal ihracatı 3 564 ton, 2014 yılında 4 969 ton olarak gerçekleşmiş olup, ihraç edilen balların %60'tan fazlası Almanya ve Amerika Birleşik Devletleri'ne, geriye kalan kısmı ise Ürdün, Mısır, Irak, Suudi Arabistan, Avusturya, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti, Belçika ve İspanya

**Tablo 7.** Dünya toplam bal ihracatı ile ihracat değerleri

Yıllar	İhracat Miktarı (ton)	Endeks	Toplam Üretimdeki Payı (%)	İhracat Değeri (1000\$)	Endeks
2002	405 581	100	31.4	697 695	100
2003	403 394	99	30.5	952 515	137
2004	384 456	95	28.2	864 591	124
2005	423 901	105	29.9	716 708	103
2006	424 704	105	28.0	812 402	116
2007	410 081	101	27.8	906 001	130
2008	453 581	112	29.4	1 297 835	186
2009	426 144	105	27.8	1 271 228	182
2010	482 149	119	31.0	1 477 726	212
2011	476 582	118	29.1	1 620 055	232
2012	518 751	128	32.1	1 737 321	249

ya'ya ihraç edilmiştir (6,10,11).

Türkiye bal ihracatında yaşanan dalgalanmanın başlıca nedenlerini, büyük ihracatçı ülkelerde yaşanan bazı konjonktürel gelişmeler, yurt içinde bala karşı artan iç talep değişiklikleri, balda kalıntı ve kalite sorunları şeklinde sıralamak mümkündür. Diğer taraftan sektörde verim düşüklüğünün neden olduğu, maliyet artışları Türkiye'nin ihracatta rekabet gücünü azaltmaktadır.

### **Türkiye'de Arıcılık Sektörünün Gelişimine Dönük Çözüm Önerileri**

Arıcılık sektörünün karlılık ve verimliliğini artırmaya yönelik olarak, arı kolonilerinde en çok görülen paraziter hastalıklarla ilgili belirti ve özellikleri bilmelerinin yanı sıra bunlarla mücadele yöntemleri hakkında da bilgi sahibi olmaları gerekmektedir. Hastalıklara karşı ekonomik kaybı en aza indirmek için; hastalıklarla mücadelenin zamanında, uygun ilaçla ve uygun dozda yapılmasına özen gösterilmesi gerekmektedir. Bu sebeple, arı hastalık ve zararlıları ile mücadelede başarı sağlanması noktasında arıcıların ihtiyaç duydukları teknik bilgi ve desteğe kolay ulaşabilmeleri temel şarttır. Arıcıların gerekli teknik bilgi ve desteğe ulaşabilmesi hususunda bölgesel ve ulusal stratejiler belirlenmelidir. Belirlenecek olan doğru stratejiler, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İl-İlçe teşkilatları, Türkiye Arı Yetiştiricileri Merkez Birliği ve Üniversite işbirliği çerçevesinde hayata geçirilerek bulaşıcı hastalıklarla mücadele konusunda kararlı politikalar izlenmesi gerekmektedir.

Verimliliği artıracak faktörlerden bir diğeri ana arının sağlıklı ve yaşının genç olması ile bulunduğu bölgeye uyum göstermesidir. Sektördeki sağlıklı ana arı ihtiyacının karşılanabilmesi için bölgesel koşullara uygun damızlık materyalin belirlenmesi, üretilmesi ve arıcılık işletmelerine kolayca ulaşması sağlanmalıdır. Türkiye'de arı gen kaynaklarının korunması, damızlık ana arı sorununun çözülmesi hususunda kalıcı ve sürdürülebilir politikalar belirlenmediği takdirde, üretici düzeyinde önemli verim kayıpları yaşanmaya devam edeceğinden, ülke arıcılığında verimliliğin istenen noktalara gelmesi mümkün olmayacaktır (9).

Arıcılık işletmelerinin pazarlama sorunlarının çözümünde öncelikle kooperatiflerin daha etkin bir rol oynaması sağlanmalıdır. Kooperatiflerin markalaşma yoluna giderek işletmelerin ürünlerine alternatif pazarlar oluşturması gerekmektedir. Alternatif pazar oluşturulmasında arıcılık işletmelerinde üretilen balın direkt olarak pazar-

lanabilmesi için gerekli tedbirlerin alınması, sektörün gelişimine önemli katkılar sağlayacaktır. Aracı marjlarının çok değişkenlik gösterdiği bu üretim dalında piyasa istikrarı, pazarlama alt yapısının geliştirilmesi ve üretici örgütlenmesinin eksiksiz olarak başarılması önem kazanmaktadır. Tüketici açısından talebin artırılmasına yönelik kamu spotu, reklam vb. toplu iletişim araçları kullanılarak tüketicinin bilgilendirilmesi ve tüketicinin bala olan güvenin sağlanması önemlidir (12,13).

Türkiye arıcılık sektörü destekleme politikalarının, toplam bal üretimi ile birlikte kovan başına verimliliği artırıcı nitelikte olması önem kazanmaktadır. Örneğin 2003 yılında Türkiye ortalama bal verimi 16.21 kg iken, ana arı ve süzme bal desteklemeleri ile bu rakam 17.28 kg'a ulaşmıştır. 2007 yılından üretim miktarından bağımsız destekleme sistemine geçildiğinden günümüzde bal veriminin 14.6 kg kadar gerilediği tespit edilmiştir. Dikkat çeken bir başka husus ise Türkiye'de 2003-2007 yılları arasında kovan sayısındaki artış 591 963 iken, kovan başı desteklemeler neticesinde 2007-2014 yılları arasında kovan sayısındaki artış 2 257 136'e ulaşmış olmasıdır. Görüldüğü üzere devlet, destekleme politikaları ile sektöre yön verebilme ve üretimin planlanması yetisine sahiptir. Arıcılık sektörüne verilecek desteklemeler kovan sayısını artırmaktan ziyade kovan başına verimi artıracak nitelikte olmalıdır. Arıcılıkta verimi artırıcı destekleme modeli olarak işletmelere sağlıklı ve bölgeye uygun ana arı temini, salgın hastalıklarla mücadelede tedavi desteği gibi modeller hayata geçirilebilir. Arıcılıkta bal verimi artışı sağlandığı takdirde bu durum üretim maliyetlerinin düşürülmesine katkı sağlayacak ve arıcılık işletmelerinin karlılığı artıracaktır (2,21).

Türkiye toplam kovan varlığının yaklaşık %15'ini oluşturan kovan sayısı 30 ve altında olan arıcılık işletmelerinin de devlet desteklemelerinden faydalanabilmesi, bu işletmelerin 30 ve üzeri kovan sayısına ulaşmaları sağlanarak, gerçek anlamda kayıt altına alınmalarına yönelik destekleme politikalarının benimsenmesi toplam bal üretiminin artırılması bakımından önem arz etmektedir. Türkiye'de gezginci arıcılık faaliyeti yaygın olarak yapılmaktadır. Gezginci arıcılık sayesinde değişik zamanlarda değişik bitkilerden yararlanarak daha çok ürün almak mümkün olmaktadır. Türkiye bulunduğu coğrafya ve sahip olduğu iklim yapısı nedeniyle kovan varlığının %75'ine sahip olan arıcılık işletmeleri değişik yörelerdeki

mevsimsel flora değişimine bağlı olarak gezgin-ci arıcılık yapmaktadır (10). Çok sayıdaki kovanın Türkiye'nin bir ucundan öteki ucuna gerçekleştirdiği bu hareketlilik, arı hastalıklarının yayılmasına sebep olmakta ve hastalıklarla mücadelede dezavantaj oluşturmaktadır. Arıcılığın yoğun olarak yapıldığı bölgelerde bitki örtüsünün durumuna göre, kovan nakli yapılacak yerlere düzenleme getirilmesi, kovan konulacak noktaların önceden tespit edilmesi ve kovan hareketlerinde hastalıkların yayılımı dikkate alınarak, kovan hareketlerine bölgesel veya iller düzeyinde bir düzenleme getirilmesi gerekmektedir. Alınacak bu önlemler ile hastalıkların yayılmasının önlenmesi, hastalıklara bağlı yaşanan ekonomik kayıpların azalması başta olmak üzere bir takım teknik ve ekonomik sorunların çözümüne katkı sağlanacaktır.

Türkiye günümüzde bazı hayvansal üretim alanlarında dışa bağımlı hale gelmiş ve tekrar bu alanlarda kendi kendine yeterlilik noktasına ulaşmak için çaba sarf etmektedir. Bu anlamda arıcılık sektörü hayvancılık sektörleri içerisinde kendi kendine yeterliliğini günümüzde sürdürebilen bir sektördür. Türkiye'de arıcılık sektörü arıcılık ürünlerinde artan ihracat düzeyi, yerli ilaç üretiminin desteklenmesi, gen kaynakları çeşitliliğinin kullanılarak hastalıklara dirençli ana arı hatları oluşturulması, yurt içinde verimliliği artırmak suretiyle, geliştirilecek damızlık ana arı hatlarıyla ihracat kanalıyla ülkeye döviz kaynağı sağlama potansiyeline sahiptir. Mevcut potansiyelin açığa çıkarılması için mevcut kaynaklar optimum şekilde kullanılmalı, Türkiye arıcılık sektörü dışa bağımlı hale gelmeden önce gerekli önlemler ivedilikle alınmalı ve hayata geçirilmelidir.

#### Kaynaklar

1. Çağlıyan A. Bitlis ilinde arıcılık faaliyetleri. İÜ Coğrafya Derg 2015; (30): 1-25.
2. Çevrimli MB, Sakarya E. Türkiye'de arıcılık sektörüne yönelik destekleme politikaları etkilerinin değerlendirilmesi. Dördüncü Uluslararası Muğla Arıcılık ve Çam Balı Kongresi. Kasım, 5-9, 2014; Muğla-Türkiye.
3. Davis PH. Flora of Turkey and East Aegean Islands. Edinburg Uni Pres, 1982; pp. 313-5.
4. Erkan C, Aşkın Y. Van ili Bahçesaray ilçesinde arıcılığın yapısı ve arıcılık faaliyetleri. YYÜ Tar Bil Derg 2001; 11(1): 9-28.
5. Food and Agriculture Organization of The United Nations Statistics Division (FAOSTAT), Beekeeping Statictics, [http://faostat3.fao.org/download/Q/\\*E](http://faostat3.fao.org/download/Q/*E), Erişim tarihi: 01.11.2015
6. Food and Agriculture Organization of The United Nations Statistics Division (FAOSTAT), Trade Statictics, [http://faostat3.fao.org/download/T/\\*E](http://faostat3.fao.org/download/T/*E), Erişim tarihi: 01.11.2015
7. Fıratlı Ç, Karacaoğlu M, Gençer HV, Koç A. Türkiye arıcılığına ilişkin değerlendirmeler ve öneriler. Ziraat Mühendisleri Odası, Türkiye Ziraat Mühendisliği Altıncı Teknik Kongresi. Ocak, 03-07, 2005; Ankara-Türkiye.
8. Fıratlı Ç, Gençer, HV. Dünya arıcılığı ve Türkiye'nin yeri, Türkiye İkinci Teknik Arıcılık Kongresi. Şubat, 8-9, 1994; Ankara-Türkiye.
9. Gösterit A. Türkiye arıcılığının yapısı, sorunları ve sürdürülebilir arıcılık açısından değerlendirilmesi. Düzce Üniversitesi Arıcılık Araştırma, Geliştirme ve Uygulama Merkezi, [http://www.dagem.duzce.edu.tr/Dokumanlar/96bc911c-8967-4887-a35c-c6760362456a\\_Calistay\\_Sunum\\_1\\_A.GOS.TERIT.pdf](http://www.dagem.duzce.edu.tr/Dokumanlar/96bc911c-8967-4887-a35c-c6760362456a_Calistay_Sunum_1_A.GOS.TERIT.pdf) Erişim tarihi: 03.11.2015
10. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (GTHB). Arıcılık Sektör Raporu. 2015; 2-15, Ankara-Türkiye.
11. Karaca Ü, Kösoğlu M, Yılıdızal İ, Topal E. Balda kalıntı sorunu. Arıcılık Arş Derg 2013; (9): 5-37.
12. Kekeçoğlu M, Rasgele P. Düzce ili Yığılca ilçesi arıcılık faaliyetleri üzerine bir çalışma. Uludag Bee Journal 2012; 13(1): 23-32.
13. Kuzeydoğu Anadolu Kalkınma Ajansı (KUDAKA). Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi Arıcılık ve Arı Ürünleri Sektörü Raporu 2013; 5-13, Erzurum-Türkiye.
14. Sancak K, Sancak A, Aygören E. Dünya ve Türkiye'de arıcılık. Arıcılık Arş Derg 2013; (10): 7-13.
15. Saner G. İzmir ve Muğla illerinde faaliyet gösteren arıcılık işletmelerinin teknik ve ekonomik yapısı ile sorunların üzerine bir araştırma. Birinci Baskı. İzmir: Ege Üniversitesi Yayınları, 2005; p. 77-80.
16. Sarıözkan S, İnci A, Yıldırım A, Düzlü Ö. Kapadokya'da arıcılık. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2009; 6(2): 143-55.
17. Serhat Kalkınma Ajansı (SERKA). Ardahan Kafkas Arı Irkı ve Arıcılık Çalıştay Sektör Raporu 2012; 58-59 Kars, Türkiye.
18. Sıralı R, Konak F, Cınbirtoğlu Ş. Ülkemizdeki arıcılık desteklemeleri. Arıcılık Arş Derg 2013; 9: 14-19.

19. Hayvancılık Desteklemeleri Hakkında Uygulama Esasları Tebliği, 12.05.2015, Türkiye Cumhuriyeti Resmi Gazete, <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/05/20150512-2.htm>, Erişim tarihi: 24.11.2015.
20. Tarımsal Ürünlerde İhracat İadesi Yardımlarına İlişkin Para-Kredi ve Koordinasyon Kurulu Tebliği, 21.06.2013, Türkiye Cumhuriyeti Resmi Gazete, <http://www.resmigazete.org/tarih/20130621.html>, Erişim tarihi: 24.11.2015.
21. TC Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). Hayvancılık İstatistikleri Veri Tabanı. Ankara. <https://biruni.tuik.gov.tr/hayvancilikapp/hayvancilik.zul>, Erişim tarihi: 01.11.2015.
22. Uygur ÖŞ, Girişgin O. Bal arısı hastalık ve zararlıları. Uludag Bee Journal 2008; 8(4): 130-42.
23. Uzundumlu SA, Aksoy A, Işık HB. Arıcılık işletmelerinde mevcut yapı ve temel sorunlar; Bingöl ili örneği. Atatürk Üniv Ziraat Fak Derg 2011; 42(1): 49-55.
24. Zilberman D, Barel S. Gıda güvenliği yönetmeliklerinin uluslararası bal ihracatındaki önemi. Dördüncü Uluslararası Marmara Arıcılık Kongresi. Aralık, 2-4, 2010; Çanakkale-Türkiye.

