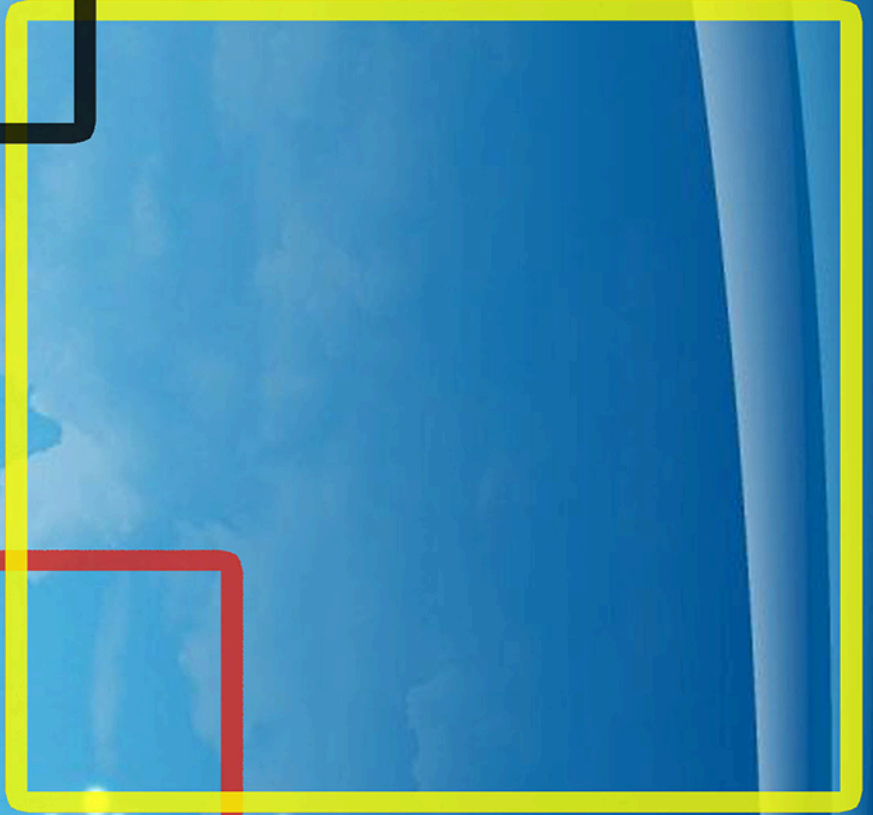
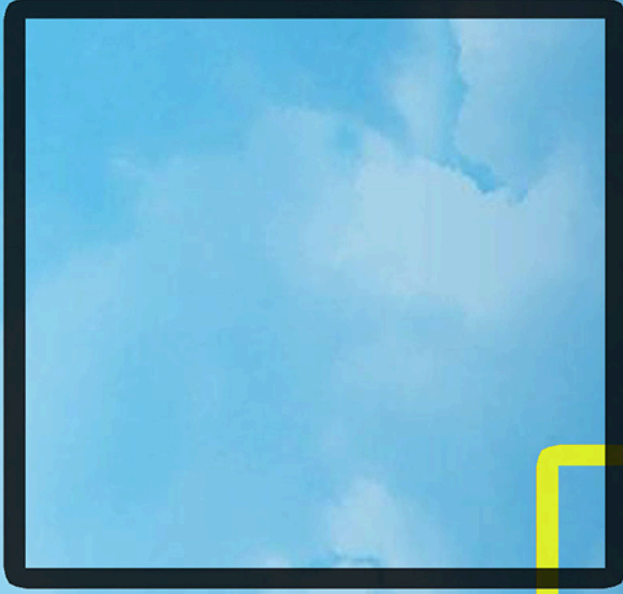




VAN VETERINARY JOURNAL

ISSN : 2149-3359
e-ISSN : 2149-8644





March - 2019



VAN VETERINARY JOURNAL

This journal previously published as: **Yuzuncu Yil Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**

ISSN: 2149-3359

E-ISSN: 2149-8644

Owner

Prof. Dr. Zafer SOYGUDER (Dean)

Editor-in Chief

Prof. Dr. Nihat MERT

Van YYU, Veteriner Fak., Dergi Editorlugu

Kampus / Van - Turkey

Tel: +90 (432) 225 10 28 Fax: +90 (432) 225 11 27

e-mail: vfd@yyu.edu.tr

Editors (Editorial Board)

Prof. Dr. Zafer SOYGUDER (Language Editor)

Prof. Dr. Handan MERT (Proof & Quality Editor)

Prof. Dr. Abdullah YESILOVA (Statistical Editor)

Prof. Dr. Ismail Hakkı EKİN (Electronic Journal Editor)

Assoc. Prof. Dr. Ozgur ISLEYICI (Editor)

Assist. Prof. Dr. Leyla MIS (Technical Editor)

Assist. Prof. Dr. Rabia Mehtap TUNCAY (Editor)

Publication Board

Prof. Dr. Abuzer TAS (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Ali CINAR (Univ. of Ataturk)

Prof. Dr. Askarbek TULEBAEV (Manas, KYRGYZSTAN)

Prof. Dr. Axel WEHREND (Giessen, GERMANY)

Prof. Dr. Berrin SALMANOGLU (Univ. of Ankara)

Prof. Dr. Ehab Abu-Basha (Irbid, JORDAN)

Prof. Dr. Gert W NIEBAUER (Vienna, Austria)

Prof. Dr. Gursel SONMEZ (Univ. of Uludag)

Prof. Dr. Hasan Altan AKKAN (Univ. of Mehmet Akif Ersoy)

Prof. Dr. Hasan Huseyin HADIMLI (Univ. of Selcuk)

Prof. Dr. James M. MAY (Nashville, TN, USA)

Prof. Dr. Kamil EKICI (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Kemal Ozdem OZTABAK (Univ. of Istanbul)

Prof. Dr. Mehmet Akif KARSLI (Univ. of Kirikkale)

Prof. Dr. Nalan OZDAL (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Taylan AKSU (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Tevhide SEL (Univ. of Ankara)

Prof. Dr. Volkan AKYOL (Univ. of Uludag)

Prof. Dr. Tugba BINGOL (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Yeter DEGER (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Devrim SARIPINAR AKSU (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Assoc. Prof. Dr. Hasan Huseyin ARI (Univ. of Cumhuriyet)

Assoc. Prof. Dr. Baris Atalay USLU (Univ. Of Cumhuriyet)

Assoc. Prof. Dr. Yildiray BASBUGAN (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Assoc. Prof. Dr. Bahattin CAK (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Assoc. Prof. Dr. Bahat COMBA (Univ. of Hitit)

Assist. Prof. Dr. Zeynep KARAPINAR (Univ. of Balikesir)

Assist. Prof. Dr. Selim CINAROGU (Univ. of Nigde Omer Halisdemir)

Assist. Prof. Dr. Kivanc IRAK (Univ. of Siirt)

Dr. Josip LOVRIC (Manchester, ENGLAND)

Scientific Board of This Issue

Prof. Dr. Fahrettin ALKAN (Univ. of Selçuk)

Assist. Prof. Dr. Semih ALTAN (Univ. of Dicle)

Assoc. Prof. Dr. Mikail ARSLAN (Univ. of Balikesir)

Prof. Dr. Muharrem BALKAYA (Univ. of Adnan Menderes)

Prof. Dr. N. Tuğba BİNGÖL (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Assist. Prof. Dr. Memiş BOLACALI (Univ. of Siirt)

Assist. Prof. Dr. Gamze ÇAKMAK (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Dursun Ali ÇINAR (Univ. of Atatürk)

Prof. Dr. Musa GENÇCELEP (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Zafer GÖNÜLALAN (Univ. of Erciyes)

Assist. Prof. Dr. Mehtap GUNEY (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Assoc. Prof. Dr. Özgür İŞLEYİCİ (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Assist. Prof. Dr. Abdullah KARASU (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Mehmet Akif KARSLI (Univ. of Kirikkale)

Assist. Prof. Dr. Özlem ORUŇ KILINÇ (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Handan MERT (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Nihat MERT (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Hüseyin NURSOY (Univ. of Bingöl)

Prof. Dr. Nalan ÖZDAL (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Assist. Prof. Dr. Tunahan SANCAK (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Sait ŞENDAÇ (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Dr. Bumin Emre TEKE (Agric. Res. Inst of Bahri DAĞDAŞ)

Assist. Prof. Dr. Rabia Mehtap TUNCAY (Univ. of Van Yuzuncu Yil)

Prof. Dr. Özen KURŞUN YURDAKUL (Univ. of Mehmet Akif)

This journal is published three times a year

All articles in this journal are available free of charge from <http://dergipark.gov.tr/vanvetj>

Year

2019

Volume

30

Issue

1

This journal indexed / abstracted in EBSCOhost, CAB Abstracts, DOAJ, Index Copernicus, TR DIZIN, Türkiye Atif Dizini and Google Scholar



Growth Performance and Survival Rate of Hair Goat and Hamdani Kids

Sema ALAŞAHAN¹ Yahya ÖZTÜRK²

¹ Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Zootechnics, Hatay, Turkey

² Mehmet Akif Ersoy University, Burdur Food, Agriculture and Livestock Vocational School, Department of Food Processing, Burdur, Turkey

Received: 05.07.2018

Accepted: 09.10.2018

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the survival rate and growth performances of Hamdani and Hair goat kids raised under the rural conditions. 40 Hamdani and 32 Hair, a total of 72 goat kids were utilized in the study. The body weights of Hamdani and Hair goat kids at birth, weaning (120th days) and 180th days were 3.15 and 3.11 kg (P<0.05), 22.9 and 21.64 kg (P<0.01) and 31.54 and 29.63 kg (P<0.01), respectively. The average daily live weight gains of Hamdani and Hair goat kids from birth to 120th days and birth to 180th days of age were 162 and 151 g (P<0.05), 161 and 143 g (P<0.01), respectively. Single born kids were more advantageous to twin born kids in terms of birth weight but 60th days weight lower than twin born kids (P<0.01, P<0.05), while female kids were higher weight than male kids at birth, weaning and after periods (P<0.01, P<0.05, P<0.05 and P<0.01). The survival rates of Hamdani and Hair kids were 85.0% and 87.5% of the study (P<0.05). The results found in this study showed that growth performance of Hamdani kids higher than Hair kids during the 6 month growth period and genotype did not affect the survival rate.

Keywords: Hamdani goat, Hair goat, Kids, Growth, Survival rate

ÖZ

Hamdani ve Kıl Keçisi Oğlaklarının Büyüme Performansı ve Yaşama Gücü*

Bu çalışmanın amacı yetiştirici koşullarında yetiştirilen Hamdani ve Kıl keçisi oğlakların büyüme ve yaşama gücü özelliklerinin belirlenmesidir. Araştırmada 40 baş Hamdani ve 32 baş Kıl keçisi olmak üzere toplam 72 baş oğlak kullanılmıştır. Hamdani ve Kıl keçisi oğlaklarının doğum, 120. gün (sütten kesim) ve 180. gün ağırlıkları sırasıyla 3.15 ve 3.11 kg (P<0.05), 22.9 ve 21.64 kg (P<0.01), 31.54 ve 29.63 kg (P<0.01); doğum-120 ve doğum-180 arası dönemde günlük canlı ağırlık artışı (GCAA) sırasıyla 162 ve 151 g (P<0.05) ve 161 ve 143g (P<0.01) olduğu belirlenmiştir. Tek doğan oğlakların ikiz doğan oğlaklardan daha yüksek doğum ağırlığına ve 60. gün daha düşük canlı ağırlığa sahip olduğu (P<0.01 ve P<0.05); dişi cinsiyetteki oğlakların doğum ve sütten kesim ve sonrası dönemlerde erkek cinsiyetteki oğlaklardan daha yüksek canlı ağırlığa sahip olduğu (P<0.01, P<0.05, P<0.01 ve P<0.01) olduğu belirlenmiştir. Hamdani ve Kıl keçisi oğlaklarında yaşama gücü sırasıyla %85.0 ve %87.5 olarak bulunmuştur (P>0.05). Sonuç olarak; 6 aylık büyüme döneminde Hamdani ırkı oğlakların Kıl keçisi oğlaklarından daha yüksek büyüme performansına sahip olduğu, genotipin yaşama gücünü etkilemediği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Hamdani keçisi, Kıl keçisi, Oğlak, Büyüme, Yaşama gücü

GİRİŞ

Günümüzde keçi; eti, sütü, tiftiği, kılı, derisi, iç organları, kanı ve gübresi gibi verimlerinden yararlanılan bir çiftlik hayvanı olup yetiştiriciliği hemen hemen dünyanın tüm bölgelerinde yapılmaktadır.

Türkiye’de keçi yetiştiriciliği; sayısal olarak dünyada önemli bir yere sahiptir. Türkiye’nin doğal ve ekonomik koşulları, tarımsal yapısı ve geleneklerinden dolayı, Türkiye’de keçi yetiştiriciliği yaygın bir biçimde yapılmaktadır. Hayvancılık sektörü içinde, keçiden elde edilen süt ile etin oransal payının azımsanamayacak kadar önemli olduğu bilinmektedir.

Ülkemizde yaklaşık 500.000 keçi işletmesi olduğu ve Keçi yetiştiriciliğinin 3.000.000 kişinin gelirin katkısı sağladığı ve bu faaliyetin belli bölgelerde yoğunlaşmasının bir sonucu olarak yerel ekonomi açısından vazgeçilmez bir sektör haline geldiği, ek olarak ülkemiz keçi popülasyonunun önemli bir bölümü Kıl keçilerinden oluştuğu bilinmektedir. Keçi varlığı bakımından ilk sırada Akdeniz Bölgesi gelmekte ve daha sonra ise Güney Doğu Anadolu, Doğu Anadolu, Ege, Marmara, İç Anadolu ve Karadeniz Bölgesi gelmektedir (Dellal ve Dellal 2005; Anonim 2007; Savaş 2008; Anonim 2015; FAO 2014).

Araştırmanın yapıldığı Van ili Doğu Anadolu bölgesi içerisinde yer alır ve bu bölgede keçi yetiştiriciliği yaygın

olarak göçer hayvancılığı şeklinde yapılmaktadır. Bölge yetiştiricileri Hamdani adıyla bilinen bir keçi ırkı yetiştirmektedir. Hamdani keçisi ile ilgili olarak gerek Tarım ve Orman Bakanlığı kayıtlarında gerekse literatürlerde kayıtlara rastlanılmamasına karşın morfolojik olarak bölgedeki Kıl keçilerine benzememekle birlikte Şengonca (1989)'un küçükbaş hayvan yetiştiriciliği kitabında bildirdiği Suriye keçi ırkının dağ tipine benzese de bölge yetiştiricileri tarafından Hamdani olarak adlandırılmaktadır.

Bu çalışmada, Van yöresinde yetiştirilen Hamdani ve Kıl keçi oğlaklarının yaşama gücü ve büyüme özelliklerini karşılaştırmalı olarak araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmanın hayvan materyalini; Van ili Merkez ilçeye bağlı Kalecik köyünde özel bir işletmede yetiştirilen 40 baş Hamdani keçisi oğlağı ve 32 baş Kıl keçisi oğlağı oluşturmaktadır. Araştırma yetiştirici şartlarında yürütülmüştür.

Yem materyali olarak da; keçilere ağılda bakıldığı süre içinde, kuru ot ile yaş şeker pancarı posası verilmiştir. Keçilere konsantre yem verilmemiştir. Oğlaklara ise, doğumu takiben ilk 4 ay süreyle anne sütü, adlibitum kuru ot ve oğlak başına 100 g kuzu-buzağı büyütme yemi verilmiştir. Daha sonra meraya çıkartılarak sadece meraya dayalı bir besleme yöntemi uygulanmıştır. Merada herhangi bir ek yemleme yapılmamıştır.

Keçilere, meraya yönelik bir besleme programı uygulanmıştır. Kış aylarında ve meranın yetersiz olduğu dönemlerde ağılda ek yemleme yapılmıştır. Ağılda yem olarak kuru ot ve yaş şeker pancarı posası verilmiştir.

Oğlaklar doğumdan sonra ilk 1 gün içinde geçici numara ile numaralandırılarak oğlakların doğum tarihi, doğum tipi, cinsiyeti, ana numarası yazılarak ilk tartımları yapılmıştır.

Oğlaklar doğumdan sonra yaklaşık 15 gün anaları ile beraber kalmışlardır. Daha sonra analarından ayrılmış, sabah ve akşam olmak üzere günde iki defa emzirilmiştir. Laktasyonun 90. günden itibaren keçiler sağılmaya başlanmıştır. Sağım başlamasıyla birlikte oğlaklar günde bir defa emzirilmiştir. Oğlaklara 15. günden itibaren yalama taşı, temiz su ve kaba yem olarak da kuru yonca otu sürekli önlerinde bulundurulmuştur. Ayrıca oğlaklar meraya çıkana kadar 100g/baş miktarında konsantre yem verilmiştir.

Oğlaklar doğumdan sonra ilk gün içinde tartılarak doğum ağırlıkları belirlenmiştir. Takibe den süreçte aylık canlı ağırlıkları alınarak, büyüme ile ilgili 30., 60., 90., 120., 150., ve 180. günler canlı ağırlıkları tespit edilmiştir. Canlı ağırlık tartımı öncesi oğlaklar akşamdan aç bırakılarak sabah 06.00 – 07.00 saatleri arasında 10 g hassas terazi ile tartılmışlardır.

Hamdani ve Kıl keçisi oğlaklarının genotipler arasında yaşama gücü bakımından farkın önemi için ki kare testi yapılmıştır.

Çalışmada büyümenin değişik dönemlerindeki ortalama canlı ağırlıklar ve günlük ortalama canlı ağırlıklara etkisi eden doğum tipi, cinsiyet, ana yaşı, süt kesimine kadarki canlı ağırlıklara; doğum ağırlığı ve süt kesiminden sonra ise süttan kesim ağırlığı gibi çevre faktörlerinin etki payları en küçük kareler metodu (LeastSquaresMethods) ile incelenmiştir. Buna göre;

Oğlakların doğum ağırlığı için;

$$Y_{ijklm} = \mu + a_i + b_j + c_k + f_i + e_{ijklm}$$

Büyümenin değişik dönemlerindeki ortalama canlı ağırlık (30., 60., 90., 120. (sütten kesim yaşı), 150. ve 180. günde ile ortalama günlük canlı ağırlık artışları (0-30. günler, 0-60. günler, 0-90. günler, 0-120. günler, 0-150. günler, 0-180. günler) için;

$$Y_{ijklm} = U + a_i + b_j + c_k + f_i + dz_{ijkl} + e_{ijklm}$$

Modellerde;

Y_{ijklm} = herhangi bir oğlağın incelenen dönemdeki canlı ağırlığı

μ = İncelenen özellik yönünden popülasyonun beklenen ortalaması.

a_i = Oğlağın genotipi (Hamdani, Kıl)

b_j = Oğlağın doğum tipi (tek, ikiz)

c_k = Oğlağın cinsiyeti (erkek, dişi)

f_i = Oğlağın ana yaşı (3-3.5, 4-4.5, 5 ve yukarı)

U= Popülasyon ortalamasının hesaplanmasında kullanılan terim ($\mu = U + dz$)

d = İlgili dönemdeki canlı ağırlığa doğum ağırlığı yada süttan kesim ağırlığının kısmi regresyonu

z = Oğlağın doğum ağırlığı yada süttan kesim ağırlığı

e_{ijkl} = Şansa bağlı hata

Kullanılan modellerde incelenen faktörler arasında önemli bir etkisi olmadığı varsayılmış ve bir faktörün alt gruplarındaki etki payları toplam sıfır kabul edilmiştir.

Modellerin değerlendirilmesi Harvey (1972) paket programında En-Küçük Kareler Metoduna göre analizler yapılmıştır.

Oğlakların farklı büyüme dönemlerindeki yaşama gücü oranlarının karşılaştırılmasında Ki-Kare metodu kullanılmıştır.

BULGULAR

Oğlakların çeşitli dönemlerdeki canlı ağırlıkları, büyüme performansı üzerine genotip, cinsiyet, doğum tipi ve ana yaşının etkisi Tablo 1 ve 2'de verilmiştir.

Hamdani ve Kıl keçisi oğlaklarının doğum, 30., 60., 90., 120. (sütten kesim), 150. ve 180. gün canlı ağırlıkları sırasıyla 3.15 ve 3.11 kg; 7.39 ve 7.62 kg; 11.62 ve 12.16 kg; 16.39 ve 16.16 kg; 22.99 ve 21.64 kg; 27.11 ve 26.02 kg; 31.54 ve 29.63 kg olduğu belirlenmiştir.

Hamdani oğlakların süttan kesim ağırlığı, 150 ve 180. canlı ağırlıklarının Kıl keçisi oğlaklarından daha yüksek canlı ağırlığa sahip oldukları belirlenmiştir. Tek doğan oğlakların ikiz doğan oğlaklardan daha yüksek doğum ağırlığına sahip olduğu ($P < 0.01$), buna karşın 60. günde canlı ağırlığın ise daha düşük olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$).

Dişi cinsiyetteki oğlakların doğum ($P < 0.01$), 120 ($P < 0.05$), 150 ($P < 0.01$) ve 180. ($P < 0.01$) günde canlı ağırlıklarının erkek cinsiyetteki oğlaklardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Doğum-sütten kesim arası ile doğum-180. gün arası dönemde; Hamdani oğlaklarının Kıl keçisi oğlaklarından ($P < 0.05$ ve $P < 0.01$), dişi cinsiyetteki oğlakların erkek cinsiyetteki oğlaklardan ($P < 0.05$ ve $P < 0.01$) daha yüksek büyüme performansına sahip olduğu belirlenmiştir.

Yaşama gücü ile ilgili bilgiler Tablo 3'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, yaşama gücü Hamdani Keçisi oğlakları için %85.0, Kıl keçisi oğlakları için ise % 87.5 olduğu görülmektedir. Genotipler arasında yaşama gücü bakımından fark istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptanmıştır.

Tablo 1. Çeşitli dönemlerde oğlakların canlı ağırlıkları üzerine Genotip, Doğum tipi, cinsiyet ve ana yaşının etkisi(kg)
Table1. Values of adjusted live weights of the kids in various periods (kg)

İncelenen faktörler	n	Doğum	n	30.gün	60.gün	90.gün	120.gün	150.gün	180.gün
Genotip		ns		ns	ns	ns	**	**	**
Hamdani	40	3.15±0.07	34	7.39±0.24	11.62±0.42	16.39±0.58	22.99±0.63	27.11±0.44	31.54±0.46
Kıl	32	3.11±0.07	28	7.62±0.24	12.16±0.42	16.16±0.58	21.64±0.63	26.02±0.46	29.63±0.47
Doğum tipi		**		ns	*	ns	ns	ns	ns
Tek	62	3.55±0.04	54	7.32±0.11	10.88±0.20	15.12±0.28	21.52±0.30	26.76±0.27	30.95±0.28
İkiz	10	2.71±0.11	8	7.68±0.44	12.90±0.77	17.43±1.06	23.11±1.15	26.37±0.69	30.22±0.71
Cinsiyet		**		ns	ns	ns	*	**	**
Erkek	28	2.87±0.07	24	7.47±0.32	11.85±0.55	15.81±0.76	21.54±0.82	25.56±0.48	29.43±0.50
Dişi	44	3.37±0.07	38	7.53±0.19	11.93±0.33	16.74±0.46	23.10±0.50	27.56±0.45	31.74±0.47
Ana yaşı		ns		ns	ns	ns	ns	ns	ns
3-3,5	20	3.16±0.09	17	7.44±0.29	11.90±0.51	16.37±0.71	22.68±0.77	26.24±0.59	30.33±0.61
4-4,5	23	3.10±0.07	19	7.38±0.27	11.79±0.45	16.05±0.62	21.86±0.68	26.69±0.49	30.84±0.50
5 ve yuk	29	3.13±0.07	26	7.69±0.24	11.98±0.41	16.42±0.57	22.42±0.62	26.76±0.45	30.58±0.47
Genel	72	3.13±0.05		7.50±0.22	11.89±0.38	16.28±0.53	22.32±0.57	26.56±0.37	30.59±0.38

ns: Nonsignificant, * P< 0,05 , ** P< 0,05

Tablo 2. Oğlakların çeşitli dönemler arasındaki düzeltilmiş günlük canlı ağırlık artışlarına ilişkin tanımlayıcı değerler (g)
Table2. Descriptive values for adjusted Daily live weight gains of the Capri corn over various periods (g)

İncelenen faktörler	n	0-30	0-60	0-90	0-120	0-150	0-180
Genotip		ns	ns	ns	*	ns	**
Hamdani	34	129±8	135±7	144±8	162±5	165±6	161±5
Kıl	28	137±8	144±7	137±8	151±5	149±5	143±5
Doğum tipi		ns	*	ns	ns	ns	ns
Tek	54	127±4	123±3	126±4	150±2	152±3	150±2
İkiz	8	139±15	156±13	155±14	163±10	161±10	154±9
Cinsiyet		ns	ns	ns	*	*	**
Erkek	24	132±10	139±9	133±10	150±7	146±7	141±6
Dişi	38	134±6	140±6	148±6	163±4	168±4	163±4
Ana yaşı		ns	ns	ns	ns	ns	ns
3-3,5	17	131±10	140±9	145±9	160±6	157±7	152±6
4-4,5	19	129±9	138±8	134±8	153±6	155±6	151±5
5 ve yuk	26	139±8	141±7	143±8	157±5	159±5	152±5
Genel	62	133±7	140±6	141±7	157±5	157±5	152±4

ns: Nonsignificant, * P< 0,05 , ** P< 0,05

Tablo 3. Hamdani ve Kıl keçisi oğlaklarında yaşama gücü
Table3. Survival rates of Hamdani and Hair goat kids

İncelenen faktörler	Doğan oğlak	120. günde yaşayan oğlak	
	N	n	%
Genotip			
Hamdani	40	34	85.0
Kıl	32	28	87.5

X²değeri 0.093-

--: önemsiz

TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğum ağırlığı Hamdani oğlakları için 3.15 kg ve Kıl keçisi oğlakları için ise 3.11 kg olarak belirlenmiştir. Süt emme

döneminde genotipler arasında istatistiksel olarak bir fark yoktur. Bu değer; Çelik ve Oflaz (2018) Kıl keçisi, Saanen x Kıl Fı mele (3,70 ve 3,80), Daş ve Savaş (2002), Kıl keçisi (3,80); Karadağ (2006) Kıl keçisi oğlakları (3,31) için bildirdiği değerler düşük, Gökdal ve ark (2013) yetiştirici şartlarında Kıl keçisi (2,75kg); Oral ve Altınel (2006) Kıl keçisi (2,60kg); Şengonca ve ark. (2003) Kıl keçisi oğlakları (2,63kg) için bildirdiği değerler ise yüksek bulunmuştur. Bazı çalışmalar ile benzerlik göstermektedir ki bunlar; Erten ve Yılmaz (2013) extansif şartlarda yetiştirilen kıl keçisi oğlakları (3.01kg), Tuncel ve Aşkın (1982)'nin, Saanen x Kilis Fı'ler (1 yaşlı analardan doğan oğlaklar 3.04 ve 2. Yaşlı analardan doğan oğlaklardan 3.07 kg) ve Şimşek (2005) Kıl keçisi oğlakları (2,99kg) için buldukları değerlerdir.

Bu çalışmada, oğlaklardan elde edilen doğum ağırlığı üzerine, cinsiyet ve doğum tipinin etkisi önemli iken genotip ve ana yaşının etkisi önemsiz bulunmuştur.

Doğum ağırlığı, cinsiyet yönünden incelendiğinde fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Bu farklılık, birçok araştırma sonucu ile benzer iken (Erten ve Yılmaz 2013; Tuncel ve Aşkın 1982; Sönmez ve ark. 1970; Odabaşoğlu ve Altın 1992) bazı araştırmacıların (Şengonca ve ark. 1983) cinsiyetin etkisini önemsiz olarak bildirdiği çalışma sonuçları ile uyumsuzdur. Çalışmada doğum ağırlıkları dişilerde 3.37kg, erkeklerde ise 2.87 kg olarak saptanmıştır. Bu değerler; Sönmez ve ark. (1974)'ün, Kilis keçisi oğlaklarının tekiz erkek (3.57 kg) ve tekiz dişileri (3.15 kg); Sönmez ve ark. (1971)'in, Malta tekiz erkek (3.410 ± 0.206 kg) ve tekiz dişileri (2.43 kg); Sönmez ve ark. (1970)'in, Saanen oğlaklarında tekiz erkek (3.49kg) ve tekiz dişileri (3.06 kg) için bildirdikleri değerler ile farklılık göstermektedir.

Doğum ağırlıkları, doğum tipine göre incelendiğinde; fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Bu fark, bazı çalışmalar ile uyum içindedir (Gökdal ve ark. 2013; Çelik ve Oflaz 2018). Çalışmada doğum ağırlığı tek doğanlarda 3.55 kg, ikiz doğanlarda ise, 2.71 kg olarak belirlenmiştir. Bu değerler; Sönmez ve ark. (1974)'ün, Kilis keçilerinde tekiz erkek ve dişiler (3.57 ve 3.15 kg) ile ikiz erkek ve dişiler (3.63 ve 3.11 kg); Sönmez ve ark. (1970)'in, Saanen tek erkek ve dişiler (3.49 ve 3.06 kg) ile ikiz erkek ve dişiler (3.24 ve 2.73kg) için bildirilen ortalama değerler, bu çalışmadan elde edilen tek doğanlardan düşük, ikiz doğanlardan ise daha yüksektir.

Çalışmada ana yaşı bakımından istatistiksel olarak herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Ana yaşının önemsiz olması bazı çalışmalar (Erten ve Yılmaz 2013; Tozlu 2006; Çayan 1986; Tuncel ve ark. 1976) ile benzer, bazı çalışmalar ile (Sönmez ve Kaymakçı 1974) farklı olarak bulunmuştur. Araştırmada farklı dönemlerdeki canlı ağırlık artışlarına genotipin etkisi 120., 150. ve 180. günlerde önemli bulunmuştur. Hamdani oğlaklarında 120. gün, 150. gün ve 180. gün canlı ağırlıkları 22.99 kg, 27.11 kg ve 31.54 kg, Kıl keçisi oğlaklarında ise aynı dönemlerde 21.64 kg, 36.02 kg ve 29.63 kg olarak tespit edilmiştir. 120. gün ve 180. gün canlı ağırlıkları, çoğu araştırmacının (Sincer ve Öznacar 1960; Sönmez ve ark. 1970; Sönmez ve ark. 1974; Sönmez ve ark. 1971) bildirdiği değerlerden daha yüksek bulunmuştur.

Canlı ağırlık artışına cinsiyetin etkisi 120., 150. ve 180. günlerde önemli bulunmuştur. 120. gün canlı ağırlığı erkek oğlaklarda 21.54 kg, dişilerde ise 23.10 kg; 150. gün canlı ağırlığı erkek oğlaklarda 25.56 kg, dişilerde ise 27.56 kg ve 180. gün canlı ağırlığı ise erkeklerde 29.43 kg, dişilerde 31.74 kg olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen 120. gün canlı ağırlığı, bazı araştırmacıların (Sincer ve Öznacar 1960; Sönmez ve Kaymakçı 1974) bildirdiği değerlerden yüksektir. Yine 180. gün canlı ağırlığı da araştırmacıların (Aritürk ve ark. 1979; Mohamed 1985; Sincer ve Öznacar 1960; Sönmez ve Kaymakçı 1974; Şengonca ve ark. 1977) bildirdiği değerlerden yüksek olarak belirlenmiştir.

Araştırmada çeşitli dönemler arası günlük ağırlık artışları genotip yönünden incelendiğinde, fark istatistiksel olarak 1-120. günde $P<0.05$ 'e, 0-180. günler arasında ise $P<0.01$ 'e göre Hamdani oğlakları lehine önemli bulunmuştur. Çalışmada günlük canlı ağırlık artış 0-90, 0-120 ve 0-180 günler arası Hamdani oğlaklarında sırasıyla 144g, 162g ve 161g olarak; Kıl keçisi oğlaklarında ise aynı sırayla 137g, 151g ve 143g olarak tespit edilmiştir. Çalışmada 0-90. günler arası tespit edilen günlük canlı ağırlık artış değerleri; Erten ve Yılmaz (2013) kıl (102 g), Odabaşoğlu ve Altın (1992)'in, Walliser, F₁, G₁ (94 g, 113 g ve 131 g) için bildirdiği değerlerden yüksek bulunmuştur.

Araştırmada çeşitli dönemler arası günlük canlı ağırlık artışı erkeklerde 0-90., 0-120. ve 0-180. günler arası sırasıyla 133 g, 150 g ve 141 g, dişilerde ise 148 g, 163 g ve 163 g olarak tespit edilmiştir. Farklılıklar istatistiksel olarak 0-120. günler arasında $P<0.05$, 0-180. günler arası $P<0.01$ düzeyinde önemli; 0-90. günler arasında ise önemsiz bulunmuştur. Bazı araştırmacıların 0-90. günler arasında günlük canlı ağırlıklar üzerine cinsiyetin etkisi ile ilgili bildirdikleri sonuçlar ile, bu çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir (Koyuncu ve Tuncel 1996). 0-90. günler arası günlük canlı ağırlık artışı, Tuncel ve ark. (1976)'nın, Saanen x Kilis ve (Saanen x Kilis) G₁ x Kilis melezi erkekler (121 g ve 130 g) ve dişiler (110 g ve 111 g) için bildirdikleri değerler ile karşılaştırıldığında; erkeklerde yakın, dişilerde ise düşüktür. Güney ve ark. (1990)'nın, Alman Alaca x Kıl G₁ erkek oğlakları (202g) için bildirdikleri değerden yüksektir. 0-120. günler arası günlük canlı ağırlık artışları, Tuncel ve ark. (1983)'nın, Saanen x Kilis F₁ ve (Saanen x Kilis) G₁ x Kilis melezi erkek (111 ve 96 g) ve dişiler (111 g ve 100 g) için bildirdiği değerlerden yüksektir. 0-90. günler arası tekiz (126 g) ve ikizlerde (155 g) günlük canlı ağırlık artışları, Sönmez ve ark. (1971)'in, Malta oğlaklarında tekiz erkeklerden (209 g) elde ettiği değerden yüksek, ikiz erkeklere ait değere (157 g) ise yakın bulunmuştur.

Bu çalışmada tespit edilen yaşama gücü Hamdani oğlakları için % 85.0, Kıl keçisi oğlaklarında ise %87.5 olarak bulunmuştur. Yaşama gücü yönünden genotipler arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunmamıştır. Çalışmadaki her iki genotip için bulunan değerler, Erten ve Yılmaz (2013) ektansif şartlarda yetiştirilen kıl keçisi oğlakları (%84.0), Çelik ve Oflaz (2018) kıl keçilerinde yaşama gücünü 2.5 aylıkta (83.02); Tuncel ve Aşkın (1982)'nin, Saanen x Kilis F₁ melezi için doğumdan 3. aya kadar (%86.7); Tuncel ve Ark. (1976)'nın, Saanen x Kilis F₁'lerde doğumdan 6. aya kadar (%88.3); Tuncel ve ark. (1983)'nin Saanen x Kilis F₁'lerde doğumdan 3. aya kadar (%86.4) ve (Saanen x Kilis) G₁ x Kilis (%89.2) ile için bildirilen değerlere benzer bulunmuştur. Sönmez ve ark. (1973), doğumdan 3. aya Kilis keçileri (%94.2); Şengonca (1966)'nın, süt emme evresinde Kıl keçileri oğlakları (%90.0); Şengonca ve ark. (1977)'nin, süt emme devresinde Malta x Kıl F₁ (%94.14) ve Saanen x Kıl F₁ melezi (%92.7); Sönmez ve ark. (1974)'nin, doğumdan 12. haftaya kadar Kilis keçisi oğlakları (%94.1); Şengonca ve ark. (1977)'nin, doğumdan 3. aya kadarki dönemde Kilis keçisi oğlakları (%94.2); Odabaşoğlu ve Altın (1992)'nin; Walliser x Kıl F₁'leri (%80.6) için bildirilen değerlerden düşük bulunmuştur.

Sonuç olarak; bu çalışmada Van yöresinde yetiştirilmekte olan Hamdani ve Kıl keçisi oğlaklarının, yarı entansif şartlarda, yaşama gücü ve büyüme özellikleri tespit edilmiştir. Yaşama gücü yönünden her iki genotipin benzer olduğu belirlenmiştir. Ölüm oranlarının yüksek olması ise doğum sonrası bakım ve besleme yetersizliğinden kaynaklanmış olabilir. Canlı ağırlık artışı, çalışmanın ilk dönemlerinde her iki genotipte benzer iken; çalışmanın sonuna doğru Hamdani oğlaklarının daha iyi bir performans gösterdiği ortaya çıkmıştır.

KAYNAKLAR

- Anonim (2007).** Dokuzuncu kalkınma planı, 2007-2013, Hayvancılık özel ihtisas komisyon raporu. Devlet Planlama Teşkilatı, Ankara. P.18-19, DPT 2717 - ÖİK 670, Ankara. www.dpt.gov.tr/DocObjects/Download/3175/oik670.pdf Erişim Tarihi: 06.06.2010.
- Anonim (2015).** http://tuikapp.tuik.gov.tr/hayvancilikapp/hayvancilik.zul Erişim Tarihi: 25.02.2015

- Arıttürk E, Yalçın BC, İmeryüz F, Müftüoğlu Ş, Sincer N (1979).** Genetic and environmental aspects of Angora goat production: I. General performance levels and the effects of some measurable environmental factors on the production traits. *Istanbul ÜnivVet Fak Der*, 5 (2), 1-17.
- Çayan O (1986).** Alman Geyik Renkli x Kıl melezi (F₁) ve saf Kıl erkek oğlakların besi gücü ve karkas özellikleri üzerinde karşılaştırmalı bir araştırma. Yüksek lisans tez Özeti, Basılmamış, Adana.
- Çelik HT, Olfaz M (2018).** Yetiştirici koşullarında kıl keçi ve saanen x kıl keçi genotiplerinin (F₁, G₁, G₂) büyüme özellikleri ve yaşama gücü üzerine bir araştırma. *Mediterranean Agricultural Sciences* 31(1), 77-85
- Daş G, Savaş T (2002).** Keçilerde bir batında doğum ağırlığı ve varyasyonu seleksiyon ölçütü olarak kullanılabilir mi? *Hay Üret Derg*, 43 (2), 86-90.
- Dellal İ, Dellal G (2005).** Türkiye keçi yetiştiriciliğinin ekonomisi. Süt Keçiciliği Ulusal Kongresi, Bildiriler, s. 39-48, 26-27 Mayıs, İzmir.
- Erten Ö, Yılmaz O (2013)** Ekstansif Koşullarda yetiştirilen Kıl Keçisi Oğlaklarının Yaşama Gücü ve Büyüme Performanslarının Araştırılması. *YYU Vet Fak Derg*. 24 (3), 105 - 107
- FAO (2014).** Fao stat Food and Agriculture Organization. <http://www.fao.org/faostat/en/#compare> Erişim Tarihi: 01 Nisan 2018.
- Gökdal Ö, Atay O, Özüğür AK, Eren V (2013).** Yetiştirici Koşullarında Kıl, Saanen x Kıl ve Alpin x Kıl Melezi Oğlaklarda Büyüme-Gelişme ve Yaşama Gücü Özellikleri Hayvansal Üretim 54(1) 30-37
- Güney O, Pekel E, Biçer O (1990).** Alman Alaca ve yerli Kıl keçi ırkları arasındaki melezlemelerden elde edilen birinci geriye melez erkek oğlaklarının besi gücü ve karkas özellikleri. *Doğa- Turk J Vet Anim Sci*, 14 (3), 352-362.
- Harvey WR (1972).** Instructions for use of LSM LMM Least-squares and maximum likelihood general purpose program, Ohio StateUniv. Colomb Ohio, USA.
- Karadağ O (2006).** Saanen ve Saanen melezi (Saanen x Kıl) keçilerin büyüme özellikleri ve besi performanslarının karşılaştırılması. Trakya Üniversitesi Fen Bil. Ens., Y. L. Tezi. Edirne.
- Koyuncu M, Tuncel E (1996).** Ankara keçisi oğlaklarının mer'a ve entansif koşullarda besi gücü ve karkas özellikleri. *Turk J Vet AnimSci*, 20, 157-161.
- Mohamed AM (1985).** Characterization of five breeds of dairy goats. *Dissertation Abstracts International*, B, 46 (5), 1397.
- Odabaşoğlu F, Altın T (1992).** Walliser-Schwarzahls ve Walliser-Schwarzahls x Kıl keçisi melezlerinin yaşama gücü gelişme özellikleri üzerine bir araştırma. *SÜ Vet Fak Derg*, 8 (1), 51-54.
- Oral HD, Altınel A (2006).** Aydın ili özel işletme koşullarında yetiştirilen kıl keçilerinin bazı verim özellikleri arasındaki fenotipik korelasyonlar üzerine bir araştırma. *Istanbul Üni. Vet Fak Derg*, 32 (3), 41-52.
- Sincer N, Öznacar K (1960).** Lalahan numune çiftliği Ankara keçilerinin beden ölçüleri, doğum ve canlı ağırlıkları ile tiftik verimleri üzerine araştırmalar. *LalahanZootek AraştırmaEnstDerg*, 23,39.
- Sönmez K, Kaymakçı M (1974).** Saanen ve Malta Melez oğlaklarının büyütülmesinde süt emme süresinin gelişme gücüne etkisi. *EÜ Ziraat Fak Derg*, 11 (1), 107-121.
- Sönmez R, Şengonca M, Albaz AG (1970).** Ege Üniversitesi. Ziraat Fakültesinde Yetiştirilen Saanen sütçü keçilerinin çeşitli özellikleri ve verimleri üzerinde bir araştırma. *EÜ Ziraat Fak Derg*, 7 (1), 115-134.
- Sönmez R, Şengonca M, Albaz AG (1971).** Ege Üniversitesi. Ziraat Fakültesinde Yetiştirilen Malta keçilerinin çeşitli özellikleri ve verimleri üzerinde bir araştırma. *EÜ Ziraat Fak Derg*, 8 (1), 57-71.
- Sönmez R, Şengonca M, Albaz AG (1974).** Ege Üniversitesi. Ziraat Fakültesinde Yetiştirilen Kilis keçilerinin verimleri üzerinde bir araştırma. E. Ü. Ziraat Fak. Yayınları. No: 239. İzmir
- Sönmez R, Şengonca M, Kaymakçı M (1973).** Ege bölgesinde yetiştirilen çeşitli süt tipi keçilerle bunların melezlerinin adaptasyon durumu ve verim özellikleri üzerinde mukayeseli bir araştırma. IV. Bilim Kongresi, Ankara
- Savaş T. (2008).** Türkiye'de süt keçiliğinde son yıllardaki gelişmeler. <http://zootechni.comu.edu.tr/fayda/kecigelistmeler.pdf> Erişim Tarihi: 14.02.2010.
- Şengonca M (1966).** İzmir, Manisa, Aydın, Denizli ve Muğla illerinde keçi yetiştiriciliği, keçi tipleri ile bunların değişik şartlarda süt ve diğer verimleri üzerinde araştırmalar. (Doktora Tezi). E. Ü. Ziraat Fak.Yayınları, No:116. İzmir
- Şengonca M (1989).** Küçükbaş Hayvan Yetiştirme: 1. Bölüm. Uludağ Üni. Basımevi, Bursa
- Şengonca M, Kaymakçı M, Sönmez R (1983).**Ege bölgesinde yetiştirilen süt keçilerin melezleme yolu ile ıslahı olanakları. (I. kademe proje). *Doğa Bilim Derg*, 7 (3), 257-263.
- Şengonca M, Sönmez R, Albaz AG (1977).** Ege Üniversitesi. Ziraat Fakültesinde yetiştirilen Saanen x Kıl ve Malta x Kıl birinci generasyon melezlerinin çeşitli özellikleri ve verimleri üzerinde mukayeseli bir araştırma. *EÜ Ziraat Fak Derg*, 7 (1), 69-90.
- Şengonca M, Taskın T, Kosum N (2003).** Saanen x Kıl Keçi Melezlerinin ve Saf Kıl Keçilerinin Kimi Verim Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Eş Zamanlı Bir Araştırma. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, Vol. 27 Issue 6, p1319-1325.
- Şimşek ÜG (2005).** Kıl keçisi ve Saanen x Kıl keçisi (F₁) melezlerinde büyüme, besi performansı ve karkas özelliklerinin araştırılması. Fırat Ün. Sağ. Bil. Ens., Doktora Tezi. Elazığ.
- Tozlu H (2006).** Amasya ili Kıl keçisi ıslah projesi kapsamında elde edilen Saanen x Kıl keçisi (F₁) melezleri ile saf Kıl keçilerinin büyüme ve diğer yetiştiricilik özellikleri bakımından mukayesesi. *Ondokuz Mayıs Üni, Fen Bil. Ens, Y. L. Tezi. Samsun*
- Tuncel E, Aşkın Y (1982).** Saanen x Kilis melezi sütçü keçilerde erken damızlıkta kullanma olanakları. *Doğa bilim dergisi*, 6 (2), 57-65.
- Tuncel E, Eker M, Cengiz F (1983).** Saanen ve Saanen x Kilis melezi Gı tekeler Kullanılarak Kilis keçilerinin ıslahı olanakları. *Doğa Bilim Dergisi*, 7 (29), 199-208.
- Tuncel E, Eliçin A, Koca AR (1976).** Saanen x Kilis melezi sütçü keçilerin Antalya Bölge Ziraat Araştırma Enstitüsü koşullarına adaptasyonu üzerine araştırmalar (Dölverimi, yaşama gücü ve süt verimi). *AÜ Ziraat Fak Derg*, 26, 93-106.