**Sorumlu yazar:**

Araş. Gör. Mustafa Bahadır Çevrimli  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan  
Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği AD 06110  
Dışkapı Yerleşkesi-Ankara.  
Tel: 0312 317 0315-4497(Dahili)  
GSM: 0553 452 4520  
E-posta: bahadir.cevrimli@gmail.com



## Veteriner Klinik Laboratuvarlarında Pre-Analitik Süreç

Serkan SAYINER<sup>1,2</sup>, Tanju BORATAŞ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Lefkoşa-Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.

<sup>2</sup>Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Hastanesi Tanı Laboratuvarı, Lefkoşa-Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti

**Özet:** “TS EN ISO 15189 Tıbbi laboratuvarlar: Kalite ve yeterlilik için şartlar” isimli standart içerisinde pre-analitik faz kronolojik sırayla; klinisyenin hastayı tanımlaması, muayenesi, yapılacak testin belirlenmesi, örnek alınması için hazırlık, örneklerin toplanması, laboratuvara ulaştırılması ve analiz öncesi örnek uygunluğunun istenen teste göre değerlendirilmesi sürecini kapsamaktadır. Veteriner Klinik Laboratuvarlarında pre-analitik fazı ilgilendiren süreçler daha çok kan ve idrar örneklerini içermekte, bu örneklerden çoğunlukla hematoloji, koagülasyon, biyokimya ve sitolojik test parametreleri talep edilmektedir. Bu derlemede veteriner klinik laboratuvarlarında pre-analitik sürece ait hata kaynakları ile ilgili en güncel bilgilerin aktarılması amaçlanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Kan alma, laboratuvar hatası, pre-analitik süreç, veteriner laboratuvarı

### Pre-Analytical Phase in Veterinary Clinical Laboratories

**Summary:** According to “TS EN ISO 15189 Medical laboratories: Requirements for quality and competence”, pre-analytical phase includes clinician’s patient identification, examination and determination of the test to be done in preparation for the sampling, collection of samples, delivery to the laboratory and sample control prior to analyses for the evaluation of the desired test. In Veterinary Clinical Laboratories, pre-analytical phase mostly involves blood and urine samples, and these samples are generally used for haematology, coagulation, biochemistry and cytology test parameters. This review is aimed to convey the latest information about error sources in Veterinary Clinical Laboratories.

**Key words:** Blood collection, laboratory error, pre-analytical phase, veterinary laboratory

### Giriş

Tıbbi tahlil laboratuvarlarında, kan örneklerinin alınması özel eğitimli personeller tarafından gerçekleştirilip, hastalar talep edilen testlere göre yönlendirilerek uygun koşullar altında örneklerin alınması sağlanmaktadır. Veteriner Klinik Laboratuvarlarında ise pre-analitik süreç daha sınırlı bir kapsama sahiptir. Özellikle kan alma süreci kliniklerde gerçekleştirildiği için pre-analitik sürecin bir kısmı tamamen laboratuvarın kontrolü dışındadır. Hayvanların hazırlanması, örnek alma ve laboratuvara ulaştırılması veteriner klinik laboratuvarlarının kontrolü dışında gelişir ve pre-analitik faz, örneğin laboratuvara ulaşması ile başlamaktadır. Pre-analitik hataların veteriner klinik laboratuvarlarında kantitatif önemini ortaya koyan çalışmalar kısıtlıdır. Hooijberg ve ark. (25) yaptığı çalışmada veteriner klinik laboratuvarlarında ortaya çıkan hataların 2/3’sinin pre-analitik süreç ile ilgili olduğunu bil-

dirmişlerdir.

Hayvanlardan örnek alınması veteriner hekimler veya veteriner teknikerleri tarafından yapılmaktadır. Örnek alımı sırasında hayvanların tok olup olmadıkları, yaptıkları seyahatten ötürü stres altında olmaları, yeni bir klinik ortamına getirilmelerinin gerginliğini taşıyabilecekleri göz önünde bulundurulmalıdır. Veteriner klinik laboratuvarlarının bu safhaları irdeleyerek, istenen test parametresine göre olası bir hatalı sonuca neden olabilecek veya test performansını etkileyebilecek bir örneğin reddedilebilmesi veya yeterli kalitede olmadığı yönünde muhakeme edebilmesi oldukça güçtür. Bununla beraber hatalı alınmış veya kalitesi düşük örnekler nedeniyle sonuçlarda hata, örneğin tekrar alınması, sonuçların hatalı değerlendirilmesi, personel ve finansal kaynakların verimsiz kullanılması gibi olumsuz getirileri de olacaktır.

Pre-analitik sürece ait hata kaynaklarını bilerek ve önlemeye yönelik çalışmalar yapmak veya analiz sonuçlarının değerlendirmesi sırasında hata kaynaklarını göz önünde bulundurmak ge-



reklidir. Bu derlemede veteriner klinik laboratuvarlarında pre-analitik sürece ait hata kaynakları aktarılmaya çalışılarak klinisyen veteriner hekimler veya veteriner teknikerleri ile laboratuvar dallarında uzman veya bu sektörde çalışan teknik personelin (veteriner tekniker, laborant gibi) ulaşabileceği en güncel bilgilerin yer aldığı bir derleme oluşturulması amaçlanmıştır.

#### **Pre-Analitik sürece etki eden teknik faktörler**

Teknik faktörler, istenen test veya testlere göre örneğin uygun teknik ve materyal kullanılarak alınması, muhafazası ve laboratuvara iletilmesi gibi unsurları içermektedir. Bunlar, fark edilmesi daha kolay ve TS EN ISO 15189 gibi laboratuvar kalite standartlarına göre oluşturulacak prosedürlerle kontrol altında tutulabilen etkilidir.

#### **Örnek toplanması**

**Doğru kan alma tüpünün seçimi:** Genel öneriler özel makalelerde, bazı kitapların bölümlerinde, özel veya kamu laboratuvarlarının internet siteleri veya test kitapçıklarında ve bu alanda yayın yapan profesyonellerin hazırladığı internet sitelerinde bulunmaktadır (3,5,31,32,40,59,63).

**Tam kan, plazma ve serum:** Tam kan antikoagulan madde içeren tüplere alınan kandır ve başta tam kan sayımı (hemogram) olmak üzere çoğunlukla hematolojik testlerde (kan grubu tayini, kan frotisi, direkt coombs test, immünolojik testler gibi) kullanılmaktadır. Bu amaç için memeli hayvanlarda sıvı formda tripotasyumlu ( $K_3$ ) veya dipotasyum ( $K_2$ ) tuzu şeklinde kuru formda (tüp içerisine püskürtülmüş) etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) kullanılmaktadır (59). Günümüzde en çok plastik  $K_2$ EDTA tüpleri kullanılmaktadır ve çoğunlukla ticari firmalar tarafından eflatun renkli kapağa sahip olarak kullanım amacına göre farklı hacimlerde (0.5 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 10 mL gibi) üretilmektedir. Bazı memelilerde, özellikle kedilerde, EDTA trombositlerin kümeleşmesine (agregasyon) neden olmaktadır ve bunu engellemek için ek maddeler kullanılması önerilmektedir (22).

Kuş, sürüngen ve diğer türlerde ise lityum heparin içeren kan alma tüpleri kullanılması önerilmektedir (61). Bu tüplerde EDTA tüplere benzer şekilde ticari olarak farklı hacimlerde (2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 10 mL gibi) üretilmektedir ve açık yeşil kapağa sahiptirler. Sınırlı kullanım alanı olan bir diğer heparinli tüp ise sodyum heparin içeren kan alma tüpüdür. Bu tüpler koyu yeşil kapaklı olup daha çok insan hekimliğinde lityum düzeyi ölçmek için tercih edilir.

Birçok kaynakta biyokimyasal analizler için se-

rum veya heparin kullanılarak elde edilen plazma kullanımı önerilmektedir. Serum elde etmek için kullanılan tüpler içerisinde pıhtılaşmayı engelleyecek herhangi bir antikoagulan madde bulunmamaktadır. Bu tüplerde farklı hacimlerde (0.5 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 10 mL gibi) üretilmekte olup, özelliğine göre farklı kapak renklerine sahiptirler. Günümüzde serum elde etmek için en çok kullanılan tüpler altın renk kapaklı ve içerisinde ayrışmayı kolaylaştıran ve kan hücresel elemanları ile serum arasında girerek tekrar karışmasını engelleyen jel (tikotropik jel) ve tüp çeperinde pıhtılaşma aktivatörleri bulunmaktadır. Bu tüplere aynı zamanda serum separatör tüpleri (SST) denmektedir. Serum elde etmek için kullanılan bir diğer tüp çeşidi ise içinde jel olmayan tüplerdir. Bu tüplere düz kuru tüp ismi de verilmekte ve kırmızı kapağa sahiptirler. Bu tüplerin de çeperinde pıhtılaşma aktivatörleri bulunmaktadır. Pıhtılaşma aktivatörleri partikül halinde suda çözünebilen polimerlerdir (31,59).

Biyokimyasal test parametrelerinde heparin kullanılarak elde edilen plazma ve serum için genellikle benzer sonuçlar elde edilir. Matematiksel olarak farklı sonuçlar gözlemlense de klinik değerlendirmedeki etkisi oldukça düşüktür. Fakat bazı test parametrelerinde plazma ve serum referans değerleri önemli derecede farklılık gösterebilmektedir (12,30,42,43).

Serum ve değişik plazmalar bazı biyokimyasal profillerde şaşırtıcı olabilir. Oluşan bir pıhtı bazı analitlerin konsantrasyonunda modifikasyonlara sebep olabilir. Örneğin, potasyum gibi hücre içi moleküller hücrelerden sızabilir. Ek olarak, pıhtı oluşumunda olan bir gecikme, çeşitli bozulmalara yol açar (peptid hormonlar, parathormon gibi). Bu gibi analitler, plazma örneklerinden proteaz inhibitörleriyle (aprotinin gibi) alınmalıdır (15).

Pıhtılaşma faktörlerinin analizinde ise içerisinde antikoagulan olarak sitrat bulunan tüpler kullanılmalıdır. Bu tüpler açık mavi renkli kapağa sahiptirler ve genellikle hacim çeşitliliği daha dardır (1.8 mL - 4.5 mL) (63).

Bu tüpler dışında daha farklı ve özel amaçlar için kullanılan tüpler de bulunmaktadır. Örneğin gri kapaklı sodyum florid/potasyum oksalat içeren tüpler glikoz ve keton madde analizinde tercih edilmektedir. Bu tüplere glikoz tüpü de denmektedir. Bunun yanında veteriner alanında pek kullanılmayan ama insan hekimliğinde kullanım alanı bulunan tüpler de bulunmaktadır. Eser

element analizleri için koyu mavi kapaklı kontamine edici metal içermeyen tüpler, bazı DNA testleri ve İnsan Lökosit Antijen (HLA) doku tiplendirme gibi testlerde kullanılan asit sitrat dekstroz içeren sarı/beyaz kapaklı tüpler, sedimentasyonda kullanılan siyah kapaklı tüpler örnek verilebilir (4,33).

Kan alma tüpleri cam veya plastik materyalden üretilmektedir. Günümüzde güvenlik nedenlerinden dolayı plastik tüpler daha çok kullanılmaktadır. Özellikle insanlarda plastik tüplerin kullanımına ilişkin olarak biyokimyasal ve hematolojik tetkikleri için uygun ve karşılaştırılabilir sonuçlar ortaya konulmuştur (35,60). Hayvanlarda ise böyle bir karşılaştırmanın eksikliği bulunmaktadır.

Kan örnekleri alınmadan önce tüp üzerindeki etiket bilgisi okunarak son kullanım tarihi kontrol edilmelidir ve süresi dolmuş tüpler kullanılmamalıdır. Ancak köpeklerde yapılan bir çalışmada son kullanma tarihi 11 ay geçmiş lityum heparinli tüplerin kullanılması sonucunda birçok analitin etkilenmediği tespit edilmiştir (17). Plastik antikoagülan tüplerde ise ayrıca kanın ne kadar alınması gerekliliğini belirten tüp üzerindeki işaret belirlenmelidir. Kan ve antikoagulanın birbirine oranı çok önemlidir ve doğru oranda karışması gereklidir. Örneğin kan olması gerekenden çok alınırsa istenmeyen pıhtılaşma şekillenebilir, hücrelerde bozunma olabilir. Son kullanım tarihi geçmiş ve/veya hatalı miktarda alınan kan, sonuçları etkileyecektir ve bu durum klinik laboratuvarlarda sıkça karşılaşılan pre-analitik hatalardan biridir (49).

**Kan alma teknikleri ve yolları:** Büyük hayvanlarda, genellikle rutin hematolojik ve biyokimyasal testler için farklı büyük damarlardan kan alınması arasında büyük fark yoktur, fakat kemirgenler ve kedilerde farklı damarlardan alınan kan örneklerinden elde edilecek sonuçların önemli derece farklılık gösterdiği bildirilmektedir. İneklerde kuyruk damarlarından toplanan kan örnekleri genellikle venöz ve arteryel kan, karışık alınabilir, ama bu da kan gazları ölçümünde karışıklığa yol açabilir. Kedi ve köpeklerde kulak arkasından alınan örnekler, geniş damarlardan alınanlara göre farklılık göstermektedir. Örneğin kedilerde hematokrit (HCT), plazma proteinleri ve köpeklerde plazma laktat düzeyleri farklılık göstermektedir (11). Deri temizleme genellikle hayvanlarda uygulanmaz ve bununla ilgili yayınlanmış bir rapor bulunmamaktadır. Örneğin; doğru teknik ve materyal kullanılmazsa, yanlış

venipunktür doku zedelenmesi, hematom oluşması, pıhtılaşma başlangıcının etkilenmesi, hemoliz ve enzim değerlerinde hatalı yükselişe sebep olabilir (10).