Evaluation of Food Safety Knowledge Among Food Handlers

Nebahat BİLGE¹ Pınar DEMİR²

¹ Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Safety and Public Health, Kars, Turkey

² Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Stock Farming Entity Economy, Kars, Turkey

Received: 05.07.2018

Accepted: 21.11.2018

ABSTRACT

This study aimed to evaluate food handlers' knowledge regarding personal hygiene and food safety. A total of 200 food handlers from 30 independent food businesses in Kars, Turkey has been questioned in this survey. One (1) point was given for each correct response and zero (0) point for the false and "Do not know" answers. The questionnaires having 29 points were scored with 5. The knowledge of the respondents who got ≥ 3 was considered as adequate. Most of the participants were male (66.5%) and mainly under the age of 24 (42.5%) or between the age of 25-34 (33.5%). Nearly half of the participants (46.5%) had high school education (11 years). Only 25% of the workers who were mainly cooks declared that they had attended to a food safety training course. Seventy six percent of the respondents were waitress/waiter. Almost half (43%) of the food handlers got ≤ 2.9 (out of 5 points) point which indicated that they did not have adequate knowledge about personal hygiene and food safety. Male workers were more successful at the questionnaire while age had not a significant effect. Personal hygiene, cross-contamination, thawing frozen meat and reheating of foods were the sections in which the respondents gave false answers frequently. The knowledge of participants neither about food safety nor personal hygiene is enough to prepare or serve safe food. But it was observed that education level and attending training courses had a positive effect on responding questions correctly.

Keywords: Food safety knowledge, Food handlers, Training, Public health

ÖZ

Gıda İşçilerinin Gıda Güvenliği Hakkındaki Bilgilerinin Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, gıda işçilerinin kişisel hijyen ve gıda güvenliği bilgilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, Kars'ta yer alan 30 farklı işletmeden 200 gıda işçisi anket yoluyla sorgulanmıştır. Her bir doğru yanıt için bir (1), yanlış veya "Bilmiyorum" yanıtları için sıfır (0) puan verilmiştir. Tam 29 puan alanlar beş (5) ile skorlanmıştır. Buna göre ≥ 3 ve üzeri skora sahip olanların bilgisi "Yeterli" olarak değerlendirilmiştir. Profil sonuçlarına göre katılımcıların çoğunluğunun (%66.5) erkek ve 24 yaş altı (%42.5) ya da 25-34 yaş arasında (%33.5), yaklaşık yarısının (%46.5) lise mezunu, sadece %25'inin gıda güvenliği eğitimi almış ve %76'sının garson olduğu görülmüştür. Ankete katılanların neredeyse yarısı (%43) ≤ 2.9 ile skorlanmıştır ki bu kişisel hijyen ve gıda güvenliği konusunda yetersiz olduklarına işaret etmiştir. Erkekler daha fazla başarı gösterirken yaş etkili bulunmamıştır. En fazla yanlış yanıtta, kişisel hijyen, çapraz kontaminasyon, dondurulmuş etlerin çözünmesi ve gıdaların yeniden ısıtılması kategorilerinde rastlanmıştır. Katılımcıların genel olarak gıda güvenliği ve kişisel hijyen konularında, güvenli gıda hazırlayıp servis edecek yeterlikte bilgiye sahip olmadığı görülmüştür. Ancak eğitim seviyesi ve gıda güvenliği eğitimlerinin doğru cevaplar vermede olumlu etki gösterdiği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Gıda güvenliği bilgisi, Gıda işçileri, Eğitim, Halk sağlığı

INTRODUCTION

Foodborne diseases are serious problem, both in developed and developing countries, causing a significant social and economic burden (Martins et al. 2012). The most frequent cause of outbreaks are mass catering and food service facilities (Todd et al. 2007). Therefore, the European Commission has recognized the importance of controlling food-poisoning outbreaks owing to the increasing number of meals consumed outside the home,

in parallel with the ever-expanding range of pre-prepared meals. This changing consumer lifestyle emphasizes the need for better, effective ways of controlling food hygiene (Baş et al. 2006).

In many cases, food from sources which are unsafe, inadequate cooking, improper holding times, temperatures, storage or reheating, cross-contamination and poor personal hygiene are the causes of the issue in question (Pichler et al. 2014). Especially food handlers

play an important role in foodborne illnesses. Food workers can carry food poisoning organisms asymptotically or be responsible for cross-contaminating raw and processed foodstuffs, and improper food cooking/storing (Cruickshank 1990). A lack of food hygiene awareness or implementation is the major cause of these contributory factors. Those premises are strongly linked with low levels of training and poor practices (Audit Commission 1990). Management attitude towards training, standards of food handling practice and levels of food hygiene knowledge are also correlated (Kitcher 1994). Good hygiene practices must be applied in food businesses to protect consumers from foodborne diseases. Therefore, food handlers should have the knowledge and skills to apply these practices (Martins et al. 2012). The need for training of food workers is an essential part of HACCP concept and is thus recognized by EU legislation (EU Regulation 852/2004) and by international organizations such as the WHO (World Health Organization 2000). Food safety training has also become legislated in many countries (Abushelaibi et al. 2015).

In Turkey, the workers employed in the catering sector have a low level of formal education and have a limited average stay with the same employer. The majority of employees work in plants with fewer than 10 employees (Baş et al. 2006). All Turkish food businesses must provide food hygiene training commensurate with the work activities of their staff according to new regulations in Turkish Food Codex (Sağlam 2000). From this point of view, this study was conducted to evaluate the educational level of food handlers and determine their knowledge on food safety and personal hygiene in province of Kars, Turkey. By this means, it was aimed to provide baseline data to assess the effectiveness of training programs used in the Turkish food sector.

MATERIALS and METHODS

Population under study

In this study 200 food handlers from different plants were interviewed. Questionnaires were responded individually,

in the presence of the researcher, 30 minutes time required for completion.

The questions were based on the research which was conducted by Pichler et al. (2014) with some additions and modifications. The first seven questions were about the characteristics of food businesses and food workers' age, gender, education, profession and attendance to a food safety course. The remaining 29 were intended to assess knowledge of participants in relation to personal hygiene and food safety. The responses to those 29 questions were measured on a nominal scale. One (1) point was given for each correct response and zero (0) point for the false and "Do not know" answers. The questionnaires having 29 points were scored with 5. The knowledge of the respondents who got ≥ 3 was considered as adequate. The detailed data were presented in Tables 1-6.

Statistical analysis

The statistical analysis of data was performed using SPSS Statistics 20.0. Pearson's Chi-square, Mann Whitney U and Kruskal-Wallis tests were used to analyse and detect statistical differences between samples. Statistical significant was set at a *p value* <0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

Characteristics of the businesses

In this study, 30 independent food businesses were visited. Twenty-seven of these plants were restaurants or cafés which were serving animal originated foods while the other 3 were small businesses serving homemade traditional foods. Most of them were small scale (46.6 %). Details are presented in Table 1.

Characteristics of food handlers

Most of the participants were male (66.5%). They were mainly under the age of 24 (42.5%) or between the age of 25-34 (33.5%). Nearly half of the participants (46.5%) had high school education (11 years). Only 25% of the workers who were mainly cooks declared that they had attended to a food safety training course. Seventy six percent of the respondents were waitress/waiter. The detailed data were presented in Table 2 and Table 3.

Table 1. Characteristics of the food businesses and the number of the participants who work for those places

		Frequency (Plants/Food Handlers)	Percentage (Plants/Food Handlers)
Type	Restaurants and cafés serving animal originated foods	27 / 166	90.0 / 83.0
	Small businesses serving homemade traditional foods	3 / 34	10.0 / 17.0
Capacity	Small scale	14 / 75	46.6 / 37.5
	Medium scale	9 / 31	30 / 15.5
	Large scale	7 / 94	23.3 / 47.0
Cleaning	Done by a cleaning company	1 / 4	3.3 / 2.0
	Done by plant's own staff	29 / 196	96.6 / 98.0
Pest Control	Done by a private pest control company, regularly	11 / 116	36.6 / 58.0
	Done by plant's own staff, regularly	9 / 31	30 / 15.5
	Done by plant's own staff when it is needed	4 / 22	13.3 / 11.0
	I don't know	6 / 31	20 / 15.5

Table 2. Characteristics of food handlers

		Frequency	Percentage
Gender	Female	67	33.5
	Male	133	66.5
Age (Years)	<24	85	42.5
	25-34	67	33.5
	>35	48	24.0
Education	Primary School	62	31.0
	High School	93	46.5
	University	45	22.5
Food Safety Training Course	Yes	50	25.0
	No	150	75.0
Profession	Waiter/Waitress	152	76.0
	Cook	48	24.0

Table 3. Food safety training status of food handlers

Profession	Yes (%)	No (%)	Total
Waiter/Waitress	25 (16.4)	127 (83.6)	152
Cook	25 (52.1)	23 (47.9)	48
Total	50 (25)	150 (75)	200

$X^2 = 24.708$; $p < 0.001$

Table 4. Knowledge scores of food handlers from food safety test

Score	Frequency (Person)	Percentage
<1	46	23.0
1.0-1.9	9	4.5
2.0-2.9	31	15.5
3.0-3.9	77	38.5
≥ 4	37	18.5
Total	200	100.0

Table 5. Food safety knowledge scores among different categories

Categories		Mean	Standard Error	Mann Whitney U, Kruskal Wallis Test	P
Gender	Female	2.705	0.1672	3492.50	0.012*
	Male	3.043	0.1194		
Age (Year)	<24	2.808	0.1551	3.862	0.145
	25-34	3.096	0.1710		
	≥ 35	2.915	0.1820		
Education	Primary School	2.876	0.1709	9.465	0.09*
	High School	2.707	0.1526		
	University	3.464	0.1613		
Food Safety Training Course	Yes	3.815	0.0603	1713.00	0.000*
	No	2.635	0.1192		
Profession	Waiter/Waitress	2.777	1.4153	2491.00	0.001*
	Cook	3.414	1.1449		

* $P < 0.05$

According to surveys from different parts of the world, the percentage of male and female food workers is almost equal and the mean age is around 35 ranging between 19 and 65. Majority of the food handlers has six or less years of education and the number of the persons who attended a food safety training program is still low although it is mandatory by law in many countries (Buccheri et al. 2010; Jianu and Chis 2012; Martins et al. 2014; Pichler et al. 2014; Sani and Siow 2014; Liu et al. 2015). Comparing to other studies, respondents in our study are younger and have higher educational level. However, the rate of participating to a food hygiene course is quite low like the other researchers declared previously.

Results in relation to sample characteristics

Of the 200 food handlers questioned in this study, 43% got ≤ 2.9 (out of 5 points) point which indicated that almost half of the participants did not have adequate knowledge about personal hygiene and food safety.

In a previous study conducted in our country, Baş et al. (2006) obtained even worse results. The mean knowledge

score of food workers participated their survey was 43.4 (100 possible points).

Many researchers from different countries also reported poor knowledge of food handlers. In one of these food handlers from Portugal were assessed and the average score of questions answered correctly was found as 13 out of 23 (56.5%) (Martins et al. 2012). A couple of years later, Martins et al. (2014) evaluated the food hygiene knowledge of respondents in Portugal and they discovered that the average score was 13.9, corresponding to 60.7% of the questions. The situation was almost the same in western Romania; Jianu and Chis (2012) questioned food handlers of small and medium-sized companies and recorded the mean value of hygiene knowledge of the food handlers as 63.2%. Osaili et al. (2013) from Jordan reached relatively better scores. Workers in fast food restaurants participated in their survey and the knowledge of food handlers on food safety concept was considered as fair. The overall score of correct answers for the food safety tested aspect was 46.47 out of 67 points (69.4%).

Table 6. Frequencies of correct responses to food safety knowledge questions of food handlers

Questions (Answers)	Correct Responses		False Responses	
	n	%	n	%
At work if you only urinated, and did not a bowel movement, you do not need to wash your hands. (True/False)	161	80.5	39	19.5
Do you need to have thoroughly washed hands if you use wax paper to handle food? (Yes/No)	163	81.5	37	18.5
Do you need to have thoroughly washed hands if you use a spatula or tongs to handle food? (Yes/No)	117	58.5	83	41.5
Do you need to have thoroughly washed hands if you use single use gloves to handle food? (Yes/No)	109	54.5	91	45.5
To wash your hands had you better use warm or cold water? (Cold/Warm)	135	67.5	65	32.5
About how many seconds should you lather your hands with soap? (At least 10 second)	91	45.5	109	54.5
On what should you dry your hands? (Multiple choice question type) (Paper towel or air dryer)	108	54.0	92	46.0
You should avoid wearing jewellery when you prepare or serve food. (True/False)	131	65.5	69	34.5
When you suffered from vomiting or diarrhoea but don't feel really ill, you are allowed to handle ready to serve food like sandwiches or salad on that day. (True/False)	132	66.0	68	34.0
If you are ill with diarrhoea, it is okay to handle raw food as long as that food will be cooked. (True/False)	115	57.5	85	42.5
When you sneeze, you could contaminate food with germs and cause to food poisoning. (True/False)	132	66.0	68	34
When a food handler has a cut on his/her hand he/she should cover it properly and wear single use gloves. (True/False)	150	75.0	50	25.0
The most common symptom of food poisoning is diarrhoea; however, heart, kidneys, liver and brain also could be affected, people even could die. (True/False)	143	71.5	57	28.5
What kind of sources could contaminate food with germs? (Multiple choice)	124	62.0	76	38.0
Why raw and cooked foods must be stored separately and avoid their contact to each other? (Multiple choice)	102	51.0	98	49.0
Raw meat can be stored anywhere in a refrigerator as long as it is tightly sealed in plastic film. (True/False)	112	56.0	88	44.0
Cooked food must be portioned into small amount before the cold storage to make the cooling process faster. (True/False)	124	62.0	76	38.0
Frozen meat can be thawed on the kitchen bench at ambient temperature. (True/False)	46	23.0	154	77.0
Frozen meat can be thawed in hot water. (True/False)	120	60.0	80	40.0
Cooked food which is stored in the refrigerator must be bring to boiling temperature before serving. (True/False)	66	33.0	134	67.0
In a restaurant, ready to eat cooked food (Soup, rice etc.) must be kept at $\geq 65^{\circ}\text{C}$. (True/False)	128	64.0	72	36.0
Vegetables for a salad splashed with a few drops of raw chicken juice should not be rinsed but must be thrown away. (True/False)	48	24.0	152	76.0
Is it true that if not completely cooked, beef, poultry and egg could cause serious illness? (True/False)	114	57.0	86	43.0
You can be sure food is safe to eat when it smells and tastes normal. (True/False)	86	43.0	114	57.0
It is safe to store cleaning agents and food in the same area. (True/False)	149	74.5	51	25.5
It is safe to dry kitchen utensils (Forks, knives, dishes etc.) with cotton towel. (True/False)	106	53.0	94	47.0
You must avoid handling clean kitchen utensils with bare hands. (True/False)	142	71.0	58	29.0
The temperature of fridges and freezers must be checked daily. (True/False)	146	73.0	54	27.0
It is not safe to store drinks in plastic bottles under sun light. (True/False)	147	73.5	53	26.5

In contrast to these disappointing results, promising findings have been cited by other researchers. In a study, Abdul-Mutalib et al. (2012) evaluated food handlers working in restaurants in Malaysia and the results showed that they had excellent knowledge, attitude and good practices toward food (KAP). Liu et al. (2015) also

evaluated the KAP among food workers in China. The score of knowledge showed that respondents could give correct answers for more than half of the items. A study conducted by Pichler et al. (2014) in Austria was also one of the questionnaire-based surveys which declared a high score (76%) of average knowledge.

In another survey in Brazil, the level of knowledge was considered as insufficient in spite of average proficiency score being >79% accuracy. It was explained this rate was low, because most participants (92.2%) had already undergone previous food safety training (Soares et al., 2012). Researchers expected to see higher performance, because according to numbers of studies, there was a strong evidence supporting the significant positive effect of both education level and food safety training programs (McIntyre et al. 2013; Jianu and Golet 2014; Martins et al. 2014; Pichler et al. 2014; Liu et al. 2015). Ansari-Lari et al. (2010) also reported in their study; there was significant positive correlation between level of education with general knowledge and knowledge of microbiological food hazards. In addition, there was positive correlation between knowledge and attitude. We also found that education level and food safety training courses had dramatic positive effect on knowledge of the participants.

Finally, in the light of those data Soares et al. (2012) explained that; improper food handling practices are not always a result of low level of education. Personal, social and workplace factors influence the practices of the food handler. It seems that more specific training courses should be planned for food handlers. The courses should include an evaluation process to ensure the effectiveness. It is therefore necessary to evaluate the impact of the knowledge acquired in food safety training to develop methodologies to properly train food handlers.

Beside these major factors like education and food safety training other minor issues like gender and age may be effective on knowledge in some certain cases (Pichler et al. 2014, Liu et al. 2015). Our findings also showed that male workers were more successful at the questionnaire while age had not a significant effect.

Frequencies of correct responses of food handlers to food safety knowledge questions

Table 6 shows how the food handlers responded to food safety questions. These answers indicated that most of the participants were aware of necessity of hand washing after using toilets, however they were not sure how long they should lather their hands with soap and how they should dry them. Similarly, they did not have enough knowledge about the need of having thoroughly washed hands if they use a spatula, tongs or single use gloves to handle foods. It was also interesting that almost half of the food workers believed that when they are ill with diarrhoea they can handle the raw food as long as that food will be cooked. Similar results were obtained by Baş et al. (2006), they also reached low mean score for knowledge of personal hygiene (31.8 out of 100).

For this section of the questionnaire, researchers have reported different results ranging between poor and acceptable. In most of the cases food handlers responded to the questions regarding good personal hygiene practice such as washing hands, the use of proper clothing, usage of gloves while handling food, avoiding wearing jewellery and covering cuts with easily identifiable plasters correctly (Jianu and Chis 2012; McIntyre et al. 2013; Osaili et al. 2013; Sani and Siow 2014) while in others hand hygiene remain issue that need to be emphasized in training programs (Martins et al. 2012; Jianu and Golet 2014).

Another section of questionnaire in which food handlers interviewed in this study responded incorrectly was cross-contamination. The ratio of the participants who did not know why raw and cooked food must be stored separately and avoid their contact to each other was nearly 50%. They did not know raw meat can be stored anywhere in a

refrigerator as long as it is tightly sealed in plastic film, either. And considering all the responses one of them seemed quite serious; 76% of the food handlers did not believe that vegetables for a salad splashed with a few drops of raw chicken juice should not be rinsed, but must be thrown away. Baş et al. (2006) also obtained almost the same result, according to their findings the mean score of knowledge of cross-contamination was 53.4 out of 100. Similarly, in a study conducted by Jianu and Chis (2012), only 43.9% of the participants knew that raw materials and finished products in a refrigerator must be stored on separate shelves. Sani and Siow (2014) also reported poor knowledge about cross-contamination (44.6%).

Another weak point of the food workers participated our study was thawing frozen meat and reheating of the foods. About three quarters of the respondents thought that frozen meat can be thawed on the kitchen bench at ambient temperature and majority of them did not know the correct temperature for reheating of foods. Baş et al. (2006) and Osaili et al. (2013) also reported that food safety knowledge questions that were most frequently answered incorrectly were related to time-temperature control, cooling, thawing and hand washing practices. It has been the trend in food service establishments to cook the food earlier (Abdul-Mutalib et al. 2012). Food handlers must be aware of the risks food poisoning by preparing food in advance and of the risks related to reheating dishes prior to consumption (Buccheri et al. 2010).

Unfortunately, 57% of the respondents in our survey thought that one can be sure food is safe to eat when it smells and tastes normal. This belief was also common among the food workers participated the study conducted by Jevnsnik et al. (2008) and Walker et al. (2003).