**İdrar örneklerinin toplanması:** Hayvanlardan idrar alınması genellikle urinasyon sırasında hayvan sahibinin temiz bir kap içine toplanması ile olur (free-catch sampling). Toplanan idrar "spot idrar" olarak isimlendirilir. Bu işlem sırasında mümkün olduğunca idrarın hayvanın herhangi bir vücut bölümüne temas etmemesine dikkat edilir. Örneğin alınacağı kap mutlaka steril idrar toplama kabı olmalıdır. Bunun yanında bakteriyolojik tetkikler uygulanacaksa katater veya sistosentez gibi aseptik teknikler kullanılmalıdır. Hayvanlarda spot idrar kolaylıkla toplanır, ancak 24 saatlik idrar toplanması oldukça zordur (7).

**Tükürük örnekleri:** Veteriner rutinde kullanımı yaygın değildir. İçeriğinde % 0.9 oranında anorganik madde ihtiva eder (32). Kortizol gibi bazı parametrelerin ölçümü ve kedilerin lösemi (FeLV) tanısında kana alternatif olabileceği bildirilmiştir (21,64).

**Dışkı:** Dışkının fiziksel ve kimyasal incelenmesi ile bazı metabolik ve patolojik durumlar saptanabilir. Bunlara örnek olarak gizli kan, hazım fermentleri ve vahşi hayvanlarda endokrin belirteçler (hormonlar) gösterilebilir. Dışkı örneği temiz bir kap içine alınıp taze halde laboratuvara gönderilmelidir (36,52,56).

**Beyin-omurilik sıvısı (BOS):** İçerik olarak organik ve anorganik maddeleri seruma göre daha düşüktür. Proteinlerden oldukça fakirdir. Kana göre glikoz yaklaşık % 60, Ca ise % 50 oranında daha düşüktür (32). Kedi ve köpeklerde BOS örneğinin alındığı bölge önem arz etmektedir. Lumbal bölgeden alınan BOS'da, atlanto-oksipital bölgeden alınan göre protein konsantrasyonu iki kat daha fazladır (8).

**Sinoviyal sıvı:** Sinoviyal örneklerin alındığı eklem bölgesine göre kimyasal ve hücresel bileşenlerde farklılıklar görülebilir. Hatalı alım tekniğine bağlı olarak iatrojenik hemoraji görülebilir (15).

**Peritoneal sıvı:** Atlarda, protein analizi ve hücre sayımı laparotomi veya kastrasyon sonrası yükselebilir (11).

**Laboratuvar da örneklere uygulanan işlemler**  
**Sıcaklık:** Laboratuvar da ortam sıcaklığı + 18-26° C arası olmalı ve bunu muhafaza edecek şekilde yapılmalıdır. Genel olarak, örnekler oda sıcaklığında 2 saat dayanıklıdır ve analiz sonuçları en uygun düzeyde tespit edilebilir

(33). Kedilerde EDTA'lı tam kan örneğinin 48 saate kadar bekletildiğinde, yükselmiş MCV (ortalama eritrosit hacmi), HCT, retikulosit ve eozinofil sayım görülürken, MCHC (ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu) ve monosit sayımlarında düşüş tespit edilmiştir (23). Köpeklerde ise EDTA'lı tam kan 48 saat bekletildiğinde, MCV ve HCT sayımında artma, trombosit ve monosit sayımında azalma görülmüştür (9). Buna benzer olarak, birçok biyokimyasal analiz 24-48 saat oda sıcaklığında muhafaza edildiğinde nispeten kararlılığını devam ettirmektedir. Bunun yanında genellikle her laboratuvar da serum örneğinin saklanması gerekiyorsa -20 derecede dondurmak sureti ile bu işlem yapılmalıdır. Ayrıca bilirubin gibi ışığa duyarlı analizler için de örnek, karanlık ortamda muhafaza edilmelidir. Kateşolamin ve ACTH (adrenokortikotropik hormon) gibi dengesiz analizler veya başka peptidler ise kararsız olduğundan dolayı buzdolabı sıcaklığında (2-8°C) saklanmalıdırlar (31,67). Tam kan ile çalışılacak hematolojik testlerde örneklerin dondurulmaması gereklidir. Dondurma işlemi intra ve ekstrasellüler mikrokristallerin oluşmasına neden olarak hücresel hasarı şekillendirmektedir. Bu örnekleri dondurup çözündürme işlemi morfolojik değişiklikler ve sitoplazmik bileşenlerin hücre dışına çıkmasına neden olur. Serum ve plazma örnekleri uzun süreli muhafaza edilecek ise en iyi seçenek dondurmaktır. Burada dikkat edilmesi gereken nokta her bir test parametresinin dondurma işlemi ile ne kadar süre muhafaza edilebileceğinin bilinmesidir ve mutlaka bu dokümanite edilerek takip edilmelidir. Örneğin serumda albümin, -20° C' de 2 ay muhafaza edilebilirken, plazmada amonyak sadece 7 gün dayanıklıdır (18). İdrar ve dışkı örnekleri her zaman taze olarak laboratuvara ulaştırılmalı ve çalışmaya alınmalıdır. İdrar bakteriyolojik olarak incelenmek amacıyla gönderiliyorsa mutlaka aseptik şartlarda steril bir kapa alınmalıdır (7). Dondurulmuş olan serum ve/veya plazma örnekleri analize alınmadan önce dikkatli bir şekilde oda sıcaklığında çözündürülmeli ve mutlaka homojenize çözülmelidir. Bu örnekler için tekrar dondurma ve çözündürme döngüsünden kaçınılmalıdır. Bunun sebebi birçok analitin bozunuma uğrayacak ve dolayısı ile doğru sonuç alınmayacak olmasıdır. Buna rağmen köpeklerde ve ratlarda yapılan çalışmalarda bazı rutin biyokimya değerlerinin (köpeklerde Glikoz, Üre, Kreatinin, Total protein, Na, K, Cl, Ca, P, AST, ALT,

CK ve ALP; ratlarda Glikoz, Trigliseritler, Kolesterol, AST, ALT, ALP, Total Protein, Albümin, Üre, Ürik Asit, CK, Ca, P, Na, K, Cl) üç kere dondur-çözdür işleminden etkilenmediği görülmüştür (29,55). Benzer olarak insanlarda bazı analizlerin (ALT, AST, CK, GGT, Glikoz, Kreatinin, Kolesterol, Trigliseritler, Direkt Bilirubin) 10 kere dondur-işlemine rağmen stabilitelelerini koruduğu bildirilmiştir (16).

**Santrifüj işlemi:** Ağırlıkları önemli derecede farklı olan maddelerin yer çekimine bağlı olarak ayırım işlemi olup bu işlem için kullanılan aletlere santrifüj denir. Serum ve plazma ayırmak için santrifüj ekipmanı kullanılır, uygulanan kuvvet RCF (relatif santrifügal kuvvet) olarak ifade edilir ve yer çekimi kuvveti olan "g" nin çarpanları olarak verilir. Bu işlem ile kanın sıvı kısmı ve hücresel kısmı birbirinden ayrılır. Genellikle plazma ve serumun ayrılmasında önerilen santrifüj kuvveti ve süresi 1500-2000 g x 10 dakikadır. Ancak pratik uygulamada ticari olarak üretilen santrifüj cihazlarında sadece rpm (revolution per minute/devir:dakika) şeklinde bir hız ayarı bulunmaktadır ve rpm'in RCF ile ilgisi  $RCF=1.118 \times 10^{-5} \times r \times rpm^2$  olarak ifade edilir. Buradaki "r" santrifüj rotorunun çapını ifade etmektedir. Dolayısı ile rotor çapına bağlı olarak aynı devirde aynı güç elde edilemeyeceği bilinmelidir. Serum ve plazma ayırmadan önce bu hususa dikkat edilmeli ve cihazın özelliklerine hakim olunması gereklidir (14,41).

Sitolojik örneklerde hücre konsantrasyonunu artırmak ve hücre morfolojisini korumak için daha düşük g kuvveti kullanılır. İdrarda ise hücre ve kristaller sayıları ile hız arasında ilişki olmadığından dolayı 400-3900 g x 5 dakika kullanılabilir (11).

**Alınan ve laboratuvara ulaşan örneğin analiz öncesi son kontrolleri:** Analizin sağlıklı bir şekilde sonuçlanması için örnek kalitesi önemlidir ve mutlaka kontrol edilmelidir. Örnek kontrolü, örneğin laboratuvara ulaşması ile başlar ve ilk önce transport koşulları değerlendirilir. Örnek, serum veya plazma şeklinde gönderilmişse standart olarak renk kontrolü yapılır. Eğer serum veya plazma ayrılmadan gönderilmişse bu işlem laboratuvar da gerçekleştirilir ve daha sonra renk kontrolü yapılır. Görsel yapılan değerlendirme genellikle tahminidir ve kesin gözlem için objektif teknikler kullanılmalıdır. Görsel değerlendirme sonucunda hemoliz, lipemi, ikterus gibi durumların varlığına bakılır (40).

Hemoliz, eritrositlerin hücre zarının parçalanma-

şı sonucu hemoglobin molekülünün dışarıya çıkması olayıdır ve derecesine göre serum rengi pembeden kırmızıya kadar renk değişikliği göstermektedir. İnsan ve veteriner laboratuvarlarında pre-analitik sürece ait en sık gözlemlenen hata hemolizdir. Serbest halde serumda bulunan hemoglobin ışık absorbansını etkilemekte ve özellikle spektrofotometrik analizlerde hatalı sonuçlara neden olmaktadır. Etkime derecesi kullanılan yöntem ve analizöre göre değişiklik göstermektedir. İntrasellüler bileşenlerin (anyonlar, enzimler gibi) ölçümünde hemoliz nedeniyle sonuçlarda sapmalar görülür (2,65). Lipemi, serum veya plazmada lipitlerin normalin üstünde miktarlarda bulunması durumudur. Bu durum hiperlipidemili hastalarda veya tok karna örnek alınan hastalarda görülür. Lipemik serum ve plazmanın rengi beyazdan süt rengine kadar değişiklik göstermektedir. Lipemik örneklerle yapılan spektrofotometrik ölçümlerde hemolize benzer şekilde sapmalar meydana gelmektedir (46).

Hematolojik tetkikler için EDTA veya heparinli tüplere alınan kanlarda en sık görülen hata, pıhtı varlığıdır. Hemolizle birlikte laboratuvarlarda en çok görülen örnek ret nedenlerindedir. Pıhtılar gözle görülebilir düzeyde olabileceği gibi, dikkatli kontrol edildiğinde dahi gözden kaçabilen mikropıhtılar şeklinde de olabilir. Mikropıhtılar özellikle hücre sayımı ve pıhtılaşma faktörlerini etkileyebileceği cihaz problemlerini tıkayarak da zaman kaybı ve ek harcamalara neden olabilmektedir. Mikropıhtılar ve mikroskopik trombosit kümeleri/yığınları özellikle kedilere ait örneklerde sık görülür. Köpeklerde ise daha nadirdir (10,19,23).

#### **Pre-analitik sürece etki eden biyolojik faktörler**

Biyolojik faktörler teknik faktörlere göre daha kapsamlı unsurlar barındırır. Bunlar arasında aç/tokluk, stres, egzersiz, tür, bazen ırk, gebelik, cinsiyet, süt verimi, iklim, zaptı rapt ve çevresel koşullar gibi faktörler yer almaktadır. Biyolojik faktörlerin özellikle veteriner hekimliğinde kontrol altına alınması oldukça zordur. Bu nedenle laboratuvar sonuçlarının yorumlanması sırasında tüm mevcut etki eden faktörler dikkate alınmalıdır (31).

**Beslenme:** İnsan hekimliğinde genel olarak bir gece açlık (12 saat) önerilmektedir. Benzer uygulama hayvanlar için de geçerlidir. Özellikle postprandial lipeminin engellenmesi ile birçok analit için klinik olarak değerlendirilmeye elveriş-

li sonuçlar alınabilir. Bu durum bazı monogastrik hayvanlarda (kedi ve köpek) uygulanabilmekte, ruminantlarda ise güç uygulanmakta veya uygulanamamaktadır. Sağlıklı köpeklerde açlık üre veya trigliserid konsantrasyonları tokluk düzeylerinden düşük çıkabilir. Postprandial etki ile kanda glikoz konsantrasyonu, pankreatik enzimler, safra asitleri, insülin gibi analitlerin düzeyleri değişiklik göstermektedir. Hayvanların besin içerikleri (mama veya rasyon) genel olarak rutin testleri etkilememektedir. Yeni doğanlarda, kolostrom nedeniyle serum total protein, immunoglobulin düzeyleri ile ALP ve GGT aktiviteleri yetişkinlere göre oldukça yüksektir (24,26,39,50,61).

**Stres:** Stres, akut durumlarda adrenomedullar veya subakut, kronik durumlarda kortikal hücreleri aktive etmek suretiyle ortaya çıkan bir durum olarak tanımlanabilir. Bireysel farklılıklar veya türlere bağlı olarak ulaşım, zaptı-rapt ve çevre gibi faktörler birer stres kaynağıdır. Kedilerde stresli bir kan alımı hiperglisemiye (450 mg/dl ye kadar) ve lenfositoya neden olabilir. Köpeklerde ulaşım stresine bağlı olarak ALP aktiviteleri artış gösterebilir, yine strese bağlı hiperglisemi görülebilir. Sığırlarda fiziksel yorgunluk, susuzluk, kötü beslenme gibi etkiler ulaşım ile birleşince ortaya çıkan stres nedeniyle glikokortikoid düzeyleri yükselir ve lökositoz görülür (47,48,53,54).

**İlaç etkileri:** İlaçlar veya metabolitleri, analitleri etkileyebilmektedir. Örneğin adrenokortikoid uyarıcılar ALP aktivitesinde yükselişe neden olurlar. Anestezi veya sedasyon uygulaması birçok vakada mecburi olabilmektedir. Bunların etkileri kullanılan etken maddenin ne olduğu ve dozuna bağlıdır (40). İnsanlarda anestezi sonrası vücut pozisyonu nedeniyle analit konsantrasyonlarında değişiklik olmaktadır, ancak böyle bir etki hayvanlarda rapor edilmemiştir (66).

Hayvanlarda glikokortikoid ve nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçların etkileri araştırılmış ve hem hematolojik (örneğin lökositoz) hem de biyokimyasal değişimler (örneğin artan ALP aktivitesi) bildirilmiştir (20,37,38,44).

Organik fosforlu, karbamat ve delta aminolevulinate dehidratazların, kolinesterazları durdurması ve bunun da toksikasyonlara sebep olduğu bilinmekte, kanda ölçümü şüpheli durumlarda bilgi vermektedir (58).

**Biyolojik ritimler:** Üreme döngüleri de dâhil olmak üzere biyolojik ritimler veya hormonal sıklıslara bağlı olarak analitler değişkenlik gös-

terebilir. Yine belirli bir analitin sirkadyen ritimleri türlere göre farklılık gösterebilir. İnsan, maymun ve ratlarda kortizol düzeyleri sabah daha yüksek iken, çelişkili olarak bazı kaynaklarda köpeklerde neredeyse hiçbir değişiklik olmadığı, bazılarında ise özellikle gruplar halinde yaşayan köpeklerde değişimler olabileceği bildirilmektedir (34,51).

**Yaş ve cinsiyet:** Yaş ve cinsiyete bağlı fizyolojik varyasyonlar nedeniyle serum biyokimyasında değişimler gözlenebilir. Köpeklerde yapılan çalışmalarda bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin yaşa bağlı olarak önemli düzeyde değiştiği, cinsiyete bağlı olarak ise serum fosfor ve Ca/P oranının farklı olduğu bildirilmiştir (45,57).

**Egzersiz:** Fiziksel eforun tipine ve yoğunluğuna bağlı olarak farklı etkiler görülebilir. Özellikle düzenli olarak egzersiz yapılan yarış atları ve yarış köpeklerinde yapılan çalışmalarda yüksek hematokrit, c-reaktif protein (CRP), laktat ve potasyum ile amonyak konsantrasyonu gibi hematolojik ve biyokimyasal değişimler görülmüştür (1,27,62). Özellikle yoğun fiziksel aktivite sonrası örnek almadan önce hayvan dinlendirilmelidir.

### Sonuç

Pre-analitik sürece etki eden birçok faktör bulunmakta ve laboratuvar analizlerini direkt olarak etkilemektedir. Bu faktörleri tamamen kontrol etmek imkânsız olsa da, iyi uygulanan, dokümanite edilmiş standart prosedürler ile kontrol altına alınarak en aza indirmek mümkündür.

### Kaynaklar

1. Adamu AL, Adzahan NM, Rasedee A, Ahmad B. Responses of serum biochemical parameters, electrolytes and heart rate in an 80 km endurance race. *J Vet Adv* 2014; 4(1): 329-37.
2. Alleman AR. The effects of hemolysis and lipemia on biochemical constituents. *Veterinary Medicine* 1990; 85(12): 1272-84.
3. Anonim. BD Vacutainer venous blood collection, tube guide. [http://www.bd.com/vacutainer/pdfs/plus\\_plastic\\_tubes\\_wall-chart\\_tubeguide\\_VS5229.pdf](http://www.bd.com/vacutainer/pdfs/plus_plastic_tubes_wall-chart_tubeguide_VS5229.pdf) Erişim Tarihi: 20.01.2016.
4. Anonim. Blood Collection: routine venipuncture and specimen handling. University of Utah. <http://library.med.utah.edu/WebPath/TUTORIAL/PHLEB/PHLEB.html> Erişim tarihi: 20.01.2016.
5. Anonim. Eclinpath. Cornell University College of Veterinary Medicine. <http://www.eclinpath.com/test-basics/sample-collection-2/> Erişim Tarihi: 21.01.2016.
6. Anonim. TS EN ISO 15189 Tıbbi Laboratuvarlar - Kalite ve yeterlilik için genel şartlar. Türk Standartları Enstitüsü. 2014.
7. Archer J. Urine Analysis. Villiers E, Blackwood L. eds. In: BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology. Second Edition. Gloucester: BSAVA, 2007; pp. 149-68
8. Bienzle D, McDonnell JJ, Stanton JB. Analysis of cerebrospinal fluid from dogs and cats after 24 and 48 hours of storage. *J Am Vet Med Assoc* 2000; 216(11): 1761-4.
9. Bourges-Abella NH, Geffre A, Deshuillers PL, Braun JP, Trumel C. Changes in hematology measurements in healthy and diseased dog blood stored at room temperature for 24 and 48 hours using the XT-2000iV analyser. *Vet Clin Pathol* 2013; 43(1): 24-35.
10. Bowen RAR, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical assays. *Biochemia Medica* 2014; 24(1): 31-44.
11. Braun JP, Bourges-Abella N, Geffre A, Concordet D, Trumel C. The preanalytic phase in veterinary pathology. *Vet Clin Pathol* 2015; 44(1): 8-25.
12. Cerón JJ, Martínez-Subiela S, Hennemann C, Tecles F. The effects of different anticoagulants on routine canine plasma biochemistry. *Vet J* 2004; 167(3): 294-301.
13. Clements D. Arthrocentesis and synovial fluid analysis in dogs and cats. In *Practice* 2006; 28(5): 256-62.
14. Colville J. Blood Chemistry. Hendrix CM, eds. In: Laboratory procedures for veterinary technicians. Fourth Edition. Saint Louis: Mosby, 2002; pp. 75-103.
15. Connolly DJ, Hezzell MJ, Fuentes VL, Chang YM, Swan R, Syme HM. The effect of protease inhibition on the temporal stability of NT-proBNP in feline plasma at room temperature. *J Vet Cardiol* 2011; 13(1): 13-9.
16. Cuhadar C, Koseoglu M, Atay A, Dirican A. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. *Biochem Med* 2013; 23(1): 70-7.
17. Domingos MC, Médaille C, Concordet D, Briand-Marchal A. Is it possible to use expired tubes for routine biochemical analysis

- in dogs? *Vet Clin Pathol* 2012; 41(2): 266-71.
18. Erbil MK. Laboratuvar Testleri ve Klinik Kullanımı. GATA Komutanlığı Basımevi Müdürlüğü Etlik, Ankara, 2007; p. 16.
  19. Favalaro EJ, Funk DM, Lippi G. Pre-analytical Variables in Coagulation Testing Associated with Diagnostic Errors in Hemostasis. *Lab Medicine* 2012; 43(2): 1-10.
  20. Ginel PJ, Lucena R, Fernández M. Duration of increased serum alkaline phosphatase activity in dogs receiving different glucocorticoid doses. *Res Vet Sci* 2002; 72(3): 201-4.
  21. Gomes-Keller MA, Gönczi E, Tandon R, Riondato F, Hofmann-Lehmann R, Meli ML, Lutz H. Detection of feline leukemia virus RNA in saliva from naturally infected cats and correlation of PCR results with those of current diagnostic methods. *J Clin Microbiol* 2006; 44(3): 916-22.
  22. Granat F, Geffr'e A, Braun JP, Trumel C. Comparison of platelet clumping and complete blood count results with Sysmex XT-2000iV in feline blood sampled on EDTA or EDTA plus CTAD (Citrate, Theophylline, Adenosine, and Dipyridamole). *J Feline Med Surg* 2011; 13(12): 953-8.
  23. Granat F, Geffr'e A, Bourges-Abella N, Braun JP, Trumel C. Changes in haematology measurements with the Sysmex XT-2000iV during storage of feline blood sampled in EDTA or EDTA plus CTAD. *J Feline Med Surg* 2013; 15(6): 433-44.
  24. Gunn-Christie RG, Flatland B, Friedrichs KR, Szladovits B, Harr KE, Ruotsalo K, Knoll JS, Wamsley HL, Freeman KP. American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP). ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical, analytical, and postanalytical factors for urinalysis, cytology, and clinical chemistry in veterinary laboratories. *Vet Clin Pathol* 2012; 41(1): 18-26.
  25. Hooijberg E, Leidinger E, Freeman KP. An error management system in a veterinary clinical laboratory. *J Vet Diagn Invest* 2012; 24(3): 458-68.
  26. Humann-Ziehanck E, Ganter M. Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. *Animal* 2012; 6(7): 1115-23.
  27. Huntingford JL, Levine CB, Mustacich DJ, Corrigan D, Downey RL, Wakshlag JJ. The effects of low intensity endurance activity on various physiological parameters and exercise induced oxidative stress in dogs. *Open J Vet Med* 2014; 4(7): 134-44.
  28. Jacobs RM, Lumsden JH, Griff E. Effect of bilirubinemia, hemolysis, and lipemia on clinical chemistry analytes in bovine, canine, equine, and feline sera. *Can Vet J* 1992; 33(9): 605-8.
  29. Kale VP, Patel SG, Gunjal PS, Wakchaure SU, Sundar RS, Ranvir RK, Jain MR. Effect of repeated freezing and thawing on 18 clinical chemistry analytes in rat serum. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 2012; 51(4): 475-8.
  30. Kamali H, Mohri M. Effects of heparin, citrate and EDTA on plasma biochemistry of cat: comparison with serum. *Revue Med Vet* 2015; 166(9-10): 275-9.
  31. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, Sixth Edition. Amsterdam: Elsevier, Academic Press, 2008; pp. 99, 306, 351-378, 618.
  32. Karagul H, Altıntaş A, Fidancı UR, Sel T. *Klinik Biyokimya*, Birinci Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, 2000; pp. 6-9
  33. Kiechle FL, Betsou F, Blakeney J, Calam RR, Catalasan IM, Raj P, Sadek W, Smith SA, Tang YW, Tomazic-Allen S. *Procedures for the handling and processing of blood specimens for common laboratory tests; Approved guideline. Fourth Edition (H18-A4)*. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standarts Institute, 2010; pp. 3-23
  34. Kolevska J, Brunclik V, Svoboda M. Circadian rhythm of cortisol secretion in dogs of different daily activities. *Acta Vet Brno* 2003; 72(4): 599-605.
  35. Kratz A, Stanganelli N, Van Cott EM. A comparison of glass and plastic blood collection tubes for routine and specialized coagulation assays: A comprehensive study. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130(1): 39-44.
  36. Kumar A, Mehrotra S, Dangi SS, Singh G, Chand S, Singh L, Mahla AS, Kumar S, Nehra K. Faecal steroid metabolites assay as a non-invasive monitoring of reproductive status in animals. *Vet World* 2013; 6(1): 59-63.
  37. Lobetti RG, Joubert KE. Effect of administration of nonsteroidal anti-inflammatory

- drugs before surgery on renal function in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 2000; 61(12): 1501-7.
38. Lowe AD, Campbell KL, Graves T. Glucocorticoids in the cat. *Vet Dermatol* 2008; 19(6): 340-7.
  39. Matsuzawa T, Sakazume M. Effects of fasting on haematology and clinical chemistry values in the rat and dog. *Comp Haematol Int* 1994; 4: 152-6.
  40. Meyer D, Harvey JW. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. Third Edition. St. Louis, Missouri: Saunders, 2004: pp. 3-26.
  41. Minder EI, Schibli A, Mahrer D, Nesic P, Plüer K. Effects of different centrifugation conditions on clinical chemistry and immunology test results. *BMC Clin Pathol* 2011; 11(6): 1-15.
  42. Mohri M, Allahyari L, Sardari K. Effects of common anticoagulants on routine plasma biochemistry of horse and comparison with serum. *J Equine Vet Sci* 2007; 27(7): 313-6.
  43. Mohri M, Rezapoor H. Effects of heparin, citrate, and EDTA on plasma biochemistry of sheep: comparison with serum. *Res Vet Sci* 2009; 86(1): 111-4.
  44. Moore GE, Mahaffey EA, Hoenig M. Hematologic and serum biochemical effects of long-term administration of anti-inflammatory doses of prednisone in dogs. *Am J Vet Res* 1992; 53(6): 1033-7.
  45. Mundim AV, Coelho AO, Hortencia AM, Guimaraes EC, Espindola FS. Influence of age and sex on the serum biochemical profile of Doberman dogs in the growth phase. *Comp Clin Pathol* 2007; 16(1): 41-6.
  46. Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med (Zagreb)* 2014; 24(1): 57-67.
  47. Ochi T, Nishiura I, Tatsumi M, Hirano Y, Yahagi K, Sakurai Y, Sudo Y, Koyama H, Hagita Y, Fujimoto Y, Kitamura S, Hashimoto H, Nakamura T, Yamada A, Tanimoto M, Nishina N. Effects of transport stress on serum alkaline phosphatase activity in beagle dogs. *Exp Anim* 2013; 62(4): 329-32.
  48. Onasanya G, Oke FO, Sanni TM, Muhammad AI. Parameters influencing haematological, serum and bio-chemical references in livestock animals under different management systems. *Open J Vet Med* 2015; 5(8): 181-9.
  49. Özcan O, Güreser AS. Analiz öncesi (preanalitik) hata kaynakları ve eğitimin hata önlemedeki rolü. *Dicle Tıp Derg* 2012; 39(4): 524-30.
  50. Pekcan M, Fidancı UR, Yüceer B, Özbeyaz C. Estimation of passive immunity in newborn calves with routine clinical chemistry measurements. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2013; 60: 85-8.
  51. Pessina P, Fernández-Foren A, Cueto E, Delucchi L, Castillo V, Meikle A. Cortisol secretion after adrenocorticotrophin (ACTH) and dexamethasone tests in healthy female and male dogs. *Acta Vet Scand* 2009; 51(1): 33.
  52. Piccione G, Fazio F, Giudice E, Grasso F, Caola G. Blood lipids, fecal fat and chymotrypsin excretion in the dog: influence of age, body weight and sex. *J Vet Med Sci* 2004; 66(1): 59-62.
  53. Rand JS, Kinnaird E, Baglioni A, Blackshaw J, Priest J. Acute stress hyperglycemia in cats is associated with struggling and increased concentrations of lactate and norepinephrine. *J Vet Intern Med* 2002; 16(2): 123-32.
  54. Rashid S, Shi ZQ, Niwa M, Mathoo JM, Vandelangeryt ML, Bilinski D, Lewis GF, Vranic M. Beta-blockade, but not normoglycemia or hyperinsulinemia, markedly diminishes stress-induced hyperglycemia in diabetic dogs. *Diabetes* 2000; 49(2): 253-62.
  55. Reynolds B, Taillade B, Médaille C, Palenché F, Trumel C, Lefebvre HP. Effect of repeated freeze-thaw cycles on routine plasma biochemical constituents in canine plasma. *Vet Clin Pathol* 2006; 35(3): 339-40.
  56. Rice JE, Ihle SL. Effects of diet on fecal occult blood testing in healthy dogs. *Can J Vet Res* 1994; 58: 134-7.
  57. Strasser A, Niedermüller H, Hofecker G, Laber G. The effect of aging on laboratory values in dogs. *Zentralbl Veterinarmed A* 1993; 40(9-10): 720-30.
  58. Tecles F, Panizo CG, Subiela SM, Ceron JJ. Effects of different variables on whole blood cholinesterase analysis in dogs. *J Vet Diagn Invest* 2002; 14: 132-9.
  59. Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW. *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Second Edition. Philadelphia: Wiley-Blackwell, 2012; pp. 3-50.