CONCLUSION

Current study revealed that majority of the food handlers in Kars, Turkey had insufficient level of education and just a few of them attended a food safety training program. Thus, the level of knowledge regarding personal hygiene, cross-contamination, thawing frozen meat and reheating of the foods was poor. Nearly half of the food workers did not even know that if not completely cooked, beef, poultry and egg could cause serious illness. Almost the same percentage was true for the participants who considered drying kitchen utensils (Forks, knives, dishes etc.) with cotton towel as safe. As a conclusion, the knowledge of participants neither about food safety nor personal hygiene is enough to prepare or serve safe food. But it was observed that education level and attending training courses had a positive effect on responding questions correctly. Therefore, there is an urgent need for food safety training programs and also researches to understand the effects of knowledge gained by these courses on food workers' attitude and practices of food safety.

REFERENCES

- Abdul-Mutalib N-A, Abdul-Rashid M-F, Mustafa S, Amin-Nordin S, Hamat RA, Osman M (2012). Knowledge, attitude and practices regarding food hygiene and sanitation of food handlers in Kuala Pilah, Malaysia. *Food Cont*, 27, 289-293.
- Abushelaibi AM, Jobe B, Afifi HS, Mostafa B-E, Murad AA, Mohammed AK (2015). Evaluation of the effect of person-in-charge (PIC) program on knowledge and practice change of food handlers in Dubai. *Food Cont*, 50, 382-392.
- Audit Commission (1990). Environmental Health Survey of Food Premises. HMSO, London.

- Ansari-Lari M, Soodbakhsh S, Lakzadeh L (2010).** Knowledge, attitudes and practices of workers on food hygienic practices in meat processing plants in Fars, Iran. *Food Cont*, 21, 260-263.
- Baş M, Ersun, AŞ, Kıvanç G (2006).** The evaluation of food hygiene knowledge, attitudes, and practices of food handlers' in food businesses in Turkey. *Food Cont*, 17, 317-322.
- Bean NH, Griffin PM (1990).** Foodborne disease outbreaks in the United States 1973-1987: pathogens, vehicles and trends. *J Food Prot*, 53, 804-817.
- Buccheri C, Mammina C, Giammanco S, Giammanco M, La Guarda M (2010).** Knowledge, attitudes and self-reported practices of food service staff in nursing homes and long-term care facilities. *Food Cont*, 21, 1367-1373.
- Burch NL, Sawyer CA (1991).** Food handling in convenience stores: the impact of personnel knowledge on facility sanitation. *J Environ Health*, 54, 23-27.
- Clayton DA, Griffith CJ, Price P, Peters AC (2002).** Food handlers' beliefs and self-reported practices. *Int J Environ Health Res*, 12, 25-39.
- Clingman CD (1977).** Food service management certification: the NIFI program. *J Food Prot*, 40, 196-197.
- Cruickshank JG (1990).** Food handlers and food poisoning: training programs are best. *Brit Med J*, 300, 207-208.
- Domínguez C, Gómez I, Zumalacárregui J (2002).** Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *Int J Food Microbiol*, 72, 165-168.
- Ehiri JE, Morris GP (1994).** Hygiene training and education of food handlers: does it work? *Ecol Food Nutr*, 6, 341-345.
- Griffith CJ, Worsfold D, Mitchell R (1998).** Food preparation, risk communication and the consumer. *Food Cont*, 9 (4), 225-232.
- Jevsnik M, Hlebec V, Raspor P (2008).** Food safety knowledge and practices among food handlers in Slovenia. *Food Cont*, 19, 1107-1118.
- Jianu C, Chiş C (2012).** Study on the hygiene knowledge of food handlers working in small and medium-sized companies in western Romania. *Food Cont*, 26, 151-156.
- Jianu C, Golet I (2014).** Knowledge of food safety and hygiene and personal hygiene practices among meat handlers operating in western Romania. *Food Cont*, 42, 214-219.
- Kitcher C (1994).** Case for food hygiene training. *J Environ Health* (June), 139-140.
- Liu S, Liu Z, Zhang H, Lu L, Liang J, Huang Q (2015).** Knowledge, attitude and practices of food safety amongst food handlers in the coastal resort of Guandong, China. *Food Cont*, 47, 457-461.
- Martins RB, Ferreira, D, Moreira LM, Hogg T, Gestal J (2014).** Knowledge on food hygiene of food service staff working in nursing homes and kindergartens in Porto region-Portugal. *Food Cont*, 42, 54-62.
- Martins RB, Hogg T, Otero JG (2012).** Food handlers' knowledge on food hygiene: The case of a catering company in Portugal. *Food Cont*, 23, 184-190.
- McIntyre L, Vallaster L, Wilcott L, Henderson SB, Kosatsky T (2013).** Evaluation of food safety knowledge, attitudes and self-reported hand washing practices in FOODSAFE trained and untrained food handlers in British Columbia, Canada. *Food Cont*, 30, 150-156.
- Osaili TM, Abu Jamous DO, Obeidat BA, Bawadi HA, Tayyem RF, Subih HS (2013).** Food safety knowledge among food workers in restaurants in Jordan. *Food Cont*, 31, 145-150.
- Oteri T, Ekanem EE (1992).** Food hygiene behaviour of hospital food handlers. *Public Health*, 18, 97-100.
- Pichler J, Ziegler J, Aldrian U, Allerberger F (2014).** Evaluating levels of knowledge on food safety among food handlers from restaurants and various catering businesses in Vienna, Austria 2011/2012. *Food Cont*, 35, 33-40.
- Rennie DM (1995).** Health education models and food hygiene education. *J Royal Soc Health* (April), 75-79.
- Rippel B (2002).** Consumer knowledge about food safety revealed. Washington, DC: Consumer Alert.
- Sağlam ÖF (2000).** Türk Gıda Mevzuatı, Semih Ofset, Ankara.
- Sani NA, Siow ON (2014).** Knowledge, attitudes and practices of food handlers on food safety in food service operations at the Universiti Kebangsaan Malaysia. *Food Cont*, 37, 210-217.
- Seaman P, Eves A (2008).** Food hygiene training in small to medium-sized care settings. *Int J Environ Health Res*, 18(5), 365-374.
- Soares LS, Almeida RCC, Cerqueira ES, Carvalho JS, Nunes IL (2012).** Knowledge, attitudes and practices in food safety and presence of coagulase-positive staphylococci on hands of food handlers in the schools of Camaçari, Brazil. *Food Cont*, 27, 206-213.
- Taylor EA (1996).** Is food hygiene training really effective? *J Environ Health*, 104, 275-276.
- Taylor JH, Brown KL, Toivonen J, Holah JT (2000).** A microbiological evaluation of warm air hand driers with respect to hand hygiene and washroom environment. *J Appl Microbiol*, 89, 910-919.
- Tebbutt GM (1992).** An assessment of food hygiene training and knowledge among staff in premises producing or selling high risk foods. *Int J Environ Health Res*, 2, 131-137.
- Todd EC, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS (2007).** Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 2. Description of outbreaks by size, severity, and settings. *J Food Prot*, 70 (8), 1975-1993.
- Travis HR (1986).** Training for seasonal food service operators. *J Environ Health*, 48, 265-267.
- Walker E, Pritchard C, Forsythe S (2003).** Food handlers' hygiene knowledge in small food businesses. *Food Cont*, 14, 339-343.
- World Health Organization (WHO) (2000).** Food borne disease - a focus for health education (1st Edition). Geneva, Switzerland: World Health Organization.



Microbiological, Chemical and Sensory Characteristics of Kefir Prepared with Various Fruit Additives

Sezen HARMANKAYA¹ Güven GÜLBAZ² Ufuk KAMBER³

¹ Kafkas University, Kars Vocational School, Department of Food Processing, Kars, Turkey

² Kafkas University, Faculty of Engineering and Architecture, Department of Food Engineering, Kars, Turkey

³ Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene and Technology, Kars, Turkey

Received: 09.07.2018

Accepted: 22.11.2018

ABSTRACT

In this study, effects of kefir on the chemical (titratable acidity and pH), microbiological (*Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. and yeast counts) and sensory properties of kefir that was prepared with fruits (strawberry, apricots, banana) (at a ratio of 20%) during the incubation (checked at 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21 hours) and storage (checked at 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 14 days) periods were investigated. Significant differences ($p < 0.05$) were found in the analysis of the characteristics of the different kinds of fruit kefir when compared with plain kefir. Differences were found both between the kinds of fruit and the time points at which the samples were analyzed. At the end of the incubation and storage periods, *Lactobacillus* spp. and *Lactococcus* spp. counts were found to be higher in the fruit kefirs than in plain kefir. At the end of the incubation stage, apricot kefir had the highest acidity (0.73) and strawberry kefir and apricot kefir had the lowest pH (5.80). The yeast count was found to be the highest in apricot kefir ($5.00 \log_{10}$ cfu/ml) and the lowest in banana kefir ($4.00 \log_{10}$ cfu/ml). At the end of the storage period (at +4°C), apricots kefir (0.70) had the highest acidity and the pH level was higher in all fruit kefirs when compared with plain kefir (5.20). Yeast counts were found to be the lowest in apricot kefir ($3.04 \log_{10}$ cfu/ml). Comparison of fruit kefirs with sensory analysis failed to identify any statistically significant effect of the fruit on the sensory characteristics, but the best-liked types were banana and plain kefir. We proved that the added varieties of fruit affected the pH and acidity levels of the kefir and also influenced the development of microflora, so we concluded that this could consequently affect the product's shelf life.

Keywords: Fruit kefir, Microflora, Chemical and sensory analysis, *Lactococcus* and *Lactobacillus* spp.

ÖZ

Farklı Meyve İlaveleri ile Hazırlanan Kefirlerin Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Özellikleri

Bu çalışmada, kefirlerin üretim aşamasında katılan (%20) meyvelerin (çilek, kaysı, muz), kefirlerin inkübasyon (0. 3. 6. 9. 12. 15. 18. 21. saatler) ve muhafaza süresi (1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 14. günler) boyunca kimyasal (titre edilebilir asitlik, pH), mikrobiyolojik (*Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. ve maya) ve duyusal özellikleri üzerine etkisi araştırıldı. Çalışmada meyveli kefirler için değerler; sade kefirlerle karşılaştırıldığında önemli farklılıklar olduğu saptandı ($p < 0.05$). Bu farklılıklar hem meyve çeşitleri arasında hem de örneklerin analiz edilen zaman aralıklarında görüldü. İnkübasyon ve muhafaza sürelerinin sonunda *Lactobacillus* spp. ve *Lactococcus* spp. sayılarının meyveli kefirlerde sade kefirlerden daha fazla olduğu tespit edildi. İnkübasyon aşamasının sonunda en yüksek asitlik (0.73) kayısı kefir, en düşük pH (5.80) kayısı ve çilekli kefirde bulundu. Maya sayısı ise en yüksek kayısı (5.00 \log_{10} kob/ml) en az muzlu (4.00 \log_{10} kob/ml) kefirde bulundu. Muhafaza süresinin sonunda en yüksek asitlik (0.70) kayısı kefirde görüldü, pH değeri ise tüm meyveli kefirlerde sade kefirlerden (5.20) daha düşük bulundu. Maya sayıları ise en düşük kayısı kefirlerde (3.04 \log_{10} kob/ml) tespit edildi. Meyveli kefirler arasında yapılan duyusal analizde ise, meyvelerin duyusal niteliklere istatistiksel olarak bir etkisi olmadığı tespit edilirken, en beğenilenlerin muzlu ve sade kefir olduğu tespit edildi. Sonuç olarak, katılan meyve çeşitlerinin kefirlerin pH ve asitlik değeri ile mikroflora gelişimini etkilediği ve dolayısıyla ürünün raf ömrünü etkileyebileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Meyveli kefir, Mikroflora, Duyusal ve kimyasal analiz, *Lactococcus* ve *Lactobacillus* türleri

INTRODUCTION

In the Turkish language, the word 'kefir' is associated with something enjoyable that gives pleasure. It is a milk product made by placing kefir grains into fresh milk and waiting for the resulting alcohol and acid fermentation to occur (Motilva et al. 2013). Kefir is also known as *kefyr*, *kephir*, *kefer*, *kiaphur*, *knapon*, *kepi* and *kipi* (Arslan 2015) and it is thought that it was first made in the Caucasus (Özden 2008). It is known that after the 19th century, kefir production became widespread in countries throughout eastern and central Europe (Russia, Germany, Poland, Slovakia, Denmark, Switzerland, Norway and Hungary) (Karatepe et al. 2012; Saloff-Coste 1996).

Kefir is made up of grains that are 3-35 mm in size with a yellowish, cauliflower-like appearance. It has a complex makeup of bacteria and yeasts surrounded by a polysaccharide matrix (Achaintre et al. 2016). When milk is fermented by these lactic acid bacteria together with numerous other bacteria that exhibit symbiotic metabolic activity (such as *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. caucasicus*, *L. acidophilus*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Enterococcus durans*, *L. citrovorum*, *L. diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter ransens*) and yeasts (*Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*) (Witthuhn et al. 2005), this activity produces lactic acid, CO₂ and a small amount of ethanol and aromatic substances (acetaldehyde, acetone and diacetyl). These components give kefir its distinctive sensory characteristics (Arslan 2015; Güzel-Seydim et al. 2000). The type and relative ratios of the microorganisms in the grain varies, along with their geographic, the characteristics of the milk used to make kefir, the incubation period, and the storage duration and temperature (Yaygin 1995).

This experimental study was conducted in order to promote kefir consumption and increase product variety by investigating changes in the sensory and chemical characteristics and the effects on microflora during the incubation and storage periods, where strawberry, apricot and banana fruit pulp was added to the kefir during the fermentation stage.

MATERIALS and METHODS

Making Fruit Kefir

Kefir grains obtained from the Nutritional Hygiene Department of Kafkas University's Veterinary Faculty were inoculated at a ratio of 2% into milk obtained from the Kafkas University Veterinary Faculty Farm, where the milk had dry content of 12.4%, fat content of 3%, was pasteurized for 5 minutes at 90° C and then cooled to 25° C. After inoculation, the milk was separated into four groups in order to make banana, strawberry, apricot and plain varieties. After the aforementioned fruit purées were added to each of the groups (*First the peels, stems and leaves were separated from the fruit, and then they were puréed and pasteurized at 65°C*) at a ratio of 20%, the combination was mixed with a sterile plastic spoon and then fermented at a temperature of 25°C for approximately 21 hours until the pH level reached. After incubation, the kefir was stored at 4 °C for analysis (Aksu and Nas 1996).

Analytical Methods

Chemical and microbiological analysis of the fruit kefir was conducted at 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18 and 21 hours into the incubation period and on days 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 of storage. Sensory analyses were performed on the day after the production of fruit kefir was complete. All of the analyses were done twice. Titratable acidity (LA) and pH measurements were performed using a pH-meter (Hanna HI 8521) (Meyer et al. 2007). *Lactobacillus* spp. counts were determined using MRS agar (Oxoid CM 361) (Anon 1983), while the *Lactococcus* spp. counts were made using M17 agar (Oxoid CM785) (Dave and Shah 1996; Elmer and James 2001). Yeast counts were determined using Potato Dextrose Agar (Oxoid CM 139) in accordance with the recommendations of Elmer and James (2001). For sensory analysis, the fruit kefirs were evaluated on the day after production by 5 panelists using a 9-point hedonic scale (1: worst, 9: extraordinary) in terms of appearance, viscosity, smell, flavor (Clark et al. 2008; Metin 2006). All of the data obtained from chemical, microbiological and sensory analyses were analyzed using ANOVA procedures using SPSS (Statistical Software 10.0 for Windows, SPSS). Significant differences between parameters were calculated using the Tukey comparison test at p< 0.05 (Pripp 2013).

RESULTS and DISCUSSION

In this evaluation of kefir made using different kinds of fruits, it was determined that levels of pH, acidity, *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. and yeast grew at very different rates during the incubation and storage stages and that these differences were statistically significant (p<0.05). These differences were found both between the kinds of fruit and between the various time points of the analysis.

Chemical analysis of the kefir showed that apricot kefir had the lowest initial pH value (6.10) of all the varieties. This situation continued until the end of the incubation period, but at the end of the storage period plain kefir had the highest pH value (5.20), followed by apricot kefir (5.00). At the end of the storage period, strawberry kefir had the lowest pH level (4.80). Dinç (2008) conducted a study that determined that the pH level of plain kefir (4.26) was higher than that of fruit kefir (4.13). Similarly, a study of the microbiological and chemical qualities of kefir sold in Ankara, Turkey found the pH level of plain kefir to be 4.73 while fruit kefirs had an average of 4.65 (Uslu 2010). A study by Yılmaz et al. (2006) found that kefir's pH value was 5.23, a study by Güzel-Seydim et al. (2005) found it to be 4.55, and a study by Öner et al. (2010) found the ratio to be 6.32. Garrote et al. (2001), however, found the pH levels of kefir samples to be much lower (3.5- 4.0).

At the beginning of the incubation, banana kefir had the lowest acidity value at 0.14% LA, while strawberry kefir was found to have the highest at 0.21 (p=0.00). Throughout the incubation period, the acidity of the fruit kefirs continually increased and at the end of the incubation period, plain kefir was found to have the lowest acidity (0.42). The situation did not change at the end of the storage period, where plain kefir was also found to have the lowest acidity (p=0.00). The fruit kefirs were observed to have a rapid and continual increase in acidity during the incubation period and throughout the storage period, depending on the kind of fruit. Dinç (2008) investigated kefir sold on the market and found that the acidity of plain kefir (0.78% LA) was lower than that of fruit kefir (0.82% LA), as was the case in our study.

Table 1. Average values for the chemical and microbiological parameters of samples during the incubation period (\log_{10} cfu/ml \pm Std deviation)

	Sample	Incubation periods (Hours)								
		0. hour	3. hours	6. hours	9. hours	12. hours	15. hours	18. hours	21. hours	
pH	Plain	6.500 \pm 0.14 ^{Ba}	6.380 \pm 0.10 ^{Aab}	6.200 \pm 0.11 ^{Aabc}	6.000 \pm 0.07 ^{Ac}	6.100 \pm 0.07 ^{Ac}	6.000 \pm 0.06 ^{Ac}	5.760 \pm 0.04 ^{Ad}	6.000 \pm 0.07 ^{Ae}	P=0.00
	Strawberry	6.400 \pm 0.10 ^{ABa}	6.280 \pm 0.10 ^{Aa}	5.900 \pm 0.07 ^{Bb}	5.800 \pm 0.07 ^{Ab}	5.900 \pm 0.03 ^{Bb}	5.400 \pm 0.06 ^{Ccd}	5.500 \pm 0.03 ^{Bc}	5.800 \pm 0.07 ^{Ade}	P=0.00
	Banana	6.500 \pm 0.13 ^{Ba}	6.000 \pm 0.23 ^{Ab}	5.900 \pm 0.07 ^{Bb}	6.000 \pm 0.07 ^{Ab}	5.900 \pm 0.03 ^{Bb}	5.800 \pm 0.03 ^{Bbc}	5.600 \pm 0.09 ^{ABc}	6.000 \pm 0.07 ^{Ad}	P=0.00
	Apricot	6.100 \pm 0.07 ^{Ab}	6.400 \pm 0.14 ^{Aa}	5.900 \pm 0.03 ^{Bcd}	5.800 \pm 0.07 ^{Ad}	6.000 \pm 0.03 ^{ABbc}	5.400 \pm 0.03 ^{Ce}	5.200 \pm 0.06 ^{Cf}	5.800 \pm 0.07 ^{Agh}	P=0.00
		P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	
Acidity (LA)	Plain	0.170 \pm 0.00 ^{Bg}	0.170 \pm 0.00 ^{Cg}	0.220 \pm 0.00 ^{Cf}	0.260 \pm 0.00 ^{Ce}	0.300 \pm 0.00 ^{Cd}	0.330 \pm 0.00 ^{Cc}	0.380 \pm 0.00 ^{Db}	0.420 \pm 0.00 ^{Da}	P=0.00
	Strawberry	0.210 \pm 0.00 ^{Ae}	0.210 \pm 0.00 ^{Be}	0.260 \pm 0.00 ^{Bd}	0.294 \pm 0.00 ^{Bc}	0.294 \pm 0.00 ^{Cc}	0.450 \pm 0.00 ^{Bb}	0.430 \pm 0.01 ^{Cb}	0.510 \pm 0.00 ^{Ca}	P=0.00
	Banana	0.140 \pm 0.00 ^{Cf}	0.260 \pm 0.00 ^{Ae}	0.270 \pm 0.00 ^{ABe}	0.294 \pm 0.00 ^{Bd}	0.410 \pm 0.00 ^{Ac}	0.440 \pm 0.00 ^{Bb}	0.460 \pm 0.00 ^{Bb}	0.650 \pm 0.00 ^{Ba}	P=0.00
	Apricot	0.200 \pm 0.01 ^{Ag}	0.220 \pm 0.00 ^{Bg}	0.280 \pm 0.00 ^{Af}	0.330 \pm 0.00 ^{Ae}	0.354 \pm 0.03 ^{Be}	0.530 \pm 0.00 ^{Ad}	0.650 \pm 0.00 ^{Ac}	0.730 \pm 0.00 ^{Aab}	P=0.00
		P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	
Lactobacillus spp.	Plain	4.372 \pm 0.15 ^{Ac}	4.041 \pm 0.31 ^{Bd}	4.146 \pm 0.03 ^{Bd}	4.899 \pm 0.07 ^{BCc}	5.463 \pm 0.13 ^{Db}	5.621 \pm 0.02 ^{Db}	6.857 \pm 0.03 ^{Ba}	6.903 \pm 0.03 ^{Ba}	P=0.00
	Strawberry	4.316 \pm 0.09 ^{Abc}	4.996 \pm 0.03 ^{Aa}	4.115 \pm 0.31 ^{Bc}	4.724 \pm 0.18 ^{Cbc}	6.447 \pm 0.03 ^{Ca}	6.845 \pm 0.07 ^{Ca}	6.972 \pm 0.03 ^{Ba}	7.000 \pm 0.10 ^{Ba}	P=0.00
	Banana	3.593 \pm 0.11 ^{Be}	3.778 \pm 0.03 ^{Be}	4.301 \pm 0.03 ^{Be}	5.358 \pm 0.28 ^{Bd}	7.256 \pm 0.12 ^{Ac}	7.172 \pm 0.00 ^{Bc}	7.491 \pm 0.03 ^{Abc}	7.892 \pm 0.03 ^{Aab}	P=0.00
	Apricot	4.643 \pm 0.15 ^{Ae}	4.903 \pm 0.03 ^{Ae}	5.918 \pm 0.31 ^{Ad}	6.716 \pm 0.09 ^{Ac}	6.792 \pm 0.12 ^{Bc}	7.475 \pm 0.00 ^{Aab}	7.602 \pm 0.06 ^{Aab}	7.982 \pm 0.06 ^{Aa}	P=0.00
		P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	
Lactococcus spp.	Plain	4.114 \pm 0.03 ^{Cg}	3.833 \pm 0.03 ^{Ch}	4.556 \pm 0.03 ^{Df}	5.000 \pm 0.11 ^{De}	5.833 \pm 0.03 ^{Bd}	6.146 \pm 0.03 ^{Cc}	7.591 \pm 0.03 ^{Cb}	7.342 \pm 0.03 ^{Da}	P=0.00
	Strawberry	5.447 \pm 0.03 ^{Ae}	5.146 \pm 0.03 ^{Ag}	5.114 \pm 0.03 ^{Cg}	5.255 \pm 0.07 ^{Cf}	5.556 \pm 0.03 ^{Cd}	7.556 \pm 0.03 ^{Ab}	7.255 \pm 0.03 ^{Dc}	8.342 \pm 0.03 ^{Ba}	P=0.00
	Banana	4.732 \pm 0.03 ^{Bg}	4.301 \pm 0.03 ^{Bh}	5.740 \pm 0.03 ^{Bf}	6.477 \pm 0.07 ^{Be}	6.919 \pm 0.00 ^{Ad}	7.204 \pm 0.03 ^{Bc}	9.301 \pm 0.07 ^{Aa}	9.079 \pm 0.00 ^{Ab}	P=0.00
	Apricot	5.477 \pm 0.03 ^{Af}	5.204 \pm 0.03 ^{Ag}	6.000 \pm 0.07 ^{Ae}	7.813 \pm 0.07 ^{Ab}	7.000 \pm 0.10 ^{Ad}	7.255 \pm 0.03 ^{Bc}	9.041 \pm 0.00 ^{Ba}	7.699 \pm 0.07 ^{Cb}	P=0.00
		P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	
Yeast	Plain	2.447 \pm 0.00 ^{Da}	3.000 \pm 0.12 ^{Cb}	3.342 \pm 0.00 ^{BCe}	3.477 \pm 0.00 ^{De}	3.643 \pm 0.00 ^{Dd}	5.602 \pm 0.06 ^{Aa}	4.000 \pm 0.07 ^{Cc}	4.699 \pm 0.07 ^{Bb}	P=0.00
	Strawberry	2.623 \pm 0.00 ^{Cg}	2.914 \pm 0.00 ^{Cf}	3.914 \pm 0.00 ^{Ae}	4.146 \pm 0.03 ^{Ac}	4.204 \pm 0.03 ^{Ac}	5.556 \pm 0.03 ^{Aa}	4.903 \pm 0.00 ^{Ab}	4.041 \pm 0.00 ^{Cd}	P=0.00
	Banana	3.301 \pm 0.00 ^{Ad}	3.778 \pm 0.00 ^{Ac}	3.200 \pm 0.15 ^{Cd}	3.845 \pm 0.03 ^{Cbc}	3.933 \pm 0.00 ^{Cbc}	4.301 \pm 0.03 ^{Ba}	4.301 \pm 0.07 ^{Ba}	4.000 \pm 0.07 ^{Cb}	P=0.00
	Apricot	3.204 \pm 0.00 ^{Be}	3.415 \pm 0.00 ^{Bd}	3.447 \pm 0.01 ^{Bd}	4.000 \pm 0.06 ^{Bc}	4.079 \pm 0.00 ^{Bc}	5.699 \pm 0.07 ^{Aa}	4.000 \pm 0.07 ^{Cc}	5.000 \pm 0.07 ^{Ab}	P=0.00
		P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	