60. Van Cott EM, Lewandrowski KB, Patel S, Grzybek DY, Patel HS, Fletcher SR, Kratz A. Comparison of glass K3EDTA versus plastic K2EDTA blood-drawing tubes for complete blood counts, reticulocyte counts, and white blood cell differentials. *Lab Hematol* 2003; 9(1): 10-4.
61. Vap LM, Harr KE, Arnold JE, Freeman KP, Getzy K, Lester S, Friedrichs KR. American Society for Veterinary Clinical Pathology (ASVCP). ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical and analytical factors for hematology for mammalian and nonmammalian species, hemostasis, and crossmatching in veterinary laboratories. *Vet Clin Pathol* 2012; 41(1): 8-17.
62. Wakshlag JJ, Stokol T, Geske SM, Greger CE, Angle CT, Gillette RL. Evaluation of exercise-induced changes in concentrations of C-reactive protein and serum biochemical values in sled dogs completing a long-distance endurance race. *Am J Vet Res* 2010; 71(10): 1207-13.
63. Weiss JW, Wardrop KJ. Schalm's Veterinary Hematology, Sixth Edition. Philadelphia: Wiley-Blackwell, 2010; pp. 1083-1100.
64. Wenger-Riggenbach B, Boretti FS, Quante S, Schellenberg S, Reusch CE, Sieber-Ruckstuhl NS. Salivary cortisol concentrations in healthy dogs and dogs with hypercortisolism. *J Vet Intern Med* 2010; 24(3): 551-6.
65. Yiğitbaş T, Şentürk BA, Baskın Y, Öney M, Üstüner F. Hemolizin rutin acil biyokimya testlerine etkisi. *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2010; 8(3): 105-10.
66. Young DS. Preanalytical variables and biological variation. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DR. eds. In: *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Fifth Edition. Philadelphia: Elsevier, 2010; pp. 119-44.
67. Young DS, Bernes EW, Haverstick DM. Specimen collection and other preanalytical variables. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. eds. In: *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, Sixth Edition. Philadelphia: Saunders-Elsevier. 2007; pp. 42-61.

**Sorumlu yazar:**

Dr. Serkan SAYINER  
Yakın Doğu Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı,  
Yakın Doğu Bulvarı, Lefkoşa 99138  
Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti  
Tel: 0 392 675 10 00 / 3151  
E-posta: serkan.sayiner@neu.edu.tr







## Afyonkarahisar İlinde Saanen Keçisi Yetiştiriciliği Yapan Bir Çiftlikte Helmint Enfeksiyonlarının Araştırılması

Feride KIRCALI SEVİMLİ<sup>1</sup>, Abuzer ACAR<sup>2</sup>, Mustafa ESER<sup>3</sup>, Hatice ÇİÇEK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar-TÜRKİYE  
<sup>2</sup>Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar-TÜRKİYE  
<sup>3</sup>Anadolu Üniversitesi, Açıköğretim Fakültesi, Sağlık Programları Bölümü, Eskişehir-TÜRKİYE

**Özet:** Afyonkarahisar'da bir Saanen keçisi çiftliğinde helmint enfeksiyonlarının belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada 187 keçiden (bir yaşından küçük, dişi) toplanan dışkı örnekleri, sedimentasyon, flotasyon ve Baermann Wetzel yöntemleriyle muayene edilmiştir. Strongylid tip yumurta görülen dışkıları kültüre edilerek, cins düzeyinde larva teşhisleri yapılmıştır. İncelenen keçilerin 30'u (%16.04) çeşitli helmint türleriyle enfekte bulunmuştur. Muayenesi yapılan keçilerde *Trichuris* sp. %12.29, *Protostrongylus* sp. %3.74, *Trichostrongylus* sp. %1.60, *Moniezia* sp. %1.06 ve *Muellerius capillaris* %0.53 belirlenmiştir. Afyonkarahisar ilinde keçi helmint enfeksiyonlarına yönelik daha önce yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma sonunda helmint enfeksiyonunun durumu değerlendirildiğinde keçi yetiştiricilerinin belli aralıklarla hayvanların helmintolojik muayenelerinin yaptırılarak gerekli önlemlerin alınması gerektiği düşünülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Afyonkarahisar, helmint, Saanen keçisi

### The Investigation of Helminth Infections in a Saanen Goats Farm in Afyonkarahisar Province

**Summary:** This study was carried out to detect helminth infections in a Saanen goats farm in Afyonkarahisar. Fecal samples were collected from 187 goats (younger than one year old and female) and examined by sedimentation, flotation and Baermann Wetzel methods. The samples with strongylid eggs in faeces were cultured and the larvae were identified in the genus level. Faecal examination of goats revealed that 30 of the examined goats (16.04%) were positive for various helminth species. Infections of *Trichuris* sp., *Protostrongylus* sp., *Trichostrongylus* sp., *Moniezia* sp. and *Muellerius capillaris* were detected as 12.29%, 3.74%, 1.60%, 1.06% and 0.53%, respectively in the examined goats. Until now, there have been no data on the prevalence of helminth infections goats in Afyonkarahisar province. When the status of helminth infections in goats was evaluated in this study, it was concluded that the goat breeders should perform the helminthological examination periodically in these animals.

**Key words:** Afyonkarahisar, helminth, Saanen goats

### Giriş

Keçi, et, süt, deri, kıl ve gübresinden faydalanmak için yetiştirilen bir çiftlik hayvanıdır. Bakım ve beslenmesinin kolay olması, diğer çiftlik hayvanlarına göre; selülozu yüksek, düşük kaliteli ot ve besin maddelerini rahatlıkla değerlendirip et ve süte çevirebilmesi nedeniyle önemli bir hayvansal ürün kaynağıdır. Keçi sütü ile inek sütü karşılaştırıldığında protein yapısı bakımından birbiriyle benzerlik gösterse de, keçi sütünde, kalsiyum, potasyum, magnezyum, fosfor ve klor gibi mineraller, özellikle A vitamini, inek sütüne göre daha yüksek bulunmaktadır. Ayrıca keçi sütünün bileşiminde kazeinin az bulunması, inek sütüne göre yağ küreciklerinin daha küçük olması, sindirim rahatsızlıkları olan yetişkinler-

de, daha kolay sindirime neden olmaktadır (11). Orta ve Kuzey Avrupa' da yetiştirilen ve yüksek süt verimine sahip olan keçi ırklarının en tanınmış Saanen keçileridir. Bu ırk; döl ve süt verimi yüksek, adaptasyon kabiliyetinin iyi olması sebebiyle, Türkiye'de, yerli keçi ırklarının (Kilis ve Kıl keçisi) ıslahı için kullanılmıştır (17). Küçükbaş ruminantlarda paraziter enfeksiyonlar, özellikle gastro intestinal nematod enfeksiyonları, ekonomik kayba neden olan önemli etkenlerdendir (6,25,29). Enfekte olan hayvanlarda bu enfeksiyonların genellikle sublinik seyretmesi nedeniyle kilo alımı, süt verimi, yapağı üretiminin azalması ve karkas kalitesinin bozulduğu bildirilmektedir (13,26). Keçiler ise, fizyolojik ve beslenme davranışlarının sonucu olarak, bu parazitlere daha az maruz kalmakta fakat evcil ruminantlar içerisinde bu parazitlere karşı en duyarlı hayvanlar olarak bilinmektedir (15).

Yüksek süt verimli keçilerde, özellikle ilk doğumunu yapan ve nematod enfeksiyonuna maruz kalmış olanlar, bu enfeksiyona karşı daha düşük düzeyde bir direnç göstermekte ve bu da süt üretiminin yaklaşık olarak %20 azalmasına yol açmaktadır (7).

Bu çalışma ile, Afyonkarahisar'da, Saanen keçisi yetiştiriciliği yapan bir çiftlikte, helmint enfeksiyonlarının belirlenerek, konu ile ilgili bu ilde yapılmış herhangi bir çalışma bulunmaması nedeniyle gelecek araştırmalara katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

**Tablo 1.** Enfekte keçilerde trematod, sestod ve nematod enfeksiyonu

Enfeksiyon Durumu	Enfekte Hayvan Sayısı	%
Trematod	-	-
Sestod	1	0.53
Nematod	28	14.97
Sestod + Nematod	1	0.53

### Gereç ve Yöntem

#### Dışkı örneklerinin toplanması

Toplam 187 baş Saanen keçisinin (bir yaşından küçük, dişi) dışkı muayenesi yapılmıştır. Her hayvanın rektumundan alınan dışkılar; numaralandırılıp, kulak numaraları yazılı şeffaf naylon torbalara konulmuş, bekletilmeden laboratuvara getirilmiştir.

cins düzeyinde belirlemek amacıyla dışkı kültürü yapılmıştır (13,28).

#### Bulgular

Çalışmada muayenesi yapılan 187 baş Saanen keçisinin %16.04' ünün (30 baş keçi) çeşitli helmint türleriyle enfekte olduğu belirlenmiştir. İncelenen keçilerde en fazla nematod enfeksiyonuna rastlanırken (%14.97), bir hayvanda nematod ve sestod enfeksiyonunun beraber olduğu miks enfeksiyon gözlenmiştir. Sestod enfeksiyonu %0.53 bulunmuş, herhangi bir trematod enfeksiyonuna rastlanılmamıştır (Tablo 1).

Enfekte keçilerde tek, iki tür ve üç türle enfeksiyon oranları sırasıyla %13.36, %1.60 ve %1.06 belirlenmiştir (Tablo 2).

Yapılan dışkı muayenesinde strongylid tip yumurta görülen dışkılardan hazırlanan dışkı kültürü sonucunda, enfekte hayvanların hepsinin *Trichostrongylus* sp. ile enfekte olduğu saptanmıştır.

**Tablo 2.** Enfekte keçilerin bir veya daha fazla helmint türüyle enfeksiyonu

Enfeksiyon Şekli	Enfekte Hayvan Sayısı	%
Tek türle	25	13.36
İki türle	3	1.60
Üç türle	2	1.06

**Tablo 3.** Dışkı muayenesi ve kültürüyle enfekte keçilerde bulunan helmint türleri

Helmint Türü	Enfekte Hayvan Sayısı	%
<i>Trichuris</i> sp.	23	12.29
<i>Protostrongylus</i> sp.	7	3.74
<i>Trichostrongylus</i> sp.	3	1.60
<i>Moniezia</i> sp.	2	1.06
<i>Muellerius capillaris</i>	1	0.53

#### Dışkı örneklerinin helmintolojik yönden incelenmesi

Gerekli makroskobik muayene yapıldıktan sonra, trematod enfeksiyonlarının belirlenebilmesi için Benedek sedimentasyon, sestod ve nematod enfeksiyonlarının belirlenmesi için Fülleborn doymuş tuzlu su flotasyon ve akciğer nematod enfeksiyonlarının belirlenmesi için Baermann Wetzell yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Flotasyon yöntemiyle strongylid tip yumurta görülen dışkılar birleştirilmiş, bu aileye bağlı türleri

Enfekte olan keçilerde bulunan helmint türleri Tablo 3'de verilmiş olup, en yaygın türlerin *Trichuris* sp. (%12.29), *Protostrongylus* sp. (%3.74) ve %1.60 ile *Trichostrongylus* sp. enfeksiyonu olduğu görülmüştür.

#### Tartışma ve Sonuç

Türkiye'de koyun ve keçilerin helmint enfeksiyonları üzerine yapılan çalışmalara bakıldığında; keçilere yönelik yapılan çalışmaların, koyunlara göre daha az olduğu ve çoğu çalışmalara atfen gastro-intestinal nematod enfeksiyonlarına

daha fazla rastlanıldığı bildirilmektedir (10,20). Hoste ve Chartier (14) keçilerde klinik ve subklinik gastro-intestinal nematod enfeksiyonlarının, %2.5-10 canlı ağırlık kaybına ve %13-25 süt verimi kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir. Yüksek süt verimli keçilerde; özellikle ilk doğumunu yapan ve nematod enfeksiyonuna maruz kalmış olanlarda, bu enfeksiyona karşı daha düşük düzeyde bir direnç görüldüğü ve bunun da süt üretiminin yaklaşık olarak %20 azalttığı kaydedilmiştir (7).

Bu çalışmada bir yaşından küçük dişi Saanen keçilerinde en fazla nematod enfeksiyonu görülmüş, bunu sestod enfeksiyonu takip etmiş ve herhangi bir trematod enfeksiyonuna rastlanmamıştır. Türkiye'de Kıl keçisi (1,2,9,23), Tiftik keçisi (4,8,24), Şami keçisi (30) ve ırkları enfeksiyona göre bildirilmeyen diğer keçi çalışmalarında (5,16,27) gastro-intestinal sisteme yerleşen nematod etkenlerinin coğrafik bölgelere göre farklılık gösterdiği görülmektedir. Bu çalışmada, tespit edilen nematod yayılım oranlarının dışkı bakışı ile saptanmasına bağlı olarak Türkiye'de nekropsi bakılarında belirlenen değerlerden daha düşük bulunmuştur (1,2,5,8,16,23,24,27). Gul ve Tak (12), *Trichuris* sp. yayılımının mevsimsel faktörler başta olmak üzere, yaş ve cinsiyet ile ilişkili olduğunu, dişi hayvanların erkek hayvanlara göre, genç hayvanların ise yaşlı hayvanlara göre daha fazla enfekte olduklarını kaydetmişlerdir. Bu çalışmada en yüksek oranda rastlanılan *Trichuris* sp. (%12.29), hayvanların yaşadığı coğrafik yer farklılığı, iklim özelliği, yaşı ve beslenme koşullarının, diğer çalışmalara göre düşük (2,4,5,8,9,16,23,24,27), Yaman ve ark. (30) yaptığı çalışmaya göre yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda (2,4,12) enfeksiyon genç ve dişi hayvanlarda daha az rastlanılmıştır. Bu çalışmada da incelenen hayvanların genç ve dişi hayvan olması ve enfeksiyona düşük düzeyde rastlanılmış olması nedeniyle karşılaştırılan çalışmalar ile (2,4,12) uyumlu bulunmuştur.