Capital letters (A, B, C,...) indicate statistical difference between groups in the same column, while miniscule letters (a, b, c,...) indicate the statistical difference between groups on the same line.

Table 2. Average values for the chemical and microbiological parameters of samples during the storage period (log₁₀ cfu/ml ± Std deviation)

Sample	Storage periods (Days)									
	1. day	2. days	3. days	4. days	5. days	6. days	7. days	14. days		
pH	Plain	5.200±0.03 ^{Aab}	4.900±0.06 ^{A c}	5.400±0.06 ^{Aa}	5.000±0.03 ^{Abc}	5.200±0.03 ^{Aab}	5.300±0.03 ^{Aa}	5.300±0.03 ^{Aa}	5.200±0.03 ^{Aab}	P=0.00
	Strawberry	4.600±0.03 ^{ABe}	4.300±0.03 ^{Df}	5.200±0.03 ^{Ba}	4.700±0.03 ^{Cde}	4.800±0.03 ^{Ccd}	5.000±0.03 ^{Cb}	4.900±0.03 ^{Dbc}	4.800±0.03 ^{Dcd}	P=0.00
	Banana	4.900±0.03 ^{Aabc}	4.700±0.03 ^{Bc}	4.800±0.03 ^{Cbc}	4.700±0.03 ^{Cc}	4.900±0.03 ^{Babc}	5.000±0.03 ^{Cab}	5.000±0.03 ^{Cab}	4.900±0.03 ^{Cabc}	P=0.00
	Apricot	4.860±0.04 ^{Bcd}	4.500±0.03 ^{Ce}	4.800±0.03 ^{Cd}	4.800±0.03 ^{Bd}	4.900±0.03 ^{Bcd}	5.100±0.03 ^{Bab}	5.100±0.03 ^{Bab}	5.000±0.03 ^{Bbc}	P=0.00
		P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00
Acidity (LA)	Plain	0.470±0.00 ^{Cb}	0.540±0.01 ^{Cb}	0.550±0.00 ^{Da}	0.560±0.01 ^{Ca}	0.570±0.00 ^{Ca}	0.560±0.00 ^{Ba}	0.570±0.00 ^{Ca}	0.560±0.00 ^{Ca}	P=0.00
	Strawberry	0.570±0.00 ^{Be}	0.680±0.00 ^{Bc}	0.740±0.00 ^{Ca}	0.710±0.00 ^{Ab}	0.650±0.00 ^{Bd}	0.680±0.00 ^{Ac}	0.690±0.00 ^{Abc}	0.680±0.00 ^{Ac}	P=0.00
	Banana	0.750±0.00 ^{Ab}	0.840±0.00 ^{Aa}	0.850±0.00 ^{Aa}	0.680±0.01 ^{Bc}	0.690±0.00 ^{Ac}	0.700±0.01 ^{Ac}	0.640±0.00 ^{Bd}	0.630±0.00 ^{Bd}	P=0.00
	Apricot	0.740±0.00 ^{Ab}	0.690±0.01 ^{Bd}	0.790±0.00 ^{Bg}	0.700±0.00 ^{ABcd}	0.640±0.00 ^{Be}	0.690±0.00 ^{Ad}	0.710±0.00 ^{Ac}	0.700±0.00 ^{Ac}	P=0.00
		P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00
<i>Lactobacillus</i> spp	Plain	7.806±0.04 ^{Aab}	8.340±0.03 ^{Aa}	7.477±0.31 ^{Aab}	7.875±0.03 ^{Aab}	7.881±0.31 ^{Aab}	7.982±0.03 ^{Aab}	8.000±0.18 ^{Aab}	8.000±0.33 ^{Aab}	P=0.00
	Strawberry	7.079±0.31 ^{Bc}	8.544±0.31 ^{Aa}	7.699±0.31 ^{Ab}	7.826±0.03 ^{Ab}	8.000±0.10 ^{Aab}	8.000±0.35 ^{Aab}	8.114±0.31 ^{Aab}	8.079±0.00 ^{Aab}	P=0.00
	Banana	6.980±0.12 ^{Bc}	8.477±0.03 ^{Aa}	7.857±0.03 ^{Ab}	7.468±0.32 ^{Abc}	7.982±0.31 ^{Aab}	7.940±0.31 ^{Aab}	8.079±0.18 ^{Aab}	8.041±0.31 ^{Aab}	P=0.00
	Apricot	7.902±0.03 ^{Aa}	7.079±0.31 ^{Bbc}	7.934±0.02 ^{Aa}	7.978±0.31 ^{Aa}	8.000±0.33 ^{Aa}	8.07±0.31 ^{Aa}	8.146±0.31 ^{Aa}	8.114±0.03 ^{Aa}	P=0.00
		P=0.02	P=0.01	P=0.510	P=0.438	P=0.989	P=0.988	P=0.981	P=0.986	
<i>Lactococcus</i> spp	Plain	9.079±0.00 ^{Ca}	7.903±0.00 ^{Cc}	8.000±0.10 ^{Dc}	8.857±0.03 ^{Cb}	9.079±0.00 ^{Aa}	8.903±0.00 ^{Bb}	6.690±0.03 ^{Dd}	6.681±0.03 ^{Dd}	P=0.00
	Strawberry	8.415±0.03 ^{Ae}	8.806±0.03 ^{Ac}	9.114±0.03 ^{Ab}	9.580±0.03 ^{Aa}	7.813±0.03 ^{Cf}	8.643±0.00 ^{Cd}	7.580±0.03 ^{Bg}	7.568±0.03 ^{Bg}	P=0.00
	Banana	8.477±0.03 ^{Ab}	8.806±0.03 ^{Aa}	8.301±0.03 ^{Cc}	8.380±0.03 ^{Dbc}	8.778±0.03 ^{Ba}	8.477±0.00 ^{Db}	7.322±0.03 ^{Cd}	7.301±0.03 ^{Cd}	P=0.00
	Apricot	8.748±0.07 ^{Bde}	8.531±0.03 ^{Bf}	8.875±0.03 ^{Bcd}	9.301±0.07 ^{Ba}	8.301±0.03 ^{Cg}	8.982±0.00 ^{Abc}	8.699±0.03 ^{Ae}	8.690±0.03 ^{Ae}	P=0.00
		P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	
Yeast	Plain	5.778±0.03 ^{Bb}	6.000±0.07 ^{Ca}	5.602±0.03 ^{Ac}	5.954±0.00 ^{Aa}	4.602±0.03 ^{Bde}	4.556±0.03 ^{Bde}	4.544±0.03 ^{Be}	4.531±0.03 ^{Be}	P=0.00
	Strawberry	5.301±0.03 ^{Cd}	6.954±0.00 ^{Aa}	5.531±0.03 ^{Ab}	5.380±0.03 ^{Bc}	4.477±0.03 ^{Cf}	4.663±0.03 ^{Ae}	4.653±0.03 ^{Ae}	4.643±0.03 ^{Ae}	P=0.00
	Banana	4.991±0.00 ^{Dd}	6.000±0.11 ^{Ca}	5.000±0.11 ^{Bc}	5.301±0.03 ^{Bb}	4.748±0.03 ^{Ad}	4.556±0.03 ^{Be}	4.544±0.03 ^{Be}	4.531±0.03 ^{Be}	P=0.00
	Apricot	6.204±0.03 ^{Aa}	6.301±0.03 ^{Ba}	5.079±0.00 ^{Bb}	3.602±0.03 ^{Cc}	3.146±0.03 ^{Dde}	3.079±0.00 ^{Ce}	3.079±0.00 ^{Ce}	3.041±0.00 ^{Ace}	P=0.00
		P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	P=0.00	

Capital letters (A, B, C,...) indicate statistical difference between groups in the same column, while miniscule letters (a, b, c,...) indicate the statistical difference between groups on the same line.

Table 3. Total points awarded by the panelists for the characteristics samples

SCORING	PLAIN				STRAWBERRY			
	Appearance %	Viscosity %	Smell %	Flavor %	Appearance %	Viscosity %	Smell %	Flavor %
Extraordinary (9)	20 (3)		13.33 (2)	66.66 (10)		20 (3)		40 (6)
Very good (8)	13.33 (2)	66.66 (10)	20 (3)	6.66 (1)	6.66 (1)			6.66 (1)
Good (7)	33.33 (5)	13.33 (2)	40 (6)	6.66 (1)	40 (6)	20 (3)	6.66 (1)	20 (3)
Some good (6)	13.33 (2)	20 (3)	6.66 (1)	20 (3)	20 (3)	26.66 (4)	26.66 (4)	33.33 (5)
Undecided (5)	6.66 (1)				20 (3)	20 (3)	33.33 (5)	
A little bad (4)	6.66 (1)		13.33 (2)		6.66 (1)		6.66 (1)	
Bad (3)	6.66 (1)	6.66 (1)				6.66 (1)	6.66 (1)	
Very bad (2)						6.66 (1)	6.66 (1)	
Worst (1)							13.33 (2)	
Point	102	116	98	123	87	92	67	113

SCORING	BANANA				APRICOT			
	Appearance %	Viscosity %	Smell %	Flavor %	Appearance %	Viscosity %	Smell %	Flavor %
Extraordinary (9)	33.33 (5)	20 (3)	55.33 (8)	33.33 (5)		6.66 (1)	6.66 (1)	26.66 (4)
Very good (8)	46.66 (7)	26.66 (4)	13.33 (2)	13.33 (2)	13.33 (2)		33.33 (5)	6.66 (1)
Good (7)	6.66 (1)	33.33 (5)	26.66 (4)	6.66 (1)	13.33 (2)	40 (6)	26.66 (4)	6.66 (1)
Some good (6)	13.33 (2)	20 (3)		13.33 (2)	26.66 (4)	40 (6)	6.66 (1)	40 (6)
Undecided (5)				33.33 (5)	20 (3)	6.66 (1)	6.66 (1)	6.66 (1)
A little bad (4)			6.66 (1)		6.66 (1)			13.33 (2)
Bad (3)					13.33 (2)	6.66 (1)	6.66 (1)	
Very bad (2)							13.33 (2)	
Worst (1)								
Point	120	112	120	105	79	65	95	100

Another study found that the acidity of plain kefir was an average of 0.82% LA while that of fruit kefirs was 0.90% LA (Uslu 2010). In a study conducted on kefir varieties made from different animal species, Öner et al. (2010) reported that the acidity of kefir made from cow milk was 9.15 SH.

In that study, banana kefir was found to have the lowest count of *Lactobacillus* spp. 3.59 log₁₀ cfu/ml; beginning of the incubation but 8.11 log₁₀ cfu/ml; end of the storage. Plain kefir was reported to have the lowest *Lactobacillus* spp. count at the end of the storage period. In the microbiological analysis of kefirs, plain kefir had the lowest *Lactococcus* spp. count at the beginning and end of the study. *Lactococcus* spp. counts changed constantly in the fruit kefirs throughout the storage period, where apricot kefirs had the highest value at the beginning of the incubation (5.47 log₁₀ cfu/ml) and end of the storage period (8.69 log₁₀ cfu/ml). Among other studies, Dinç (2008) found quite the opposite situation; with *Lactobacillus* spp. counts reported as being higher (8.80 log₁₀ cfu/ml) and fruit kefirs being lower (8.32 log₁₀ cfu/ml). Uslu (2010) reported a bacteria count of 6.36 log₁₀ cfu/ml in plain kefir and 6.50 log₁₀ cfu/ml in fruit kefir. Öner et al. (2010) reported a *Lactobacillus* spp. count of 8.50 log₁₀ cfu/ml at the end of the storage period, Çetinkaya and Elal-Mus (2012) reported a count of 1.0x10²-5.90x10⁸, and Güzel-Seydim et al. (2005) recorded a *Lactobacillus* spp. count of 6.26 log₁₀ cfu/ml. Öner et al. (2010) reported a *Lactococcus* spp. count of 8.23 log₁₀ cfu/ml at the end of the storage period, while Altay et al. (2013) reported a count of 1.0x10⁶-6.3x10⁸. Yaman et al. (2016) used kefir grains to make kefir from cow and sheep milk and stored it for 7 days at 4 °C. They reported that the *Lactococcus* + *Leuconostoc* spp. counts fell from 9.68 - to 7.25 log₁₀ cfu/ml in kefir made from cow

milk, while kefir made from sheep milk dropped from 9.00 - to 8.00 log₁₀ cfu/ml during the same period.

Yeast counts were found to be the lowest in plain kefir at the beginning of the incubation period, but this situation changed at the end of the incubation and storage periods. Banana kefir had the lowest value (4.53 log₁₀ cfu/ml) at the end of the incubation, while at the end of the storage period, apricot kefir's level dropped to below its value at the beginning of the incubation (3.04 log₁₀ cfu/ml). Öner et al. (2010) reported a yeast count of 5.34 log₁₀ cfu/ml at the end of the storage period, while Çetinkaya and Elal-Mus (2012) reported a count of <1.0x10²-1.10x10⁶. Uslu (2010) reported an average yeast count of 6.70 cfu/ml in plain kefir and 6.44 log₁₀ cfu/ml in fruit kefir. The study conducted by Dinç (2008) reported an average yeast count of 4.05 log₁₀ cfu/ml in plain kefir and 3.23 log₁₀ cfu/ml in fruit kefirs. Similarly, our study also found that yeast counts in the samples differed depending on the kefir culture as well as the type and amount of fruit that was added.

In the organoleptic analysis conducted on the appearance, consistency, smell and flavor of the samples, banana kefir had the best appearance, consistency and smell (120, 112 and 120 points), while plain kefir had the best flavor (123 points). In the overall evaluation, panelists liked banana kefir the best (457 points), followed by plain, strawberry and apricot kefir (439/359/339 points). The study conducted by Uslu (2010) also reported that panelists liked banana kefir the best, that they liked the flavor of strawberry kefir the least, and that kefir with a thicker consistency were preferred, as was the case in our study. Özer and Atamer (1994) attributed this situation to the fact that environmental acidity drops as the pH level increases, and because the viscosity is affected by the consequent reduction in the denaturation rate. In our study, the kefirs that had the highest pH level (plain and

banana) also received the most points for viscosity and in general the panelists liked them more.

In conclusion, this study showed that the type of fruit has an influence on the population development of the kefir flora, so we concluded that this could consequently affect the product's shelf life. Fruit additions have been shown to improve the sensory properties of kefir. It is thought that kefir can increase in consumption.

The results of analyzing the chemical (acidity and pH) and microbiological (*Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp. and yeast) effects during the incubation and storage of fruit kefirs have been shown in Table 1. Furthermore, the results of evaluations of the sensory analysis conducted on the varieties of fruit kefir have been shown in Table 2. The results of the chemical analysis that was conducted show that at the beginning and end of the incubation period and at the end of the storage period, acidity was 0.17/0.42/0.56% LA in plain kefir, 0.21/0.51/0.68% LA in the strawberry kefir, 0.14/0.65/0.63% LA in the banana kefir and 0.20/0.73/0.70% LA in the apricot kefir. In at these points the pH levels were 6.50/6.00/5.20 for plain kefir, 6.40/5.80/4.80 for strawberry kefir, 6.50/6.00/4.90 for banana kefir and 6.10/5.80/5.00 for apricot kefir.

Microbiological analysis of the microflora levels at the beginning and end of the incubation period and at the end of the storage period revealed that *Lactobacillus* spp. counts were 4.37/6.90/8.00 log₁₀ cfu/ml for plain kefir, 4.31/7.00/8.08 log₁₀ cfu/ml for strawberry kefir, 3.59/7.89/8.04 log₁₀ cfu/ml for banana kefir and 4.64/7.98/8.11 log₁₀ cfu/ml for apricot kefir. *Lactococcus* spp. log₁₀ cfu/ml counts were determined to be 4.11/7.34/6.68 log₁₀ cfu/ml for plain kefir, 5.44/8.34/7.56 log₁₀ cfu/ml for strawberry kefir, 4.73/9.08/7.30 log₁₀ cfu/ml for banana kefir and 5.47/7.69/8.69 log₁₀ cfu/ml for apricot kefir. Yeast counts were determined to be 2.44/4.69/4.53 log₁₀ cfu/ml for plain kefir, 2.62/4.04/4.64 log₁₀ cfu/ml for strawberry kefir, 3.30/4.00/4.53 log₁₀ cfu/ml for banana kefir and 3.20/5.00/3.04 log₁₀ cfu/ml for apricot kefir.