Türkiye'de ve dünyanın çeşitli yerlerinde keçiler üzerinde yapılan çalışmalarda en fazla *Trichostrongylidae* türlerine rastlanıldığı bildirilmektedir (3,18-20). Bu çalışmada strongylid tip yumurta tespit edilen örneklerden dışkı kültürü sonucunda %1.60 *Trichostrongylus* sp.'ye rastlanılmıştır. Bu oranın düşük bulunması, hayvanların beslenme dönemindeki geçişten kaynaklandığı ve daha az enfektif larva alımına bağlı olduğu dü-

şünülmüştür. Bu kanı sestod enfeksiyonları için de geçerlidir. Dışkı muayenesi ya da nekropsi sonuçlarına göre Türkiye'de keçilerde sestod enfeksiyonları %10-25 (4,5,24,30) arasında bildirilmiştir. Çalışmamızda *Moniezia* sp.'nin (%1.06) düşük oranda belirlenmiş olması, arakonak oribatid akar yoğunluğunun düşük olması veya hayvanların kısa sürede az sayıda enfekte oribatid akar almış olma durumu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Türkiye'de keçi akciğer nematod etkenlerinden *Dictyocaulus filaria*, *Muellerius capillaris*, *Cystocaulus ocreatus* ve *Protostrongylus unciphorus* türleri değişik oranlarda bildirilmiştir (10). Bu çalışmada keçilerde düşük düzeyde *Protostromylylus* sp. (%3.74) ve *M. capillaris* (%0.53) kaydedilmiştir.

Afyonkarahisar'da koyun ve sığırlar üzerine yapılan önceki çalışmalarda trematod enfeksiyonlarına rastlanıldığı bildirilmiş, bu ilin çevre koşulları açısından trematod enfeksiyonlarında arakonaklık görevini gören sümüklüler için uygun olduğu kaydedilmiştir (21,22). Bu çalışmada keçilerde herhangi bir trematod enfeksiyonuna rastlanılmamıştır. Bu durum; keçilerin kısa süre önce otlatılmaya başlamış olması ve sınırlı alanda otlatılmaları nedeniyle, trematod enfeksiyonlarına arakonaklık yapan canlıları alamamalarından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Sonuç olarak bu çalışma ile Afyonkarahisar ilinde keçi helmint enfeksiyonları üzerine bilimsel veriler sağlanmıştır. Çalışmada elde edilen veriler, araştırma yöresinde keçi yetiştiriciliği açısından helmint enfeksiyonları için takip, kontrol ve mücadele yöntemlerine ihtiyaç olduğunu göstermiştir.

#### Kaynaklar

1. Akkaya H. The investigations on the Trichostrongylid nematodes of the hair goats slaughtered in İstanbul. Türkiye Parazitolojisi Derg 1998; 22(1): 77-87.
2. Altaş MG, Sevgili M, Gökçen A, Aksın N, Bayburs HC. Şanlıurfa yöresi Kıl keçilerinde sindirim sistemi nematodlarının yayılımı. Türkiye Parazitolojisi Derg 2009; 33(1): 20-4.
3. Asmare K, Sheferaw D, Aragaw K, Abera M, Sibhat B, Haile A, Kiara H, Szonyi B, Skjerve E, Wieland B. Gastrointestinal nematode infection in small ruminants in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. Acta Tropica 2016; 160: 68-77.
4. Burgu A, Gönenç B, Sarımeahmetoğlu O. Tiftik keçilerinde *Skrjabinema* ve diğer hel-

- mint enfeksiyonlarının yayılışı. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1999; 46(1):137-42.
5. Cantoray R, Aytekin H, Güçlü F. Konya yöresindeki keçilerde helmintolojik araştırmalar. Veterinarium 1992; 3(2): 27-30.
  6. Celep A. Samsun yöresi kuzu ve toklularda paraziter fauna tespiti ile kontrol ve tedavi gruplarında aylık ortalama ağırlık artışlarının belirlenmesine dair araştırmalar. Türk Vet Hek Dern Derg 1987; 57(1): 69-79.
  7. Chartier C, Etter E, Hoste H, Pors I, Malle-reau MP, Broqua C, Mallet S, Koch C, Massé A. Effects of the initial level of milk production and of the dietary protein intake on the course of natural nematode infection in dairy goats. Vet Parasitol 2000; 92(1): 1-13.
  8. Çetindağ M, Bıykoğlu G. İç Anadolu bölgesi Tiftik keçilerinde mide bağırsak nematodlarının yayılışı. Etlik Vet Mikrobiol Derg 1997; 9(1): 99-107.
  9. Dilgin N. Elazığ yöresi Kıl keçilerinde sindirim sistemi nematodları üzerinde araştırmalar. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1999; 46(1): 57-67.
  10. Doğanay A, Öge S. Türkiye'de koyun ve keçilerde görülen helmintler. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 1997; 3(1):97-114.
  11. Garip M. Keçi yetiştiriciliği. Elmas M. ed. In: Koyun-Keçi El Kitabı. Konya: Billur Yayınevi, 2013; pp. 3-25.
  12. Gul N, Tak H. Prevalence of *Trichuris* sp. in small ruminants slaughtered in Srinagar district (J&K). J Parasit Dis 2016; 40(3): 741-4.
  13. Hansen J, Perry B. The Epidemiology, Diagnosis and Control of Helminth Parasites of Ruminants. Second Edition, Nairobi: International Laboratory for Research on Animal Diseases, 1994; pp.19-21.
  14. Hoste H, Chartier C. Comparison of the effects on milk production of concurrent infection with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in high and low producing dairy goats. A J Vet Res 1993; 54(11):1886-93.
  15. Hoste H, Sotiraki S, Landau SY, Jackson F, Beveridge I. Goat nematode interaction: think differently. Trends Parasitol 2010; 26(8): 376-81.
  16. Kırçalı F. Kazan mezbahasında kesilen hayvanların kalın bağırsaklarında saptanan helmint türleri. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2004; 51(1): 41-5.
  17. Koyuncu M, Uzun ŞK, Öziş Ş. Süt keçisi ve keçi sütü. Süt Keçiciliği Ulusal Kongresi, Mayıs, 26-27, 2005; İzmir-Türkiye.
  18. Ma J, He SW, Li H, Guo QC, Pan WW, Wang XJ, Zhang J, Liu LZ, Liu W, Liu Y. First survey of helminths in adult goats in Hunan province China. Trop Biomed 2014; 31(2): 261-9.
  19. Radavelli WM, Pazinato R, Klauck V, Volpato A, Balzan A, Rossett J, Casarotto CJ, Lopes LS, Kessler JD, Cucco DC, Tonin AA, Da Silva AS. Occurrence of gastrointestinal parasites in goats from the Western Santa Catarina, Brazil. Braz J Vet Parasitol Jaboticabal 2014; 23(1): 101-4.
  20. Sevimli F. Checklist of small ruminant gastrointestinal nematodes and their geographical distribution in Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2013; 37(4): 369-79.
  21. Sevimli FK, Kozan E, Köse M, Eser M. Dışkı muayenesine göre Afyonkarahisar ili koyunlarında bulunan helmintlerin yayılışı. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2006; 53(2):137-40.
  22. Sevimli FK, Köse M, Kozan E, Doğan N. Afyon ili sığırlarında Paramphistomosis ve Distomatosisin genel durumu. Türkiye Parazitolojisi Derg 2005; 29(1): 43-6.
  23. Şenlik B, Diker Aİ, Sönmez G, Akyol V. Güney Marmara bölgesindeki Kıl keçilerinde nematod türlerinin yayılışı. Türkiye Parazitolojisi Derg 2001; 25(2): 170-3.
  24. Umur Ş. Ankara yöresi Tiftik keçilerinde sindirim sistemi helmintleri. Ankara Üniv Vet Fak Derg 1991; 38(3): 322-38.
  25. Umur Ş, Arslan MO. Effect of doramectin on gastrointestinal nematodes and weight gains of naturally infected lambs. Türkiye Parazitolojisi Derg 2000; 24(1): 67-72.
  26. Umur Ş, Köroğlu E, Güçlü F, Tınar R. Nematoda. Tınar R. ed. In: Veteriner Helmintoloji. Bursa: Dora Yayınları, 2011; pp. 258-70.
  27. Umur Ş, Yukarı BA. Seasonal activity of gastro-intestinal nematodes in goats in Burdur region, Turkey. Turk J Vet Anim Sci 2005; 29(2): 441-48.
  28. Van Wyk JA, Cabaret J, Michael LM. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. Vet Parasitol 2004; 119(4): 277-306.
  29. Vural A, Doğru C, Onar E, Özkoç Ü. Erzurum bölgesi kuzularında paraziter fona tes-

- biti ve parazitlerin et verimine olan etkileri. Pendik Vet Mikrobiyol Derg 1980; 12(1): 27-47.
30. Yaman M, Gökçen A, Güzel M. Solunum sistemi ile ilgili klinik belirtiler gösteren Şami keçilerinde (Shami goat-Damascus) dışkı yoklaması sonuçları. Türkiye Parazitol Derg 2006; 30(4): 313-6.
31. Zvinorova P, Halimani TE, Muchadeyi FC, Matika O, Riggio V, Dzama K. Prevalence and risk factors of gastrointestinal parasitic infections in goats in low-input low-output farming systems in Zimbabwe. Small Rumin Res 2016; 143: 75-83.

**Sorumlu yazar:**

Doç. Dr. Feride Kırçalı SEVİMLİ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi Parazitoloji ABD.  
ANS Kampüsü 03200-  
Afyonkarahisar-TÜRKİYE  
E-posta: feridekircali@aku.edu.tr





***Corynebacterium pseudotuberculosis* Case in a Boer Goat X Turkish Hair Goat Crossbred**

Gülşah AKGUL<sup>1</sup>, Serpil KAHYA DEMIRBILEK<sup>2</sup>, Özgür Yaşar ÇELİK<sup>1</sup>, Kıvanç IRAK<sup>3</sup>,  
Mustafa Barış AKGUL<sup>4</sup>, Seyrani MERSİN<sup>5</sup>

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

<sup>2</sup>University of Uludag, Faculty of Veterinar, Department of Microbiology, Bursa-TURKEY

<sup>3</sup>University of Siirt, Faculty of Veterinary, Department of Biochemistry, Siirt-TURKEY

<sup>4</sup>University of Siirt, Faculty of Veterinary, Department of Surgery, Siirt-TURKEY

<sup>5</sup>University of Siirt, Faculty of Veterinary, Department of Artificial Insemination, Siirt-TURKEY

**Summary:** In this case report, it is intended to report the results of the clinical examination and microbiological analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection which was detected (determined) in a goat. At Goat Application and Research Center at the University of Siirt, after the clinical examination carried out on a two-year-old female Boer goat x Turkish Hair goat crossbred, orange sized lymph nodes in a fluctuating viscosity were found in the right submandibular and left prescapular lymph nodules. Cream and slightly greenish malodorous content was taken from the lump from puncture. Swab sample taken from the content was sent to the University of Uludag, Faculty of Veterinary, Microbiology Laboratory in Stuart transport medium by cold chain. Swabs were inoculated onto % 7 sheep blood agar, and incubated at 37°C for 24-48 hours in both aerobic and microaerophilic conditions. After the microscopic morphology of the colonies was examined, biochemical tests were performed according to the suspected factors and the isolate of suspected bacteria was defined as *Corynebacterium pseudotuberculosis* which was first isolated from Boer goat x Turkish Hair goat crossbred.

**Key words:** Boer goat, *C. pseudotuberculosis*, Turkish Hair goat

**Bir Boer-Kıl Keçisi Melezi Keçide *Corynebacterium pseudotuberculosis* Olgusu**

**Özet:** Bu olgu sunumunda bir keçide tespit edilen *Corynebacterium pseudotuberculosis* enfeksiyonunun klinik muayene ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarının rapor edilmesi amaçlanmıştır. Siirt Üniversitesi Keçi Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde ki iki yaşlı dişi Boer x Kıl Keçisi melezi bir keçide yapılan klinik muayeneler sonucunda sağ submandibular ve preskular lenf yumrusunda fluktuasyon kıvamlı portakal büyüklüğünde bir şişkinlik saptandı. Şişkinliğin punksiyonu yapıldığında krema kıvamında hafif yeşilimsi pis kokulu bir içerik alındı. İçerikten alınan svap örneği Stuart transport besiyeri içinde soğuk zincirde Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na gönderildi. Alınan svap örnekleri %7 koyun kanı katılmış kanlı agarına ekildi ve hem aerobik hem de mikroaerofilik koşullar altında 24-48 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. Kolonilerin mikroskopik morfolojileri incelendikten sonra kuşku edilen faktörlere göre biyokimyasal testler yapıldı. Şüpheli bakteri izolatu *Corynebacterium pseudotuberculosis* olarak tanımlandı ve ilk kez Boer x Kıl keçisi melezinde ortaya çıktığı görüldü.

**Anahtar kelimeler:** Boer keçisi, *C. pseudotuberculosis*, Kıl keçisi

**Introduction**

Caseous lymphadenitis (CLA) is a chronic disease of sheep and goats caused by *C. pseudotuberculosis* characterized by the formation of apshenian superficial or visceral lymph nodes (6,8). The disease causes economical loss with a decrease in the quantity and quality of wool obtained from sheep and goats, resulting in a decrease in carcass quality resulting from apselers of infected carcasses and a decrease in milk yield (8). Sources of infection are pus and

infected material released from the lymph nodes in infected animals. The disease spreads from infected animals and / or from other contaminated material to other herds (11).

*Corynebacterium* species are pleomorphic Gram positive, catalase positive, phospholipase -D (PLD) exotoxin-secreting, non-spore forming, facultative anaerobic and inert bacteria classified within the family of Corynebactericea, which includes *Corynebacterium spp.*, *Mycobacterium spp.* and *Nocardiaspecies* that called CMN group (*Corynebacterium spp.*, *Mycobacterium spp.* and *Nocardiaspp.*). *C. pseudotuberculosis* colonies having the properties of being cream-



colored and easily degradable, and forming a small, narrow hemolysis space; and the strains isolated from sheep and goats are nitrate negative (11,12).