For sensory analysis of the kefirs (Table 3) panelists evaluated the appearance, viscosity, smell and flavor, awarding 102/116/98/123 points to plain kefir, 87/92/67/113 to strawberry kefir, 120/112/120/105 to banana kefir and 79/65/95/100 to apricot kefir. Average values for the chemical and microbiological parameters of the fruit kefir during the incubation and storage periods (log₁₀ cfu/ml ± Std deviation) have also been given in Table 1 and Table 2

REFERENCES

- Achaintre D, Buleté A, Cren-Olivé C, Li L, Rinaldi S, Scalbert A (2016). Differential isotope labelling of 38 dietary polyphenols and their quantification in urine by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal Chem*, 88, 2637-2644.
- Aksu MY, Nas S (1996). Manufacturing techniques of concentrated mulberry juice and some of its physicochemical properties. *Gıda*, 21, 83-88.
- Altay F, Karbancıoğlu-Güler F, Daşkaya-Dikmen C, Heperkan D (2013). A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: microbiota, fermentation process and quality characteristics. *Int J Food Microbiol*, 167, 44-56.
- Anon (1983). *Yogurt. Enumeration of Characteristic Microorganisms*. IDF Standard E 117. Belgium.
- Arslan S (2015). A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *Cyta J Food*, 13, 340-345.
- Clark S, Costello M, Drake M, Bodyfelt F (2008). "The Sensory Evaluation of Dairy Products," CRC Press and Woodhead Publishing Limited, Springer, Newyork, p 43-71.
- Çetinkaya F, Elal-Mus T (2012). Determination of microbiological and chemical characteristics of kefir consumed in Bursa. *Ankara Univ Vet J*, 59, 217-221.
- Dave RI, Shah NP (1996). Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and *bifidobacteria*. *J Dairy Sci*, 79, 1529-1536.
- Diñç A (2008). Kefirin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesinin belirlenmesi. Uzmanlık tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Elmer M, James SL (2001). *Applied Dairy Microbiology*, Marcel Dekker: Technology and Industrial Arts, Newyork, 385-396.
- Garrote GL, Abraham AG, Antoni G (2001). Chemical and microbiological characterization of kefir grains. *J Dairy Res*, 68, 639-652.
- Güzel-Seydim ZB, Seydim AC, Greene AK, Bodine AB (2000). Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. *J Food Compos Anal*, 13, 35-43.
- Güzel-Seydim ZB, Wyffels JT, Seydim AC, Greene AK (2005). Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscopic observation. *Int J Dairy Tech*, 58, 25-29.
- Karatepe P, Yalçın H, Patır B, Aydın I (2012). Kefir ve kefir mikrobiyolojisi. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 10, 1-10.
- Metin M (2006). "Süt ve süt ürünlerinin analiz metotları: Fiziksel, Kimyasal ve Duyusal analiz," *Ege Üniversitesi yayınları*, No: 24, İzmir, p.251-290.
- Meyer AL, Elmadafa I, Herbacek, I, Micksche M (2007). Probiotic, as well as conventional yogurt, can enhance the stimulated production of proinflammatory cytokines. *J Hum Nutr Diet*, 20, 590-598.
- Motilva MJ, Serra A, Macià A (2013). Analysis of food polyphenols by U-HPLC coupled to mass spectrometry: an overview. *J Chromatog*, 1292, 66-82.
- Öner Z, Karahan AG, Çakmakçı ML (2010). Effects of different milk types and starter cultures on kefir. *Gıda*, 35, 177-182.
- Özden A (2008). Biyo yoğurt-Pro biyotik Yoğurt (Kefir). AÜ Tıp Fak, Gastroenteroloji Bilim Dalı. *Güncel Gastroenteroloji*. 12(3):169-181.
- Özer HB, Atamer M (1994). Serum proteinlerinin yoğurt jelin kıvamına etkisi. *Gıda Derg*, 18, 1-5.
- Pripp A (2013). *Statistics in Food Science and Nutrition*. Springer, Newyork, p. 7-23.
- Saloff-Coste CJ (1996). Kefir. *Danone World Newsletter*, 11, 5-7.
- Uslu G (2010). Ankara'da satışa sunulan kefirlerin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal ve duyusal özelliklerinin araştırılması. Uzmanlık tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.
- Witthuhn RC, Schoeman T, Britz TJ (2005). Characterization of the microbial population at different stages of kefir production and kefir grain mass cultivation. *Int Dairy J*, 15, 383-389.
- Yaman H, Elmalı M, Kamber U (2016). Observation of lactic acid bacteria and yeast populations during fermentation and cold storage in cow's, ewe's and goat's milk kefirs. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 113-118.
- Yaygın H (1995). "Yoğurt" III. *Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu*, 2-3 Haziran 1994 İstanbul, Milli Produktivite Merkezi Yayınları, 145-148, Ankara.
- Yılmaz L, Yılsay TO, Beyazıt AA (2006). The sensory characteristics of berry flavored kefir. *Czech J Food Sci*, 24, 26-32.



Immunolocalization of Atrial Natriuretic Peptide and C-Type Natriuretic Peptide In Healthy and Pre-Eclamptic Human Placenta

Özlem EREKLİ¹ Kenan ÇINAR¹ Mustafa ÖZTOP²

¹ Süleyman Demirel University, Faculty of Art and Science, Department of Biology Isparta, Turkey

² Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Art and Science, Department of Biology, Burdur, Turkey

Received: 25.07.2018

Accepted: 22.11.2018

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the immunohistochemical distribution of atrial natriuretic peptide (ANP) and C-type natriuretic peptide (CNP) in normal and pre-eclamptic human placentas. Tissue samples from maternal and fetal parts of pre-eclamptic (n:6) and healthy human placentas (n:6) were subjected to routine tissue processing. Avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) immunohistochemistry was applied to formalin-fixed, paraffin-embedded placenta sections collected onto poly-l-lysine slides to demonstrate ANP and CNP expression. Immunohistochemistry revealed immunoreactivity for ANP and CNP in fetal and maternal tissues. On the fetal side of the preeclampsia group, strong ANP and CNP immunoreactivity were detected in the amniotic epithelium, fetal vessels, villous syncytiotrophoblast plate, villous vascular endothelial cells and smooth muscle cells than the healthy group. On the maternal side of the pre-eclampsia group, decidual cells exhibited lower ANP and CNP immunoreactivity than healthy group. These data indicate that increased ANP and CNP expression relating to preeclampsia might serve as a compensatory function to properly maintain uteroplacental perfusion and fetal development during pregnancy.

Keywords: Preeclampsia, Atrial natriuretic peptide, C-Type natriuretic peptide, Placenta, Pregnancy

öz

Sağlıklı ve Pre-Eklampsili İnsan Plasentasında Atrial Natriüretik Peptid ve C-Tip Natriüretik Peptidin İmmunolokalizasyonu

Bu çalışmada sağlıklı ve pre-eklampsili insan plasentalarında atrial natriüretik peptid (ANP) ve C-tip natriüretik peptidin (CNP) immunohistokimyasal dağılımlarının belirlenmesi amaçlandı. Pre-eklampsili (n:6) ve sağlıklı insan plasentalarının (n:6) maternal ve fetal kısımlarından alınan doku örnekleri rutin doku işleme sürecinden geçirildi. ANP ve CNP ekspresyonunu göstermek için poli-lizinli lamalar üzerine alınan kesitlere avidin-biyotin-peroksidaz kompleksi (ABC) yöntemi uygulandı. İmmunohistokimya, fetal ve maternal dokulardaki ANP ve CNP immunoreaktivitesini ortaya çıkarıldı. Pre-eklampsili grubun fetal tarafındaki amniyon epitelinde, fetal kan damarlarında, villöz sinsitiyotrofoblast hücrelerinde, villöz damar endotel hücrelerinde ve düz kas hücrelerinde sağlıklı gruba göre güçlü ANP ve CNP immunoreaktivitesi saptandı. Maternal tarafındaki desidual hücrelerde ise sağlıklı grubuna nazaran daha zayıf ANP ve CNP immunoreaktivitesi gözlemlendi. Bu sonuçlar, pre-eklampsili ile ilgili olarak artan ANP ve CNP ekspresyonunun gebelik sürecinde utero-plasental perfüzyon ve fetal gelişimin uygun bir şekilde devam etmesi için telafi edici bir fonksiyon görebileceğini akla getirmektedir.

Anahtar Kelimeler: Pre-eklampsi, Atrial natriüretik peptid, C-Tip natriüretik peptid, Plasenta, Gebelik

INTRODUCTION

Preeclampsia is a multifactorial pregnancy-specific vascular disorder which severely affects an estimated 3% to 8% of all pregnancies worldwide (Khan et al. 2006). It is a prevalent and severe complication arisen in human pregnancy and characterized by maternal hypertension, proteinuria and edema, placental dysfunction and intrauterine growth restriction (Ghuman et al. 2009). The leading cause of the disease is that multiple factors of

genetical, dietary, hematological or autoimmunological origin upset the delicate balance between the production of endogenous vasodilator and vasoconstrictor substances (Brown 1995). This endocrine impairment results in vasospasm, increased sensitivity to vasoconstrictors and hypertension (Lim and Gude 1995; Graham et al. 1996). Restriction of fetal growth may be due to insufficient blood supply from placenta which develops secondary to reduced uteroplacental blood flow and placental-bed atherosclerosis (Gude et al. 2000).

Although its pathophysiology and etiology still remain elusive, the pre-eclampsia results from the failure to complete spiral artery remodeling, a process that transforms from the uterine spiral arteries into low-resistance, high-capacity vessels enabling adequate blood supply to the growing fetus (Boeldt and Bird 2017). In this process, extravillous trophoblasts invades the maternal spiral arteries, resulting in the derangement of smooth muscle cell and loss of endothelial lining from the vessel wall to dilate its lumen (Harris 2011). For a successful spiral artery remodeling, the process initiated with trophoblast invasion is tightly regulated by multiple factors (Redman and Sargent 2005). Among these factors, natriuretic peptides may have a pivotal role in the regulation of these processes.

Of natriuretic peptides, atrial natriuretic peptide (ANP) is a hormone secreted by the atria in response to increased blood volume, as well as synthesized by other organs such as hypothalamus, pituitary gland, adrenal medulla, gastrointestinal system, thymus, corpus luteum, ovarium and testis (Ivanova et al. 2003). ANP plays a role in female pregnancy by promoting trophoblast invasion and spiral artery remodeling in uterus (Wang et al. 2012; Zhou and Wu 2013). In pregnant rats, ANP receptors are localized to the placenta, placental maternal vessels, uterine smooth muscle, yolk sac and decidual area (Scott 1993). In addition, ANP is also synthesized in human placenta (Lim and Gude 1995; Gude et al. 2000).

Another natriuretic peptide crucial for maintaining fetal-maternal homeostasis, CNP (C-type natriuretic peptide), is widely expressed in other tissues, especially vascular endothelium (Sellitti et al. 2011). Endothelium-derived CNP exerts local effects on vascular smooth muscle cells, thereby enabling vasorelaxation and venodilation (Suga et al. 1993). Although vascular actions of CNP in humans remain to be fully elucidated, studies in small ruminants have recently shown an increase in CNP levels during early and late gestational periods when maternal nutrient uptake is restricted. These suggest that CNP is strongly associated with placental and fetal maturation (McNeill et al. 2009; McNeill et al. 2012; Madhavan et al. 2017). Moreover, CNP may have a compensatory or organ-specific function in the human reproductive tissue under pathophysiological conditions (Stepan et al. 2002). Therefore, maternal plasma CNP concentration may be increased due to fetal growth retardation or impaired placental blood flow (Reid et al. 2014).

Pregnancy triggers extensive alterations in maternal vasculature to deliver a constant supply of blood to the growing fetus. Pregnancy-induced hypertensive complications like preeclampsia may arise when these alterations do not occur properly (Giannubilo et al. 2017). For both mother and fetus, natriuretic peptides appear to be key players in the development of a better adaptation to the pregnancy. However, expression patterns of ANP and CNP in the healthy and pre-eclamptic human placentas have not been fully elucidated. Here, we aimed to determine the immunohistochemical distribution of ANP and CNP in the healthy and pre-eclamptic human placentas.

MATERIALS and METHODS

Tissue Preparation

The present study was conducted with the approval of Suleyman Demirel University, Medicine Faculty, Clinical Research Ethical Committee (dated 27/07/2016 and

numbered 128/72867572-050-3022). The study material was obtained from Department of Gynecology and Obstetrics, Research and Practice Hospital, Süleyman Demirel University. Tissue samples harvested from maternal and fetal parts of 6 pre-eclamptic (mean age: 25.17 years, mean weight: 95.67 kg, mean gestational age: 252±15 days) and 6 healthy (mean age: 25.67 years, mean weight: 85 kg, mean gestational age: 268±4.6 days) human placentas were fixed in 10% phosphate-buffered (pH=7.2) formalin solution for 10 days at room temperature. Formalin was removed with running water overnight, followed by dehydration in ascending alcohol series. After dehydration, samples were cleared in xylene and embedded in paraffin wax. Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) samples were cut into 5–7 µm sections using rotary microtome (RM2125RT, Leica, Nussloch, Germany) and collected on poly-L-lysine coated slides.

Immunohistochemistry

Sections were dewaxed with xylene and rehydrated through a descending series of ethanol. In order to unmask antigenic sites, tissue sections were boiled in sodium-citrate buffer (pH= 6.0) for 15 min in a microwave oven at full-power. After cooling for 20 min, slides were incubated for 10 min in 0.3% H₂O₂ in ethanol to quench endogenous peroxidase activity, and then rinsed in phosphate-buffered saline (PBS, pH=7.2) for three times, each for 5 minutes. After this point, all incubations were performed in a humidified chamber at room temperature. All dilutions were made according to the manufacturer's instructions. Non-specific binding was blocked with normal goat serum (diluted 1:10, Sigma, USA) for 30 min. Following removal of excess serum, slides were incubated with primary anti-ANP (1:100, Elabscience, EAP0498) and anti-CNP (1:100, Elabscience, E-AB-16009) for one hour. After three PBS washes, the slides were incubated with biotinylated goat anti-rabbit IgG antibody (1:400, Sigma, USA). After three PBS washes again, the slides were treated with ExtrAvidin–Peroxidase (1:100, Sigma, USA). The resulting signal was developed with 0.05% 3,3 diaminobenzidine (DAB-Plus substrate kit, Invitrogen, Camarillo, CA) for 10 min. The slides were then counterstained with Gill (III) Hematoxylin, dehydrated and mounted in entellan (107960, Merck, Darmstadt, Germany). ANP and CNP immunostaining was evaluated under a light microscope (Olympus CX41, Tokyo, Japan) by the presence of a brown color chromogen (DAB). Photos were taken using a DP26 digital camera (Olympus, Tokyo, Japan). All dilutions were as specified by the respective manufacturer's instructions. Non-specific immune serum was substituted for primary antibody as the negative control. Rat heart was used as the positive control. All protocols were performed in a humidity chamber at room temperature unless stated otherwise

RESULTS

Immunohistochemistry revealed ANP reactivity in the endothelium and smooth muscle cells of the stem villi in both healthy (Figure 1A) and pre-eclamptic (Figure 1B) samples, the former displaying higher intensity staining. Within the healthy group, the same regions of arteries were also positive for CNP staining (Figure 1C). In addition, within the pre-eclampsia group, ANP and CNP immunoreactivity was present in the atheromatous plaques of stem villi (Figure 1B and D). ANP (Figure 2A) and CNP (Figure 2C) immunoreactivity was observed in endothelium and smooth muscle cells of fetal blood vessels in the healthy group.

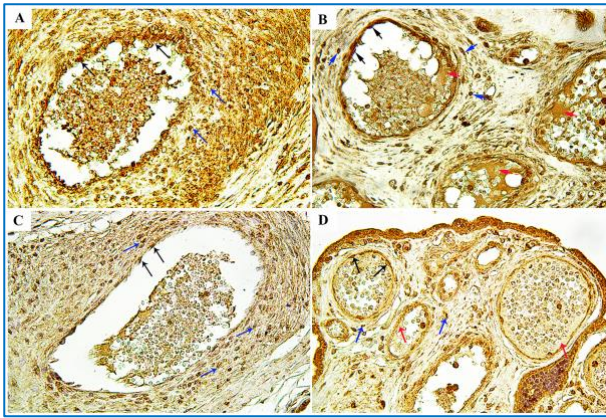


Figure 1. ANP and CNP immunoreactivity in the healthy (A, C) and pre-eclampsia (B, D) group, respectively. Endothelial cells (black arrows), media layer (blue arrows) and atheromatous plaques (red arrows). ABC, 40x.

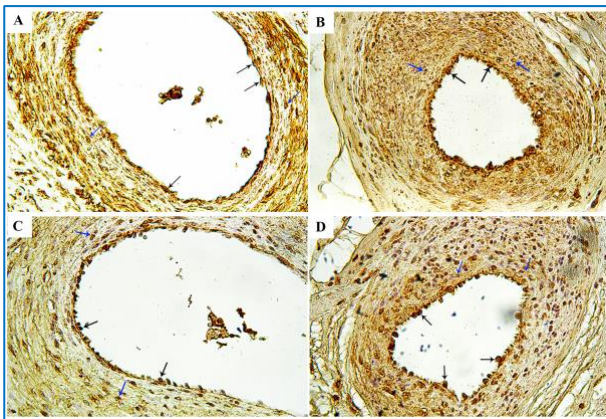


Figure 2 ANP and CNP immunoreactivity in the healthy (A, C) and pre-eclampsia (B, D) group, respectively. Endothelial cells (black arrows) and media layer (blue arrows) of fetal blood vessels. ABC, 40x.

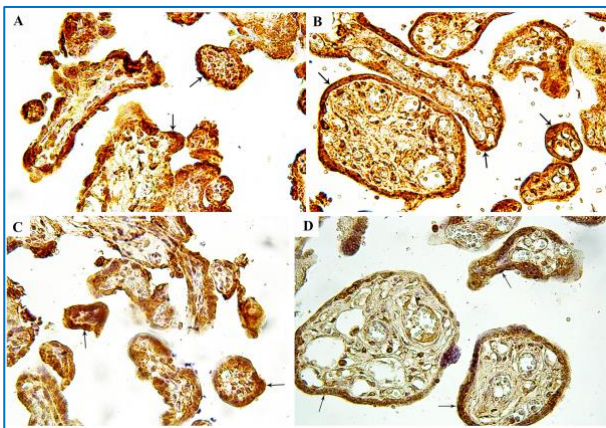


Figure 3. ANP and CNP immunoreactivity in the healthy (A, C) and pre-eclampsia (B, D) group, respectively. Syncytiotrophoblast cells (black arrows). ABC, 40x.

In the pre-eclampsia group, these areas exhibited more intense ANP (Figure 2B) and CNP (Figure 2D) immunoreactivity. Furthermore, ANP and CNP staining in syncytiotrophoblast cells of the stem villi was more prominent in the pre-eclampsia group (Figure 3B and D) than that in the healthy group (Figure 3A and C). While the decidual cells displayed an intense ANP (Figure 4-A) and

CNP (Figure 4-C) immunoreactivity in the healthy group, they had a weak ANP (Figure 4-B) and CNP (Figure 4-D) staining in the pre-eclampsia. ANP (Figure 5B) and CNP (Figure 5D) immunostaining were more intense in the amniotic epithelial cells of the pre-eclampsia group compared to the healthy group (Figure 5A and C). While the epithelial cells of the pre-eclamptic amnion had similar levels of ANP and CNP expression, the same cell group in the healthy amnion had more pronounced ANP immunolabelling compared to CNP.

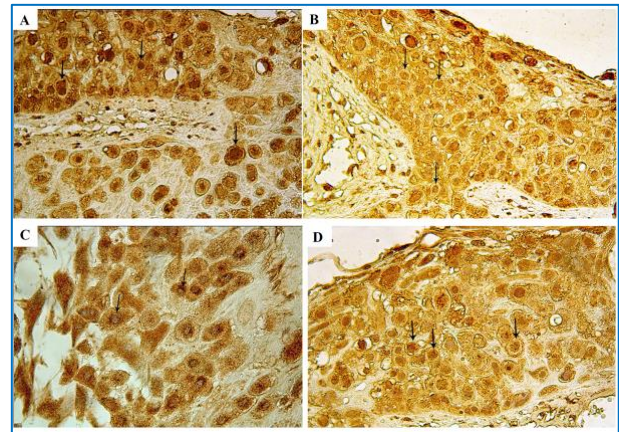


Figure 4. ANP and CNP immunoreactivity in the healthy (A, C) and pre-eclampsia (B, D) group, respectively. Decidual cells (black arrows). ABC, 40x.

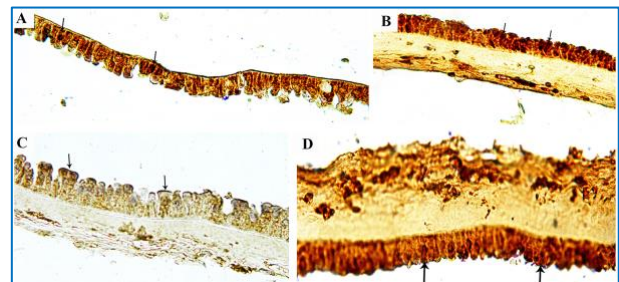


Figure 5. ANP and CNP immunoreactivity in the healthy (A, C) and pre-eclampsia (B, D) group, respectively. Amnion epithelial cells (black arrows). ABC, 40x.

DISCUSSION

During fetal development, natriuretic peptides are involved in the regulation of blood pressure and body fluid homeostasis, and in the growth and development of bones and cardiovascular tissues (Cameron et al. 1996). Vascular endothelial and smooth muscle cells produce a large number of vasoactive proteins, notably among which are endothelium-derived relaxant factor, ANP, CNP and endothelin (Rampersad et al. 2011). Furthermore, ANP receptors are found to be localized to the endothelial cells and smooth muscle cells of the arteries and veins, which suggests an association of ANP with the regulation of regional blood flow in the placenta (Scott 1993). In line with the current literature, we have also observed the ANP and CNP immunoreactivity in the vascular endothelial and smooth muscle cells. Of those, ANP is thought to play a role in the uterine relaxation during pregnancy since natriuretic peptide receptors are expressed in human placenta and myometrium (Itoh et al. 1994). Given the vasodilatory nature of ANP, increased ANP release in hypertensive pregnancies may act as a compensatory mechanism for vasospasm (Lumme et al. 1992). Using *in*

vitro autoradiography, Scott (1993) demonstrated that placenta, visceral yolk sac and decidua possess binding sites for ANP during the 16th, 18th, and 20th days of the rat gestation. Researcher also found that in the yolk sac, ANP localized to the villous vessels has a particular binding affinity for the receptors located on the maternal blood vessels supplying the decidual region and placenta. ANP was shown to be localized to rat (Huang et al. 1992) and human term (Gude et al. 2000) placental cytotrophoblasts but not to syncytiotrophoblasts. This contradicts with our observations showing the ANP immunoreactivity in the syncytiotrophoblasts. ANP has been reported to be neither synthesized nor stored within the normal term placenta (Inglis et al. 1993). Contradictions between these studies in terms of the absence (Inglis et al. 1993) or presence of the ANP expression in two trophoblastic cell types (Huang et al. 1992; Gude et al. 2000) may arise from methodological differences. The surprising finding of our study is that ANP might be produced by syncytiotrophoblasts under pre-eclamptic conditions. This needs to be further clarified using current cell isolation techniques and molecular methods.

Our study revealed that both healthy and pre-eclampsia groups had ANP expression in the endothelial and smooth muscle cells of the villous vessels, as well as in the decidual cells. However, ANP staining was more prominent in the healthy group. Lower ANP expression in the preeclampsia group might result from the poor blood flow. The present findings and the current literature (Lumme et al. 1992; Scott 1993; Itoh et al. 1994; Gude et al. 2000; Rampersad et al. 2011) reinforce the notion that placental ANP might play a role in the regulation of maternal-fetal circulation. Our study showed higher immunoreactivity for ANP in the decidua in the healthy group compared to preeclamptic group. CNP expression was detected throughout the media layer, but not the adventitia layer of the all vessels, as well as in the cultured human smooth muscle cells (Kelsall et al. 2006). Those reported by Kelsall et al. (2006) are consistent with the present findings of CNP expression. The literature (Cameron et al. 1996; Kelsall et al. 2006) and the present study suggest that CNP expressed by vascular smooth muscle cells may have the ability to regulate vascular tone independently of the endothelium.

Pregnancies complicated by preeclampsia are associated with decreased plasma volume and central venous pressure. Concentrations of ANP were measured in a study by a specific radioimmunoassay to explore the hypothesis that plasma ANP concentrations are low in the preeclampsia due to deficient secretion (Thomsen et al. 1987). They found that the mean plasma concentration of immunoreactive ANP in healthy pregnant women was higher than that in non-pregnant healthy individuals. The mean concentration in pregnancies with mild and severe pre-eclampsia was also significantly higher than in normal healthy pregnancies. In another study (Minegishi et al. 1999) investigating the possible role of ANP in the physiology of pregnancy and pathophysiology of preeclampsia, ANP plasma concentrations were measured in nonpregnant women, healthy, and preeclamptic pregnancies. They reported that while plasma ANP concentrations in healthy pregnancies remained constant throughout pregnancy, plasma ANP levels in the preeclamptic pregnancies were significantly increased. Our results are in line with the those reported by Thomsen et al. (1987) and Minegishi et al. (1999).

In the light of the above findings, there might be several reasons for the increased concentration of plasma ANP in

the pre-eclampsia. A possible reason is that reduced metabolic clearance of ANP by NPR-C due to renal impairment may lead to an increase in circulating plasma concentrations of ANP in pre-eclamptic pregnancies. High blood pressure could be another reason, as reported by Sagnella (1986). These data suggest, therefore, that pre-eclampsia is associated with increased plasma concentrations of ANP. Furthermore, increased blood volume during pregnancy might be linked with the increased levels of maternal plasma ANP and the fetus could produce its own ANP in response to stimulating factors.

Extravillous trophoblasts invade the uterine wall (interstitial invasion) and the spiral arteries (endovascular invasion), which in turn changes the cells of the vessel wall and forms a high-flow low-resistance vessel (Cartwright et al. 2002). Impaired trophoblast invasion prevents the spiral arteries from dilating (Greer et al. 1989). According to the endothelial dysfunction theory, the pathogenesis of preeclampsia is associated with angiogenic and anti-angiogenic factors. Imbalance in both of these factors affects successful trophoblast invasion and spiral artery remodeling (Keman et al. 2009). Pregnant ANP-deficient mice developed high blood pressure and proteinuria, both of which are characteristics of pre-eclampsia. In these mice, trophoblast invasion and uterine spiral artery remodeling were severely impaired (Wang et al. 2012). Data from these studies (Keman et al. 2009; Wang et al. 2012; Zhou and Wu 2013) indicate that ANP is crucial to physiological changes at the maternal-fetal interface, suggesting that defects in ANP function may result in pre-eclampsia. ANP also regulates trophoblast invasion and spiral artery remodeling and increases uteroplacental perfusion (Cui et al. 2012; Zhou and Wu 2013).

CNP, which possesses anti-atherogenic properties, is expressed in different cell types depending on the progression of atherosclerosis (Naruko et al. 1996). CNP has potent anti-proliferative and anti-migratory effects on vascular smooth muscle cells (SMCs). Vascular cell proliferation and migration are important in the pathophysiology of atherosclerosis. Natriuretic peptide system in human coronary arteries is implicated in the pathogenesis of intimal plaque formation and plays a key role in vascular remodeling (Casco et al. 2002). CNP expression was previously detected in the endothelial cells, media smooth muscle cells and macrophages under normal physiological conditions (Ishizaka et al. 1992; Casco et al. 2002). Depending on the progression of atherosclerotic plaques, CNP immunoreactivity was present in macrophages in advanced lesions, but most of the endothelial cells and smooth muscle cells were CNP-negative (Naruko et al. 1996). Such observations intimate that the severity of atherosclerotic lesions is inversely correlated with the CNP expression (Casco et al. 2002). In our study, while weak CNP immunoreactivity was detected in endothelial and smooth muscle cells of vessels resulting in atheromatous plaque, more intense CNP immunoreactivity was observed in these cells of the preeclampsia group that was affected by atherosclerosis. However, there was no significant difference in CNP immunoreactivity in the atheromatous plaques between the healthy group and preeclampsia group.

CONCLUSION

In conclusion, the most noteworthy finding from this study is that, on the fetal side, multiple cells types including the amniotic epithelium, fetal vessels, villous

syncytiotrophoblast plate, villous vascular endothelial cells and smooth muscle cells had more intense ANP and CNP immunoreactivity in pre-eclampsia group contrary to the healthy group. On the maternal side, however, the healthy group demonstrated a more intense ANP and CNP immunoreactivity in decidual cells. It is considered that increased ANP and CNP expression relating to preeclampsia might serve as a compensatory function to properly maintain uteroplacental perfusion and fetal development during pregnancy.

ACKNOWLEDGEMENT

We thank Süleyman Demirel University Coordinatorship of Scientific Research Projects for financial support (Project No: 4762-YL1-16).

REFERENCES

- Boeldt DS, Bird IM (2017). Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J Endocrinol*, 232(1), 27-44.
- Brown MA (1995). The physiology of pre-eclampsia. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 22(11), 781-791.
- Cameron VA, Aitken GD, Ellmers LJ, Kennedy MA, Espiner EA (1996). The sites of gene expression of atrial, brain, and C-type natriuretic peptides in mouse fetal development: temporal changes in embryos and placenta. *Endocrinology*, 137(3), 817-824.
- Cartwrighta JE, Kenny LC, Dash PR, Crocker IP, Aplin JD, Baker PN, Whitley GS (2002). Trophoblast invasion of spiral arteries: a novel in vitro model. *Placenta*, 23(2), 232-235.
- Casco VH, Veinot JP, De Bold MLK, Masters RG, Stevenson MM, de Bold AJ (2002). Natriuretic peptide system gene expression in human coronary arteries. *J Histochem Cytochem*, 50(6), 799-809.
- Ghuman N, Rheiner J, Tendler BE, White WB (2009). Hypertension in the postpartum woman: clinical update for the hypertension specialist. *J Clin Hypertens*, 11(12), 726-733.
- Giannubilo SR, Pasculli A, Tidu E, Biagini A, Boscarato V, Ciavattini A (2017). Relationship between maternal hemodynamics and plasma natriuretic peptide concentrations during pregnancy complicated by preeclampsia and fetal growth restriction. *J Perinatol*, 37(5), 484-487.
- Graham CH, Watson JD, Blumenfeld AJ, Pang SC (1996). Expression of atrial natriuretic peptide by third-trimester placental cytotrophoblasts in women. *Biol Reprod*, 54(4), 834-840.
- Greer IA, Haddad NG, Dawes J (1989). Neutrophil activation in pregnancy induced hypertension. *Br J Obstet Gynaecol*, 96(8), 978-982.
- Gude NM, Stebbing PN, Wang L, Xue J, Brennecke SP, Lim AT (2000). Relative abundance of placental pro-atrial natriuretic factor mRNA in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Invest*, 49(2), 114-118.
- Harris LK (2011). IFPA gabor than award lecture: transformation of the spiral arteries in human pregnancy: key events in the remodelling timeline. *Placenta*, 32(Suppl 2), 154-158.
- Huang W, Lee D, Yang Z, Casley D, Throsby M, Copolov DL, Johnston C, Lim AT (1992). Evidence for atrial natriuretic peptide-(5-28) production by rat placental cytotrophoblasts. *Endocrinology*, 131(2), 919-924.
- Inglis GC, Kingdom JC, Nelson DM, Lindop GB, Whittle MJ, Connell JM (1993). Atrial natriuretic hormone: a paracrine or endocrine role within the human placenta. *IJ Clin Endocrinol Metab*, 76(4), 1014-1018.
- Ishizaka Y, Kangawa K, Minamino N, Ishii K, Takano S, Eto T, Matsuo H (1992). Isolation and identification of C-type natriuretic peptide in human monocytic cell line, THP-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 189(2), 697-704.
- Itoh H, Sagawa N, Hasegawa M, Nanno H, Kobayashi F, Ihara Y, Mori T, Komatsu Y, Suga S, Yoshimasa T (1994). Expression of biologically active receptors for natriuretic peptides in the human uterus during pregnancy. *Biochem Biophys Res Commun*, 203(1), 602-607.
- Ivanova MD, Gregoraszcuk EL, Augustowska K, Kolodziejczyk J, Mollova MV, Kehayov IR (2003). Localization of atrial natriuretic peptide in pig granulosa cells isolated from ovarian follicles of various size. *Reprod Biol*, 3(2), 173-181.
- Kelsall CJ, Chester AH, Sarathchandra P, Singer DR (2006). Expression and localization of C-type natriuretic peptide in human vascular smooth muscle cells. *Vascul Pharmacol*, 45(6), 368-373.
- Keman K, Prasetyorini N, Langgar MJ (2009). Perbandingan ekspresi P53, Bcl-2, dan indeks apoptosis trofoblas pada preeklampsia/eklampsia dan kehamilan normal. *INAJOG*, 33(3), 151-159.
- Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gulmezoglu AM, Van Look PF (2006). WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet*, 367(9516), 1066-1074.
- Lim AT, Gude NM (1995). Atrial natriuretic factor production by the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab*, 80(10), 3091-3093.
- Lumme R, Laatikainen T, Vuolteenaho O (1992). Plasma endothelin, atrial natriuretic peptide (ANP) and uterine and umbilical artery flow velocity waveforms in hypertensive pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol*, 99(9), 761-764.
- Madhavan S, Prickett TCR, Espiner EA, Barrell, GK (2017). Nutrient restriction in early ovine pregnancy stimulates C-type natriuretic peptide production. *Reprod Fertil Dev*, 29(3), 575-584.
- McNeill BA, Barrell GK, Ridgway MJ, Wellby MP, Prickett TC, Espiner EA (2012). Caloric restriction, but not caloric loading, affects circulating fetal and maternal C-type natriuretic peptide concentrations in late ovine gestation. *Reprod Fertil Dev*, 24(8), 1063-1070.
- McNeill BA, Barrell GK, Wellby M, Prickett TC, Yandle TG, Espiner EA (2009). C-type natriuretic peptide forms in pregnancy: maternal plasma profiles during ovine gestation correlate with placental and fetal maturation. *Endocrinology*, 50(10), 4777-4783.
- Minegishi T, Nakamura M, Abe K, Tano M, Andoh A, Yoshida M, Takagi T, Nishikimi T, Kojima M, Kangawa K (1999). Adrenomedullin and atrial natriuretic peptide concentrations in normal pregnancy and preeclampsia. *Mol Hum Reprod*, 5(8), 767-770.
- Naruko T, Ueda M, van der Wal AC, van der Loos CM, Itoh H, Nakao K, Becker AE (1996). C-type natriuretic peptide in human coronary atherosclerotic lesions. *Circulation*, 94(12), 3103-3108.
- Rampersad R, Cervar-Zivkovic M, Nelson DM (2011). Development and anatomy of the human placenta. In: *The Placenta: From Development to Disease*, Kay H, Nelson DM, Wang Y (Ed), 19-26, Wiley-Blackwell, United Kingdom.
- Redman CW, Sargent IL (2005). Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*, 308(5728), 1592-1594.
- Reid RA, Prickett TC, Pullar BE, Darlow BA, Gullam JE, Espiner EA (2014). C-type natriuretic peptide in complicated pregnancy: increased secretion precedes adverse events. *J Clin Endocrinol Metab*, 99(4), 1470-1478.
- Sagnella GA, Markandu ND, Shore AC, MacGregor GA (1986). Raised circulating levels of atrial natriuretic peptides in essential hypertension. *Lancet*, 1(8474), 179-181.
- Scott JN (1993). Atrial natriuretic peptide binding in rat placenta, yolk sac, decidua, and maternal placental vessels. *Cell Tissue Res*, 272(2), 391-394.
- Sellitti DF, Koles N, Mendonca MC (2011). Regulation of C-type natriuretic peptide expression. *Peptides*, 32(9), 1964-1971.
- Stepan H, Faber R, Stegemann S, Schultheiss HP, Walther T (2002). Expression of C-type natriuretic peptide in human placenta and myometrium in normal pregnancies and pregnancies complicated by intrauterine growth retardation. Preliminary results. *Fetal Diagn Ther*, 17(1), 37-41.
- Suga S, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, Yoshimasa T, Nakao K (1993). Cytokine-induced C-type natriuretic peptide (CNP) secretion from vascular endothelial cells - evidence for CNP as a novel autocrine/paracrine regulator from endothelial cells. *Endocrinology*, 133(6), 3038-3041.
- Thomsen JK, Storm TL, Thamsborg G, Nully M, Bodker B, Skouby S (1987). Atrial natriuretic peptide concentrations in pre-eclampsia. *Br Med J*, 294(6586), 1508-1510.
- Wang W, Dong N, Lou J, Srinivasan DK, Cheng W, Huang X, Liu M, Fang C, Peng J, Chen S, Wu S, Liu Z, Dong L, Zhou Y, Wu Q (2012). Role of corin in trophoblast invasion and uterine spiral artery remodelling in pregnancy. *Nature*, 484(7393), 246-250.
- Zhou Y, Wu Q (2013). Role of corin and atrial natriuretic peptide in preeclampsia. *Placenta*, 34(2), 89-94.





The Effect of Aglepriston on Some Hematological and Biochemical Parameters Used in Termination of Unwanted Pregnancies in Cats

Nihal EREN¹ Kudret YENİLMEZ²

¹ Countryvet Veterinary Clinic, Göktürk, Eyüp, Istanbul, Turkey

² Namık Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics & Gynecology, Tekirdağ, Turkey

Received: 11.04.2018

Accepted: 10.12.2018

ABSTRACT

In this study the effect of aglepristone in order to create abortion was investigated on some haematological and biochemical parameters on 22-30 days of pregnant cats. Twenty cats that their pregnancy is determined by ultrasonography were randomly divided into two groups. The experimental group (n:15) was formed by giving aglepristone at a dose of 15 mg/kg subcutaneously twice every 24 hours in the first group and the control group (n: 5) was formed by giving the same dose of 0.9% sodium chloride (NaCl) at the same time to the second group. All of the animals in both groups were examined as clinical every day. A complete blood count (CBC) on blood count device and biochemistry parameters Blood urea nitrogen (BUN), creatinine, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), bilirubin, glucose on a Reflotron device were made every 2 days during 15 days. In our study it was observed that 14 of the 15 animals (94.4%) in the experimental group were aborted and 1 of them gave birth healthy at the end of the normal gestational period. In the biochemical analyzes although there were some statistical differences between the experimental and control groups it was observed that all values remained within the range of normal reference values. Consequently, it was concluded that aglepristone can be used successfully for terminated of unwanted pregnancies on 22 - 30 days of pregnant cats and do not have negative effects on hematological and biochemical parameters.

Keywords: Aglepristone, Cat, Hematological, Biochemical, Parameter

ÖZ

Kedilerde İstenmeyen Gebeliklerin Sona Erdirilmesinde Kullanılan Aglepristonun Bazı Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkisi

Bu çalışmada 22-30 günlük gebe kedilerde abort oluşturmak amacıyla kullanılan aglepristonun bazı hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi araştırıldı. Gebelikleri ultrasonografi ile belirlenen 20 adet kedi rastgele iki gruba ayrıldı 1. gruba (n:15) 24 saat ara ile iki kez 15mg/kg dozda aglepriston subcutan uygulanarak deney grubu, 2. gruba (n:5) aynı anda aynı dozda serum fizyolojik uygulanarak kontrol grubu oluşturuldu. Her iki gruptaki hayvanların tamamı her gün klinik muayeneden geçirildi. 15 gün boyunca 2 günde bir kan örnekleri alınarak kan sayım cihazında hemoglobin miktarı (Hb), hematokrit oranı (HCT), akyuvar sayısı (WBC) belirlendi. Kan üre azotu (BUN), kreatinin, Aspartat aminotransferaz (AST), Alanin aminotransferaz (ALT), bilirubin, glukoz ölçümleri Reflotron cihazında yapıldı. Çalışmamızda aglepriston uygulanan deney grubundaki 15 hayvandan 14 tanesinin abort yaptığı (% 94.4), 1 tanesinin normal gebelik süresi sonunda sağlıklı doğum yaptığı gözlemlendi. Yapılan biyokimyasal analizlerde deney ve kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan bazı farklar bulunsada tüm değerlerin normal referans değerleri aralığında kaldığı gözlemlendi. Sonuç olarak aglepristonun 22-30 günlük gebe kedilerde istenmeyen gebeliklerin sona erdirilmesinde başarı ile kullanılabilmesi, hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerinde olumsuz etki oluşturmadığı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Aglepriston, Kedi, Hematolojik, Biyokimyasal, Parametre

GİRİŞ

İstenmeyen gebeliklerin sonlandırılması bazı kedi sahipleri tarafından çeşitli nedenlerle talep edilmektedir. Bu amaçla kullanılan ilaçlardan biri de Aglepristondur.

Aglepriston sentetik bir steroid olup, progesteron blokörüdür (antiprogestin). Aglepriston uterus reseptörlerine bağlanmak için doğal progesteron ile yarışırken köpeklerde 3, kedilerde 9 kat daha üstün bağlanma yeteneğine sahiptir (Fieni ve ark. 2001; Baan ve

ark. 2005; Gogny ve Fieni 2016).

Aglepriston köpeklerde gebeliğin sonlandırılması, (Galac ve ark. 2000; Schafer somi ve ark. 2007; Kaya ve ark. 2014), kedilerde gebeliğin önlenmesi ve abort oluşturulması (Goericke Pesch ve ark 2010; Georgiev ve ark. 2010), tavşanlarda implantasyonun engellenmesi ve abort oluşturulması (Özalp ve ark. 2008; Özalp ve ark 2010), köpeklerde doğumun başlatılması (Fieni ve ark 2001; Baan ve ark. 2005), kedi ve köpeklerde pyometra tedavisi (Gürbulak ve ark. 2005; Nak ve ark. 2009; Hagman 2018), kedilerde mukometranın tedavisi (Georgiev ve Wehrend 2005), kedilerde meme fibroadenomlarının tedavisi (Jurka ve Max 2009; Furthner ve ark. 2018) gibi pek çok kullanım alanı bulmuştur.

Kedilerde istenmeyen gebeliklerin sonlandırılmasında aglepriston deri altı yolla 24 saat ara ile 10-15 mg/kg dozunda iki enjeksiyon olarak önerilmekte, yan etkilerinin azlığından dolayı en çok tercih edilen gebelik sonlandırma yöntemlerinden biri haline geldiği bildirilmektedir (Goericke-Pesch 2010; Musal ve Ağaoğlu 2013).

Kedilerde istenmeyen gebeliklerin sonlandırılması amacıyla aglepriston kullanıldığında; 5-6. günlerde %100, 25-26. günlerde %87, 30-35. günlerde %88.5, 45-46. günlerde %67 oranında gebeliklerin sonlandığı bildirilmiştir (Goericke-Pesch ve ark. 2010; Georgiev ve Wehrend 2006; Fieni ve ark. 2006; Georgiev ve ark. 2010).

Kedilerde ve tavşanlarda gebeliği sonlandırmak için kullanılan aglepristonun güvenli bir abort oluşturduğu ve tedavi ile ilgili yan etkiler görülmediği (Goericke-Pesch ve ark. 2010; Garcia Mitachek ve ark. 2012; Özalp ve ark. 2013; Ay ve ark. 2018), hematolojik ve biyokimyasal değerlerde minimal düzeyde değişiklikler oluşturduğu bu değişikliklerin referans değerler aralığında kaldığı bildirilmektedir (Fieni ve ark. 2006; Özalp ve ark. 2013).

Bu çalışmada kedilerde gebeliğin 4. haftasında (22-30 günlük) uygulanan aglepristonun istenmeyen gebeliklerin sona erdirilmesindeki başarı oranı ile bazı hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan grupları

Bu çalışmanın materyalini çiftleşme tarihleri takip edilmiş 2-6 yaş arası 20 adet melez, sağlıklı gebe kedi oluşturdu. Ultrasonografi ile gebeliklerinin 4. haftasında (22-30 günlük) olduğu belirlenen 20 kedi rastlantısal olarak 15 tanesi deney grubu 5 tanesi ise kontrol grubu olacak şekilde iki gruba ayrıldı. Hayvanların her biri ayrı kafeste olacak şekilde barındırıldı, tüm vücut ihtiyaçları göz önünde bulundurularak uygun ticari hazır mama ile beslendi. Günlük tüketecekleri su her zaman hazır bulunduruldu. Deney grubuna 24 saat ara ile iki kez (0. gün ve 1. gün) 15 mg/kg dozda subkutan yolla aglepriston (Alizine, 5 ml flakon, 30 mg aglepriston/ml. Virbac) uygulandı. Kontrol grubundaki hayvanlara aynı anda aynı miktarda subkutan yolla serum fizyolojik uygulandı.

Klinik muayeneler

Çalışmaya alınan bütün hayvanlarda günde bir kez vücut sıcaklığı ölçüldü. Yeme-içme, defekasyon, genel görünüm gözlemlendi. Vulvadaki değişimler, vajinal akıntı ve abort takip edildi.

Kan örneklerinin alınması ve kan analizleri

İlk enjeksiyonun yapıldığı gün 0. gün olarak kabul edildi ve enjeksiyonlardan önce bütün hayvanlardan kan örnekleri alındı. Sonrasında 15 gün boyunca 2 günde bir kez olmak

üzere çalışmaya alınan hayvanların tamamından kan örnekleri vena jugularisden 2cc'lik enjektörle alınarak EDTA'lı tüplere aktarıldı ve QBC-VET Autoreader cihazında hemogram yapıldı. Hemogram sonrasında kan örnekleri 3000 RPM'de 15 dk. santrifüje edilip plazmaları ayrılarak Reflotron cihazında biyokimyasal analizler yapıldı.