In recent years, studies have been reported on the use of PCR methods in the etiologic diagnosis of CLA (3,10). In addition, it has also been reported that the use of ELISA-based diagnostic kit is effective in the control and eradication of caseous lymphadenitis, and interferon  $\gamma$ -ELISA is more sensitive than ELISA test and is not affected by antibodies induced by immunization (7,9). The antibiotic treatments for causes of disease are ineffective and once infected, the animal remains infected throughout life (15).

CLA has been reported to be widespread throughout the world for more than a century, and is also reported to be widespread in Turkey, and a study published in 2012 reported a 63% incidence in small ruminants (3,6,14).

In line with the literature studied, thinking that each study on this subject done in our country will help to obtain new information on diagnosis and treatment of the disease, we intended to contribute to the diagnosis of the disease and to the prevalence in our country by reporting clinical examination and microbiological analysis of lymphadenitis case detected for the first time in a two years old female Boer goat x Turkish Hair goat crossbred.

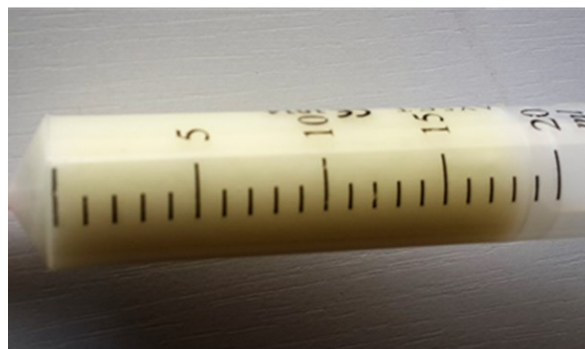
#### **Case History**

##### **Case Description**

After the clinical examination carried out on a two-year-old, female Boer goat x Turkish Hair goat crossbred in Goat Application and Research Center at the University of Siirt, a fluctuating viscous orange-sized lump was detected in the right submandibular and prescapular lymph nodules. Cream and slightly greenish malodorous content was taken off by puncture of the lump ( Figure 1). The blood sample was taken from vena jugularis of the patient to the sterile disposable biochemistry tubes and the patient's hematologic findings were obtained with automatic blood cell counter (VETSCAN HM5®, Abaxis Inc., USA). Swab samples of the content were sent to University of Uludag, Faculty of Veterinary, Department of Microbiology Laboratory, for examination in the Stuart transport medium with cold chain.

##### **Clinical Findings**

The body temperature of 39.3°C, the respiratory rate of 78 breaths/min, heart rate of 108 beats/



**Figure 1:** Creamy and slightly greenish malodorous content was taken from the lump by puncture.

min were determined by the clinical examination of the patient and it was observed that the right submandibular and prescapular lymph nodules were in the size of an orange among the palpable lymph nodes (Figure 2). In the respiratory system examination, it has been determined that cough assessment is positive and sounds of sclerosis were heard in the lung auscultation.

##### **Hematological Findings**

Leukocytosis and neutrophilia were detected by hematological examination and it was determined that the erythrocyte and thrombocyte index were normal.



**Figure 2:** Image of the lump detected in the right submandibular and prescapular lymph nodeles by clinical examination.

### Microbiological Findings

The suspected lymph nodes were sampled. Creamy slightly greenish malodorous content was taken off by puncture of the lump. Swab sample taken from the content in Stuart transport medium with cold chain was sent to the University of Uludag, Faculty of Veterinary, Microbiology Laboratory. The swab was cultured on 7% sheep blood agar at 37°C for 48h. After incubation; B-hemolytic, small, white, easily degradable colonies were observed in the agar. After obtaining a pure culture from the suspected colonies, Gram positive coryneform looking bacteria were detected by staining, bacterial colonies were characterized and suspected colonies were tested with API systems. Suspected colonies were positive for catalase, urease, maltose and glucose, but by inhibiting beta hemolysin of *Staphylococcus aureus* which were obtained from the culture collection of University of Uludag, Faculty of Veterinary, Department of Microbiology, and were negative for trehalose and xylose considered as *C. pseudotuberculosis* (12).

### Discussion

Caseous lymphadenitis (CLA) has been widely observed all over the world more than a century and there are studies showing that the disease is also common in Turkey (6,14). In Siirt region, the goat and sheep population is higher and also the case presented in this study has been seen in this region, thus we think that the rate of incidence of CLA is higher in the regions where the small cattle population is higher.

In various studies, it has been reported that the CLA has two forms, mainly superficial and visceral (1,3,8). In those studies, it has been reported that mediastinal and visceral abscess rates for all cases are approximately between 3% and 25% (1,2). In this presented case superficial form of CLA has been reported. It has been detected by detailed clinical examinations a fluctuating, orange-sized content in the right submandibular and prescapular lymph nodules which has slightly greenish, malodorous, creamy content in it, and it was consistent with the superficial form of CLA. Other studies demonstrated that *C. pseudotuberculosis* was not the only bacterium isolated, and there were some other bacteria (1). For example, the distinguishing from actinobacillosis, which is limited to the head region, was done by the color and consistency, after the macroscopic examination

of the content, and the separation from simple abscess was done by defining suspicious bacterial isolates as *C. pseudotuberculosis*, with the microbiological examination.

There are many problems encountered in the control of CLA, because the epidemiology, pathogenesis and immunogenesis of the disease are still not fully known (4,5). Because of the fact that the bacteria are in a thick capsule surrounding the abscess, this generally leads to failure of the treatment (1).

Consequently, it has been reported that the most important virulence factor is phospholipase D (PLD) in *C. pseudotuberculosis* strains, which cause classic caseous lymphadenitis in sheeps. Also it has been reported that PLD negative *C. pseudotuberculosis* strains were defined as "toxminus", as a result of chromosomal deletions or mutations of PLD genes. And, those cannot create abscesses specifically for classic CLA in lymph nodes that were identified (4). So the basic and golden diagnosis of *C. pseudotuberculosis* is culture, but it is strengthened with molecular and serological techniques. For example; exotoxin ELISA, sonicated ELISA and dot-blot ELISA techniques were found to be useful screening tests for the routine diagnosis of CLA (5). Also, *C. pseudotuberculosis* has various sensitivity to different antimicrobials (13). For effective control of CLA, it is initially required to separate the infected animals identified in the herd and the vaccination of the healthy animals must be done (2). Once the sick animals are separated, precautions should be taken to comply with hygiene rules and animals found to be diseased, should be sent to slaughter house in the most appropriate time. In this presented case, when the final diagnosis established after microbiological examination and definitive diagnosis, the animal with CLA was separated from the herd as soon as possible and it was sent to slaughter house.

For the case presented in this report, we think that the isolated strain may be a "toxminus" strain and the frequently encountered CLA cases are still a problem in our country and that it is needed to give more weight to the vaccination and eradication studies on this disease. It is also important that this case was seen for the first time on a Boer goat x Turkish Hair goat cross breed. After this case, we plan to expand our work with ongoing cases and prepare a new study involving molecular and serological tests.

Since the effect of the disease is very common across the world and also among the sheeps in our country, it is necessary to concentrate on the studies and to detect toxins, determine the antimicrobial susceptibility and eradication in accordance with all these results.

#### References

1. Adebbe A, Sisay Tessema T. Determination of *Corynebacterium pseudotuberculosis* prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of isolates from lymph nodes of sheep and goats at an organic export abattoir, Modjo, Ethiopia. *Lett Appl Microbiol* 2015; 61(5): 469-79.
2. Al-Gaabary MH, Osman SA, Oreiby AF. Caseous lymphadenitis in sheep and goats: Clinical, epidemiological and preventive studies. *Small Ruminant Res* 2009; 87(1): 116-21.
3. Cetinkaya B, Karahana M, Atila E, Kalina R, Baereb TD, Vanechoutteb M. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. *Vet Microbiol* 2002; 88(1): 75-83.
4. Dorella FA, Pacheco LG, Seyffert N, Portela RW, Meyer R, Miyoshi A, Azevedo V. Antigens of *Corynebacterium pseudotuberculosis* and prospects for vaccine development. *Expert Rev Vaccines* 2009; 8(2): 205-13.
5. İlhan Z. Koyunlarda *Coynebacterium pseudotuberculosis*'in ELISA ve Dot-Blot ELISA ile teşhisi. *Turk J Vet Anim Sci* 2003; 27(6): 1327-33.
6. İlhan FS. Koyunların kazeöz lenfadenitis enfeksiyonunda patolojik bulgular. *Van Vet J* 2008; 19(1): 23-8.
7. Kaba J, Kutschke L, Gerlach GF. Development of an ELISA for the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections in goats. *Vet Microbiol* 2008; 78(2): 155-63.
8. Kumar J, Singh F, Tripathi BN, Kumar R, Dixit SK, Sonawane GG. Epidemiological, bacteriological and molecular studies on caseous lymphadenitis in Sirohi goats of Rajasthan. *Trop Anim Health Pro* 2012; 44(7): 1319-22.
9. Menzies PI, Hwang Y, Prescott JF. Comparison of an interferon-gamma to a phospholipase D enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in experimentally infected goat. *Vet Microbiol* 2004; 100(1): 129-37.
10. Pacheco LGC, Roberta RP, Thiago LPC, Fernanda AD, Robson CB, Renato C, Marcilio NLF, Sergio CO, Roberto M, Francisco SFA, Anderson M, Vasco A. Multiplex PCR assay for identification of *Coynebacterium pseudotuberculosis* from purecultures and for rapid detection of this pathogen in clinical samples. *J Med Microbiol* 2007; 56(4): 480-6.
11. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC. *Corynebacterium* species. Fitzpatrick ES, Hartigan PJ. eds. In: *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. UK: John Willey& Sons LTD, 2004; pp. 207-12.
12. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR. *Clinical Veterinary Microbiology*. First Edition. London: Mosby International Limited, 1994; pp. 820-5.
13. Sakmanoğlu A, Hadimli HH, Erganiş O, Pınarkara Y, Sayın Z, Kav K. Koyunlardan izole edilen *Corynebacterium pseudotuberculosis* suşlarının identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Eurasian J Vet Sci* 2015; 31(1): 116-21.
14. Ural K, Haydardedeoglu AD, Cedden F, Guzel M, Ozyildiz Z, Cantekin Z. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in Saanen×Kilis crossbred (White) goats in Ankara, Turkey and effective kanamycin treatment: A prospective, randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *Small Ruminant Res* 2008; 77(1): 84-8.
15. Voigt K, Baird GJ, Munro F, Murraya F, Brülisauer F. Eradication of caseous lymphadenitis under extensive management conditions on a Scottish hill farm. *Small Ruminant Res* 2012; 106(1): 21-4.

#### Correspondence

Gülşah AKGÜL  
University of Siirt, Faculty of Veterinary,  
Department of Internal Medicine, Siirt- TURKEY  
Phone: 0484 223 3255  
E-mail: gulsahvet@hotmail.com

## Yazım Kuralları

1. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde veteriner bilimlerini ilgilendiren alanlarda orijinal araştırmalar, olgu sunumları, araştırma notları, kısa bildiri, derleme ve editöre mektup yayımlanır.
2. Bütün eserler yayın kurulunun ve danışma kurulunun onayından geçtikten sonra yayımlanır.
3. Dergide yayımlanacak yayımlar için resmi dil Türkçe'dir. İngilizce yazılmış eserler de yayımlanabilir. **İngilizce hazırlanmış makalelerin yayımlanmasına öncelik verilir.**
4. Yayımlar A4 tipi formatta, çift aralık, Arial ve 10 punto olarak yazılmalıdır. Her kenardan 2.5 cm boşluk bırakılarak, sayfaların sağ altına numara verilmelidir. Resimler, şekiller ve kaynaklar dâhil orijinal makaleler 14, derlemeler 14, olgu sunumları, araştırma notu ve kısa bildiriler 7 sayfayı geçmemelidir.
5. Daha önce kongrelerde tebliğ edilmiş ve özeti yayımlanmış çalışmalar, bu özelliği belirtilmek üzere kabul edilebilir. Araştırma herhangi bir kuruluş tarafından desteklenmiş ise makalenin başlığının son kelimesi üzerine yıldız (\*) konularak kapak sayfasında dipnot olarak belirtilir.
6. Etik kurul onayı gerektiren çalışmalarda Etik Kurul onayı alınan kurumun adı ve onay numarası Gereç ve Yöntem kısmında belirtilmelidir.
7. Araştırma makalesi; Kapak Sayfası - Türkçe Özet - Anahtar kelimeler - İngilizce Özet (Summary) - İngilizce Anahtar Kelimeler (Key words) - Giriş - Gereç ve Yöntem - Bulgular - Tartışma ve Sonuç - Teşekkür - Kaynaklar - Tablo ve Şekiller - Sorumlu yazar (Correspondence) bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir. Metin içindeki tüm başlıklar koyu yazılmalıdır. Metin içinde paragraf girintisi yapılmamalı, devamlı satır numarası verilmelidir. Sayfa numaraları sağ alt köşeye yazılmalıdır.
8. Kapak sayfasında sadece Türkçe makale başlığı (koyu ve ilk harfleri büyük), İngilizce başlık (ilk harfler büyük), kısa başlık (40 karakteri geçmemeli ve ilk kelimenin ilk harfi büyük, diğerleri küçük olarak yazılmalıdır), yazar adları (unvansız), çalıştıkları kuruma ait bilgiler (soyadı üstüne numara konulup dipnot olarak, unvansız) verilmelidir.
9. Türkçe ve İngilizce özetler kapak sayfasından sonraki sayfaya yazılmalıdır. Özet kısımları makale başlığı, çalışmanın amacı, gereç ve yöntem, bulgular ve çalışmada varılan sonuçları içerecek şekilde hazırlanmalıdır. Özet metni, makale başlığı (kelime baş harfleri büyük, diğer harfler küçük olacak şekilde ve ortalı ve bold biçimde) yazıldıktan sonra başlığın altında en fazla 250 kelime olmalıdır. Paragraf yapılmamalıdır. Özet kısmında kısaltma kullanılacaksa, kısaltmalar ilk kez kullanıldığında açık olarak yazılmalı, daha sonra özet içinde hep aynı kısaltma kullanılmalıdır. İngilizce Özet (Summary): İngilizce makale başlığı (kelime baş harfleri büyük, diğer harfler küçük olacak şekilde ve ortalı ve bold biçimde) yazıldıktan sonra başlığın altında en fazla 250 kelime olmalıdır. Paragraf yapılmamalıdır. Özet kısmında kısaltma kullanılacaksa, kısaltmalar ilk kez kullanıldığında açık olarak yazılmalı, daha sonra özet içinde hep aynı kısaltma kullanılmalıdır. Anahtar Kelimeler: Türkçe ve İngilizce olarak özetlerin altına, alfabetik sıra ile ilk kelimenin baş harfi büyük, diğerleri küçük harfle (özel isimler baş harfi büyük) en fazla 5 kelime olarak yazılmalıdır. Anahtar kelimelerin Türkiye Bilim Terimleri'nden seçilmesine özen gösterilmelidir.
10. Giriş bölümünde çalışma ile doğrudan ilişkili kısa literatür bilgisi verilmeli, bu kısmın son paragrafına çalışmanın hipotezi ve amacı yazılmalıdır. Bu bölüm 2 sayfayı geçmemelidir.
11. Kullanılacak alt başlıklar paragraf girintisi yapılmadan *italik*, ikinci alt başlıklar normal yazı tipinde olacak şekilde hazırlanmalıdır.
12. Bulgular; kısa, öz ve anlaşılır bir şekilde yazılmalıdır. Tablolarda gösterilen verilerin tekrar yazılmasından kaçınılmalıdır. Kullanılacak alt başlıklar paragraf girintisi yapılmadan *italik*, ikinci alt başlıklar normal yazı tipinde olacak şekilde hazırlanmalıdır. Tablo ve şekillerin metinde geçeceği yer, altı ve üstü çizgili olarak belirtilmelidir.
13. Tartışma ve Sonuç bölümüne, çalışmadan çıkarılan sonuçlar ve yargıları içeren kısa bir sonuç paragrafı eklenmelidir.
14. Kısaltmalar ilk kez kullanıldığında açık olarak yazılmalı daha sonra makale içinde hep aynı kısaltma kullanılmalıdır. Ondalık ifadeler nokta kullanılmalıdır.
15. Yazı içinde geçen tür isimleri ve anatomik terimler gibi Latince ifadeler *italik* karakterle yazılmalıdır. Tüm ölçü birimleri SI (*Système Internationale*)'e göre verilmelidir.
16. Tablo ve şekil başlıklarının yalnızca ilk harfleri büyük olmalıdır. Tablolar kaynaklar kısmından sonra, her bir tablo ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tablo başlıkları **Tablo 1.** şeklinde numaralandırılmalıdır. Tablolarda iç ve yan kılavuz çizgiler kullanılmamalıdır. Tablo yazısı tablonun üstüne yazılmalı, tabloda geçen kısaltmalar tablo altında belirtilmelidir.
17. Her resim, grafik ve çizim; şekil olarak kabul edilip **Şekil 1.** gibi yazılmalı, her biri ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir.
18. Resimler 300dpi çözünürlükte olmalıdır. Resimlerin fotokopisi kabul edilmemektedir. Kullanılan resimlerin dergide renkli basılmasının istenilmesi durumunda ücret talep edilecektir.
19. Derlemeler, orijinal olması, en son yenilikleri içermesi, yazarların konu ile doğrudan ilişkili **en az 3 adet** çalışmalarının olması ve bunların derleme içinde kullanılması durumunda yayınlanmak üzere kabul edilebilecektir. Derlemeler kapak sayfası, Türkçe Özet - Anahtar kelimeler - İngilizce Özet (Summary) - İngilizce Anahtar Kelimeler (Key words) - Giriş, konunun kendine ait alt başlıkları, Sonuç, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller ve Sorumlu yazar (Correspondence) bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir. Derlemelerde kullanılacak alt başlıklar paragraf girintisi yapılmadan *italik*, ikinci alt başlıklar normal yazı tipinde olacak şekilde hazırlanmalıdır.
20. Olgu Sunumları, Türkçe Özet - Anahtar kelimeler - İngilizce Özet (Summary) - İngilizce Anahtar Kelimeler (Key words) - Giriş - Olgu(lar) - Tartışma ve Sonuç - Kaynaklar - Tablo ve Şekiller ve Sorumlu yazar (Correspondence) bölümlerini içermelidir. Kullanılacak alt başlıklar paragraf girintisi yapılmadan *italik*, ikinci alt başlıklar normal yazı tipinde olacak şekilde hazırlanmalıdır.
21. Metin içinde belirtilen tüm kaynaklar "Kaynaklar" listesinde yer almalıdır. Kaynaklar yazılırken alfabetik sıraya konulmalı, noktalama işaretlerine örneklerde gösterildiği şekilde dikkat edilmeli ve yazı içinde her kaynağa ait numara ilgili olan cümlelerin sonunda parantez içinde mutlaka belirtilmelidir. Dergi kısaltmaları *Index Medicus* ile uyum içerisinde olmalıdır. Araştırma makalelerinde en fazla 30, derlemelerde 45 ve olgu sunumlarında ise 15 kaynak kullanılmalıdır.
22. Kaynaklar;
  - 22.1. Kaynak süreli yayın ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, makale ismi, dergi ismi, yıl, cilt (olması durumunda), sayı ve sayfa numaraları belirtilmelidir. Örnek: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaid DE, McDermott PF. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from Turkey-associated sources. Appl Environ Microbiol 2008; 74(16): 5038-46.
  - 22.2. Kaynak editörlü kitap bir bölüm ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, bölüm ismi, editör soyad(lar)ı ve isim(ler)in baş harfi, kitap ismi, kaçınıcı baskı olduğu, baskı yeri, yayınevi adı, basım yılı ve sayfa numara(lar)ı belirtilmelidir. Örnek: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Kruisbeek AM, Marguiles DH. eds. In: Current Protocols in Immunology. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
  - 22.3. Kaynak kitap ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, kitap ismi, kaçınıcı baskı olduğu, baskı yeri, yayınevi adı, basım yılı ve sayfa numara(lar)ı verilmelidir. Örnek: Fleiss JL. Statistical Methods for Rates and Proportions. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103.
  - 22.4. Kaynak editörlü kitap ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, eds kısaltması, kitap ismi, kaçınıcı baskı olduğu, baskı yeri, yayınevi adı, basım yılı ve sayfa numara(lar)ı verilmelidir. Örnek: Balows A, Mousier WJ, Herramafl KL, eds. Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
  - 22.5. Kaynak kongre bildirisi ise; yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, bildiri ismi, kongre adı, kongrenin yapıldığı ay ve tarih, yıl, şehir ve ülke bilgileri verilmelidir. Örnek: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; Izmir-Türkiye.
  - 22.6. Tezler;
  - 22.7. Kaynak tez ise; yazarın soyadı ve isminin baş harfi, tezin ismi, tezin türü, enstitü ismi, şehir, tezin kabul yılı ve sayfa numara(lar)ı belirtilmelidir. Örnek: Erdem V. Köpek göz hastalıklarında klinik oftalmoskopik ve ultrasonografik bulguların değerlendirilmesi, Doktora tezi, Ankara Üniv Sağlık Bil Ens, Ankara 2003; s. 1-2.
  - 22.8. Kaynak internete bulunan bir web sitesi ise, yazar(lar)ın soyad(lar)ı ve isim(ler)inin baş harf(ler)i, (yazar adı yoksa web sitesinin veya kaynağının adı) yazılır. Daha sonra

sırasıyla yılı, makalenin adı, varsa yayıncı, internet adresi ve erişim tarihi belirtilir. Kaynak olarak web siteleri kullanılacak ise sınırlı sayıda olmasına ve resmi web sitelerinin kullanılmasına özen gösterilmelidir.

Örnek: Mevzuatı Geliştirme ve Yayın Genel Müdürlüğü Mevzuat Bilgi Sistemi, 30.06.2013, Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği, Türkiye Cumhuriyeti Başbakanlık, <http://www.mevzuat.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=7.5.18532&MevzuatIliski=0&sourceXmlSearch=katki>, Erişim tarihi: 23.02.2016.

23. Eserler dergide yayımlandıktan sonra, bütün sorumluluk sahiplerine aittir.

24. Yazılar gönderilirken son kontrol listesi izlenecek ve yayın hakkının devri sözleşmesi tüm yazarlarca isim sırasına göre imzalanacaktır. **Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmayan ve yayın hakkı devir sözleşmesi bulunmayan yayınlar işleme alınmayacaktır.**
25. Yazılar, [ercvet@gmail.com](mailto:ercvet@gmail.com) adresine gönderilmelidir. Yazışmalar için, makale sonunda ayrı bir sayfada, yazar adı, unvanı yazılıp, haberleşme adresi, telefon, fax numarası ve e-mail adresi yazılmalıdır.

## Instructions to Authors

1. The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University publishes original papers, short communications, case reports, letter to editor and original review articles related to the field of Veterinary Medicine.
2. Editorial board and advisory committee must prove all manuscripts before considered publication.
3. Formal language of manuscripts is Turkish. However, manuscripts in English, German, and French are also accepted. And the beginning of the manuscript must contain the Turkish and English summaries.
4. Original manuscripts must be typed in Word program and e-mail to [ercvet@gmail.com](mailto:ercvet@gmail.com). Manuscript must contain a separate page (as a last page of the manuscript) including the corresponding author's name, his/her title, communication address, phone number, fax number, and e-mail address.
5. Original papers and reviews should normally not exceed 12 and 15 pages respectively. Case reports, research notes and short communications also should not exceed 6 pages including tables and figures. Manuscripts must be printed A4 papers. Font size must be 10 pt (Arial) and legible. Manuscripts must be type written with double spacing and wide margins (3cm each side). All pages must be numbered consecutively.
6. Studies were partially presented in a national or international meeting or published as an abstract in any journal can be published with indication of this status at the bottom of the page (footnote). In the same page, information should be included on any institutions or individuals who financially contributed to the work. This information must be showed in the running title of the manuscript as an asterisk also seen at the bottom of the page (footnote).
7. Copyright Release form must be filled and signed by all authors. Final checklist should also be followed.
8. The manuscript must be submitted with Animal Care and Use Committee report if the work requires.
9. Manuscript must be organized as follows: Summary (Turkish and English), Key Words, Introduction, Material and Methods, Results, Discussion and Conclusion, Acknowledgements, References, Tables, Figures, Charts, Graphs and Photographs and their explanations. All titles of sections must start with capital letter and be bold. Paragraphs in the text should not indented, but lines should be numbered.
10. The cover page should be supplied as a separate page and include: running title, max 40 characters in English with the first letters capital, the name(s) of the author(s) without titles, affiliations and complete postal address of all author(s). Superscript numbers should be given to the surnames of authors as affiliation information.
11. The title page must contain the Turkish and English summaries (up to 200 words) with no paragraph and not more than five Key Words in Turkish and English. Key Words must be placed below summary with an alphabetical order. Only the first Key Word must start with a capital letter.
12. Abbreviations should be defined when first used and be consistent throughout the text.
13. Names of tables and figures must be given in a separate page. Through the manuscript, tables and figures must be replaced a proper place and contain descriptive information related to the table or figure. Descriptive information must be placed above the tables but below the figures in the text with any explanations or footnotes below. Title of figure and photographs must be numbered in order as figure 1, figure 2 or so. Each page must contain no more than one figure or table. Figures must be suitable for high quality print. Line drawings should be printed by laser or inkjet printer. Lines in tables should be hidden.
14. All cited works in the text must be present in literature section. References must be assembled alphabetically. In the text, they should be referred with numbers. Places must be indicated within the text. Periodicals, books, multi author books, chapter of a book and other references must be given as follows: Journal titles should be abbreviated according to the Index Veterinarius.
15. Species names and anatomical terms in Latin should be italicized. All measurement specifications must follow the SI (Système Internationale) units.
16. Photographs must be of good quality, black and white and printed on glossy paper. Photocopies of photographs are not acceptable. Color photographs are accepted but the contributor must meet money charge. Also, if color photographs are desired or necessary all needed material must be provided. Photographs should be clearly marked on the reverse side with the number, author's name and orientation (top), use a soft pencil.
17. Review articles are considered for publications if they are original and contain recent developments. Reviews contain title as in research manuscripts, summary, introduction, subtitles appropriate for the review, result and literature cited. Key Words are also added.
18. Case reports must contain Summary, Key Words, Introduction, Case(s), Results and Discussion, and Literature cited.
19. Literature;
- 19.1. If the source is a periodical, citation must be done as shown below example: Kaldhane P, Nayak R, Lynne AM, Dvaid DE, McDermott PF, Logue CM, Foley SL. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from turkey-associated sources. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74(16): 5038-46.
- 19.2. If the source is from chapter of a book with an editor, citation must be done as shown below example: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Kruisbeek AM, Marguiles DH. eds. In: *Current Protocols in Immunology*. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
- 19.3. If the source is a book, citation must be done as shown below example: Fleiss JL. *Statistical Methods for Rates and Proportions*. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103
- 19.4. If the source is whole book with an editor, citation must be as below example: Balows A, Mousier WJ, Herramafll KL, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
- 19.5. If the source is from meeting, citation must be done as shown below example: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; İzmir-Türkiye.
- 19.6. If the source is from a thesis, citation must be done as shown below example: Erakinci G. Investigation of Antibodies Against Parasites in Blood Donors. PhD Thesis. Ege Univ. Institute of Health Sciences. Parasitology Program, İzmir-Turkey, 1993.
- 19.7. The source is a website on the internet, the initials of the authors' surnames and names (if there is no name of author the name of the website or of the source) are written. Then the years and title of the article, Publisher (if any), internet address and arrival date are specified in this order. If websites are to be used as source, care must be taken to keep it limited and the website to be official. Example: TUIK. Hayvancılık İstatistikleri. [http://www.tuik.gov.tr/hayvancilik\\_app/hayvancilik\\_zul](http://www.tuik.gov.tr/hayvancilik_app/hayvancilik_zul); Accessed Date: 14.03.2010.
20. Once the studies one published in the journal, all the responsibility belongs to the authors.

---

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

---

Makale Türü/ Article Type:

.../.../20..

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

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

Makale Başlığı/Article

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

Sayın Editör,

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

Dear Editor,

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

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

Yazar/ Yazarların Adı

Author's/Authors' Printed Name

1).....İmza/Signature:.....

2).....İmza/Signature:.....

3).....İmza/Signature:.....

4).....İmza/Signature:.....

5).....İmza/Signature:.....

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

---

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

---

## SON KONTROL LİSTESİ

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

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



## FINAL CHECKLIST

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

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