İstatistik analizler

İstatistiksel verilerin hazırlanmasında SPSS 22 paket programı kullanıldı. Bulgular, frekans, yüzde, ortalama ve standart sapma olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılıkları karşılaştırmada Man-Whitney U testi kullanıldı, P<0.05 değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

BULGULAR

Gebeliklerinin 22-30. günlerindeki kedilerin yavru kesesi çapları ölçüldü ve fetal kalp atımları tespit edildi. Yavru kesesi çapı ölçülerinin 0.16-0.18 cm (22 günlük gebelik) ile 0.28-0.32 cm (29-30 günlük gebelik) aralığı içinde yer aldığı belirlendi (Şekil 1 ve 2). Deney grubundaki aglepriston uygulanan 15 kediden 14 tanesinde abort oluştu (%94.4). Abortlar ilk aglepriston uygulamasının yapıldığı gün 0. gün kabul edilerek 3-13. günler arasında gerçekleşti (Şekil 3).



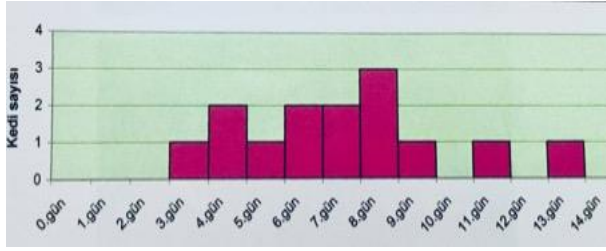
Şekil 1. 28 Günlük Gebe Kedide Ultrasonografik Görüntü
Figure 1. 28 Day Pregnant Cat Ultrasonographic Imaging



Şekil 2. 28 Günlük gebe kedide ultrasonografik görüntü
Figure 2. 28 Day pregnant cat ultrasonographic imaging

Abort yapan hayvanlarda en önemli klinik belirti, koyu kıvamlı, mukuslu, kanlı bir akıntı ve akıntıyı takiben 12-36 saat içinde yavrunun plasentası ile birlikte atılması olarak izlendi. İlaç uygulamasını takiben normal klinik

görünümde bir değişiklik gözlenmedi. Kedilerde yeme-içme ve defekasyon normaldi, kusma görülmedi. Tüm kedilerde verilen uygun miktardaki günlük hazır mama her gün tüketildi. Abort öncesinde ve sırasında sancı belirtileri yok veya yok denecek kadar azdı.



Şekil 3. Abortların günlere dağılımı

Figure 3. Distribution of abortions in the days

Vücut ısısı ölçümleri ve hemogram analizlerinde elde edilen tüm veriler referans değerler aralığında gözlemlendi. SPSS 22 istatistik programı ile kontrol ve deney gruplarının Man-Whitney U testi ile değerlendirilmesi sonucunda gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($P > 0.05$, Tablo 1 ve Tablo 2). Biyokimyasal analizler yönünden grupların günlere göre BUN, ALT, AST, Kreatin, Glukoz ölçümlerinin genel olarak farklı olmadığı ($p > 0.05$), sadece 0.gün ve 2. Gün Grup II ortalama AST değeri ortalamalarının Grup I'e göre daha düşük düzeylerde olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). 8. Ve 10. gün Grup II Glukoz değeri ortalamalarının Grup I'e göre daha yüksek düzeylerde olduğu tespit edildi ($p < 0.05$) (Tablo 3). Gruplar arasında bu farklılıklar olsada tüm veriler normal referans değerler içinde kaldı (Imren ve Şahal 1994; Turgut 2000).

Tablo 1. Günlere göre kontrol ve deney gruplarının vücut sıcaklığı ölçümleri

Table 1. Body temperature measurement of control and experiment groups according to day

Günler	Gruplar	n	\bar{X} Vücut Sıcaklığı (°C)	Standart Sapma	P
0.Gün	Grup I	15	38.46	0.159	0.88
	Grup II	5	38.42	0.148	
1.Gün	Grup I	15	38.41	0.140	0.90
	Grup II	5	38.38	0.130	
2.Gün	Grup I	15	38.38	0.120	0.86
	Grup II	5	38.34	0.134	
3.Gün	Grup I	15	38.37	0.130	0.81
	Grup II	5	38.34	0.114	
4.Gün	Grup I	15	38.40	0.180	0.82
	Grup II	5	38.36	0.114	
5.Gün	Grup I	15	38.38	0.150	0.87
	Grup II	5	38.34	0.114	
6.Gün	Grup I	15	38.40	0.150	0.89
	Grup II	5	38.36	0.114	
7.Gün	Grup I	15	38.36	0.130	0.85
	Grup II	5	38.32	0.130	
8.Gün	Grup I	15	38.36	0.120	0.83
	Grup II	5	38.30	0.122	
9.Gün	Grup I	15	38.34	0.100	0.77
	Grup II	5	38.28	0.080	
10.Gün	Grup I	15	38.21	0.160	0.61
	Grup II	5	38.32	0.130	
11.Gün	Grup I	15	38.35	0.126	0.93
	Grup II	5	38.32	0.130	
12.Gün	Grup I	15	38.37	0.130	0.79
	Grup II	5	38.32	0.130	
13.Gün	Grup I	15	38.35	0.124	0.82
	Grup II	5	38.30	0.122	
14.Gün	Grup I	15	38.35	0.137	0.89
	Grup II	5	38.32	0.130	

Tablo 2. Bazı hemogram değerleri açısından kontrol ve deney grupları arasındaki istatistiksel ilişkiler

Table 2. Statistical relationships between control and experimental groups in terms of some hemogram values

Günler	Gruplar	n	$\bar{X} \pm s$			P Hb (gr/dl)	P HCT (%)	P WBC (1000/mcl)
			Hb (gr/dl)	HCT (%)	WBC (1000/mcl)			
0.gün	Grup I	15	11.20±1.388	34.11±4.309	14.98±1.956	0.16	0.06	0.81
	Grup II	5	10.60±1.662	30.36±3.095	14.74±2.098			
2.gün	Grup I	15	10.87±1.369	33.38±4.634	14.72±2.563	0.46	0.08	0.83
	Grup II	5	10.66±1.439	29.18±2.887	14.82±2.111			
4.gün	Grup I	15	10.79±1.540	32.70±4.737	14.94±2.114	0.43	0.09	0.81
	Grup II	5	10.52±1.420	28.02±2.264	14.84±2.231			
6.gün	Grup I	15	10.62±1.506	32.72±5.360	15.24±2.397	0.42	0.11	0.61
	Grup II	5	10.58±1.420	29.48±2.452	14.96±1.991			
8.gün	Grup I	15	10.58±1.481	33.30±4.914	15.39±2.174	0.39	0.08	0.82
	Grup II	5	10.60±1.428	29.04±1.957	15.02±2.053			
10.gün	Grup I	15	10.36±1.550	32.31±4.860	15.17±2.380	0.36	0.07	0.79
	Grup II	5	10.66±1.487	29.52±2.251	15.14±1.604			
12.gün	Grup I	15	10.07±1.570	32.36±4.638	15.03±2.346	0.41	0.09	0.77
	Grup II	5	10.44±1.712	29.70±2.558	15.34±2.274			
14.gün	Grup I	15	10.44±1.457	32.83±5.732	14.90±2.370	0.34	0.08	0.63
	Grup II	5	10.18±1.807	29.56±2.446	15.00±1.689			

X±sX

Tablo 3. Bazı biyokimyasal değerler açısından kontrol ve deney grupları arasındaki istatistiksel ilişkiler
Table 3. Statistical relations between control and experimental groups in terms of some biochemical values

Günler	Gruplar	n	X±sX					Bilirubin (mg/dl)	P				
			BUN (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	AST (U/L)	ALT (U/L)	Glukoz (mg/dl)		BUN	Kreatinin	AST	ALT	Glukoz
0.gün	Grup I	15	43.80±7.150	1.07±0.187	15.84±2.875	19.94±4.914	109.33±11.573	< 0.5	0.22	0.68	0.03*	0.35	0.06
	Grup II	5	42.56±6.045	1.06±0.153	12.74±2.197	20.84±5.689	111.40±10.212	< 0.5					
2.gün	Grup I	15	44.30±6.180	1.06±0.197	14.15±2.945	20.43±4.279	105.66±12.613	< 0.5	0.23	0.63	0.04*	0.24	0.12
	Grup II	5	45.02±4.973	1.10±0.170	12.74±2.386	21.70±6.479	109.60±17.213	< 0.5					
4.gün	Grup I	15	44.15±6.079	1.09±0.171	15.78±2.890	21.78±4.728	104.46±13.281	< 0.5	0.15	0.75	0.06	0.16	0.46
	Grup II	5	47.38±6.837	1.08±0.122	13.33±4.755	23.70±6.290	107.20±14.872	< 0.5					
6.gün	Grup I	15	45.14±5.827	1.09±0.249	12.71±2.902	20.62±4.320	105.53±12.258	< 0.5	0.92	0.82	0.13	0.09	0.43
	Grup II	5	45.84±3.973	1.04±0.120	13.44±3.393	22.10±7.335	109.60± 9.528	< 0.5					
8.gün	Grup I	15	46.56±3.784	1.09±0.202	14.57±2.681	21.28±4.013	103.46±12.642	< 0.5	0.90	0.93	0.19	0.06	0.04*
	Grup II	5	46.90±5.258	1.09±0.106	13.98±2.677	18.20±4.653	112.60±14.892	< 0.5					
10.gün	Grup I	15	43.93±3.491	1.13±0.232	12.06±3.280	21.12±4.020	105.01±13.141	< 0.5	0.35	0.89	0.64	0.24	0.04*
	Grup II	5	46.12±4.814	1.12±0.090	12.61±3.458	20.56±6.388	111.80± 8.700	< 0.5					
12.gün	Grup I	15	44.94±3.121	1.12±0.186	14.26±3.882	21.72±4.798	104.53±11.575	< 0.5	0.76	0.91	0.08	0.11	0.03
	Grup II	5	45.92±6.199	1.11±0.060	12.62±2.238	23.16±9.659	113.60± 9.607	< 0.5					
14.gün	Grup I	15	44.37±4.197	1.14±0.180	14.43±5.311	22.57±3.978	101.11±14.237	< 0.5	0.81	0.86	0.37	0.07	0.10
	Grup II	5	45.32±5.672	1.06±0.114	13.98±2.869	21.72±5.967	109.20± 8.584	< 0.5					

*P< 0.05 aynı satırda bulunan parametreler arasındaki önemi gösterir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Aglepriston gebeliği sonlandırmak için birçok türde etkinliği kanıtlanmış bir progesteron antagonistidir (Gogny ve Fieni 2016). Köpeklerde, kedilerde, tavşanlarda ve ratlarda yapılan çalışmalarda etkili ve güvenli bir abortif ajan olarak bildirilmiştir (Fieni ve ark. 2006; Ağaoğlu ve ark. 2011; Oguejiofor ve ark. 2013; Özalp ve ark. 2013; Ay ve ark. 2018).

Çalışmamızda 22-30 günlük gebe kedilerde abortif amaçla 24 saat ara ile 15mg/kg dozda subcutan yolla uygulanan aglepriston tek başına %94.4 oranında abort oluşturmuştur. Fieni ve ark. (2006) 33.3±4.2 günlük gebe kedilerde aynı doz ve aynı uygulama ile %88.5 abort bildirirken Georgiev ve Wehrend (2006), 25-26 günlük gebe kedilere 10 mg/kg dozda aglepristonun iki ardışık gün uygulanmasıyla %87, Garcia Mitacek ve ark. (2012) 21-22 günlük ve 35-38 günlük gebeliklerde aynı doz ve aynı uygulama ile %100 abort oranı bildirmiştir. 45-46 günlük geç dönem gebeliklerde uygulanan aglepristonun ise %67 oranında abort oluşturduğu bildirilmektedir (Georgiev ve ark. 2010).

22-30 günlük gebe 15 kedinin kullanıldığı çalışmamızda abortlar ilk aglepriston uygulamasından sonraki 3-13. günler arasında gerçekleşti. Abortların %50'sinin tamamlanıp aşıldığı gün 7. gün olurken, tüm kedilerin %50'sinde abortlar 6. 7 ve 8. günlerde gerçekleşti. Georgiev ve ark. (2010) İlk aglepriston uygulamasından sonraki 4-7. günler (5.8±1.3) arasında abortların gerçekleştiğini bildirirken. Fieni ve ark. (2006) abortların %50'sinin ilk üç gün içinde olmak kaydıyla 8. güne kadar devam ettiğini bildirmiştir. Belirtilen çalışmalarda abortların erken gerçekleşmesinin gebeliğin ilerlemesi ile ilişkili olabileceği çalışmamızda ise erken gebelik faktörünün abortları nispeten geciktirmiş olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda deneme grubu kedilerinde en belirgin klinik belirti olarak vulvada koyu kıvamlı mukuslu ve kanlı akıntı gözlemlendi. Bu akıntıyı takiben 12-36 saat içinde abortlar gerçekleşti. Yavru ve yavru zarlarının atılmasını takiben kanlı akıntı kesildi. Benzer şekilde ratlarda da ilk aglepriston enjeksiyonundan sonraki 24.7±3.8 saat sonra kanlı akıntı bildirilmiştir (Oguejiofor ve ark. 2013). Kedilerde ileri gebelikte abort oluşturmak için kullanılan aglepristonun aborttan hemen önce, abort sırasında ve aborttan sonra 3-6 gün süren kanlı akıntı oluşturduğu bildirilmiştir (Georgiev ve ark. 2010).

Fieni ve ark. (2006) bildirdiğine benzer şekilde, çalışmamızda rektal sıcaklık ölçümlerinde kontrol ve deneme grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmadı. Ancak bireysel değerlendirmede deney grubu kedilerinden 6 tanesinde abort sonrası 2.gün ölçümleri 0.2-0.3 derece daha düşük bulundu. Diğer araştırmacılar (Verstegen 2000; Fieni ve ark. 2006) da köpeklerde abortu takiben 48. saatte 0.3 derecelik genel bir düşmeden bahsetmiştir. Corrada ve ark. (2005) köpeklerde abortif amaçla kullanılan aglepristonun kontrol grubuna göre deneme grubunda önemli derecede vücut ısısını düşürdüğünü bildirdiği halde Özalp ve ark. (2013) tavşanlarda vücut ısısında değişikliğe yol açmadığını bildirmiştir. Fakat kedilerdeki düşüş köpeklere oranla daha az belirgindir. Ayrıca doğum öncesi vücut sıcaklığındaki düşmenin kedilerde, köpeklerdeki kadar tipik olmadığı da bildirilmektedir (Verstegen 2000).

Hematolojik ve biyokimyasal analizleri amacı, östrojen türevleri, prostoglandin ve dopamin antagonistlerinin kullanımında rastlanan enflamasyon ve temel metabolik

faaliyetlerdeki değişimlerin bizim çalışmamızdaki yerini ortaya çıkarmaktı. Değişimler minimal düzeyde oldu. Tüm veriler normal referans değerler aralığında kaldı (İmren ve Şahal 1994; Turgut 2000). Bu takipler, renal veya hepatic yetmezlik oluşmadığını, medüller hipoplaziye kayan hemopoetik bozuklukların veya herhangi bir yangının oluşmadığını düşündürmüştür. Fieni ve ark. (2006) kedilerde abort oluşturmak için aglepriston kullandıkları çalışmalarında da benzer sonuçlar bildirmişlerdir. Buna karşılık Özalp ve ark. (2013) tavşanlarda aglepriston kullanımının RBC, PCV, Hb ve lenfosit değerlerinde önemli değişiklikler yapmadığını, nötrofil sayılarında ise önemli artışlar oluşturduğunu bildirirken Jurka ve Max (2009) fibroadenomlu kedilerde yüksek olan hematolojik değerlerin aglepriston tedavisi ile normal seviyelerine döndüğünü bildirmiştir.

Sonuç olarak, istenmeyen gebeliklerin sonlandırılmasında aglepriston kullanımının etkili olduğu, yan etkilerinin olmaması, annenin genel durumunda bozukluk oluşturmaması, hematolojik ve biyokimyasal değerlerini olumsuz etkilememesi nedenleriyle kedilerde 22-30 günlük istenmeyen gebeliklerin medikal tedavisinde başarıyla kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Agaoglu AR, Schäfer-Somi S, Kaya D, Kucukaslan İ, Emre B, Gultiken N, Mulazımoğlu BS, Colak A, Aslan S (2011). The intravaginal application of misoprostol improves induction of abortion with aglepristone. *Theriogenology*. 76 (1). 74-82.
- Ay SS, Önyay F, Saral G, Kaya D, Aslan S, Fındık M. (2018). The efficacy of alone or combined treatment of aglepristone and cabergoline on termination of mid-term pregnancy in cats. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 24(4).
- Baan M, Taverne MA, Kooistra HS, de Gier J, Dieleman SJ, Okkens AC (2005). Induction of parturition in the bitch with the progesterone-receptor blocker aglepristone. *Theriogenology*. 63 (7). 1958-1972.
- Corrada Y, Garcia P, de la Sota PE, Huzman M, Landoni MF, Gobello C (2005). Decrease of body temperature after aglepristone treatment in bitches. *Anim Reprod Sci*. 87 (3-4). 295-299.
- Fieni F, Martal J, Marnet PG, Siliart B, Guittot F (2006). Clinical, biological and hormonal study of mid-pregnancy termination in cats with aglepristone. *Theriogenology*. 66 (6-7). 1721-1728.
- Fieni F, Martal J, Marnet PG, Bernard F, Riou M, Bruyas PG, Tainturier D (2001). Hormonal variation in bitches after early or mid-pregnancy termination with aglepristone. *J. Reprod Fertil. Suppl* 57. 243-248.
- Furthner E, Pasquet I, Niewiadomska Z, Fontbonne A, Maenhoudt C (2018). Ulcerative fibroadenomatous hyperplasia in pregnant queens: two medically managed cases. *Veterinary Record Case Reports*. 6(2).e000623
- Galac S, Kooistra HS, Butinar J, Bevers MM, Dieleman SJ, Voorhout G, Okkens AC (2000). Termination of mid-gestation pregnancy in bitches with aglepristone a progesterone receptor antagonist. *Theriogenology*. 53 (4). 941-950.
- Garcia Mitacek MC, Stornelli MC, Praderio R, Stornelli MA, de la Sota RL (2012). Efficacy of cloprostenol or aglepristone at 21-22 and 35-38 days of gestation for pregnancy termination in queens. *Reprod Dom Anim*. 47 (6). 200-203.
- Georgiev P, Bostedt H, Goericke-Pesch S, Dimitrov M, Petkov P, Stojanthev K, Tsoneva V, Wehrend A (2010). Induction of abortion with aglepristone in cats on day 45 and 46 after mating. *Reprod Dom Anim*. 45. 161-167.
- Georgiev P, Wehrend A (2005). Mucometra in the cat-five cases. *Tierarztl Prax*. 33:112-114.
- Georgiev P, Wehrend A (2006). Mid-gestation pregnancy termination by the progesterone antagonist aglepristone in queens. *Theriogenology*. 65(7). 1401-1406.
- Goericke-Pesch S, Georgiev P, Wehrend A (2010). Prevention of pregnancy in cats using aglepristone on days 5 and 6 after mating. *Theriogenology*. 74 (2). 304-310.
- Goericke-Pesch S (2010). Reproduction control in cats. *J Feline Med Surg*. 12. 539-546.
- Gogny A, Fieni F (2016). Aglepristone: A review on its clinical use in animals. *Theriogenology*. 85(4). 555-566.

- Gürbulak K. Pancarcı Ş M. Ekinci H. Konuk C. Kırşan I. Uçmak M Toydemir S (2005).** Use of aglepristone and aglepristone + intrauterine antibiotic for the treatment of pyometra in bitches. *Acta Vet Hung.* 53 (2). 249–255.
- Hagman R (2018).** Pyometra in small animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice.* 48(4). 639-661
- İmren HY. Şahal M (1994).** Veteriner İç Hastalıkları Medisan Yayınevi Ankara
- Jurka P. Max A (2009).** Treatment of fibroadenomatosis in 14 cats with aglepristone-changes in blood parameters and follow-up. *Vet Rec* 165(22). 657-660
- Kaya D. Küçükaslan I. Ağaoğlu AR. Ay SS. Schäfer-Somi S. Emre B. Aslan S (2014).** The effects of aglepristone alone and in combination with cloprostenol on hormonal values during termination of mid-term pregnancy in bitches. *Animal reproduction science.* 146(3-4). 210-217.
- Musal B. Ağaoğlu AR (2013).** Gebelik Fizyolojisi In: Köpek ve Kedilerde Doğum ve Jinekoloji. Kaymaz M. Fındık M. Rışvanlı A. Köker A (Ed). Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti. Malatya
- Nak D. Nak Y. Tuna B (2009).** Follow-up examinations after medical treatment of pyometra in cats with the progesterone-antagonist aglepristone. *J Feline Med Surg.* 11. 499-502.
- Oguejiofor CF. Ochiogu IS. Uchendu CN (2013).** Changes in peripheral hormone levels after mid-gestation termination of pregnancy with aglepristone in rats *Vet Arh* 83 (1). 81-91.
- Özalp GR. Temizel EM. Özocak-Batmaz E (2013).** Clinical ultrasonography and haematology of aglepristone-induced mid-gestation pregnancy terminations in rabbits. *J S Afr Vet Assoc.* 84 (1) 998-1001.
- Özalp GR. Çalışkan Ç. Seyrek-İntaş K. Wehrend A (2010).** Effects of the progesterone receptor antagonist aglepristone on implantation administered on days 6 and 7 after mating in rabbits. *Reprod Domest Anim.* 45 (3). 505–508.
- Özalp GR. Seyrek-İntaş K. Çalışkan Ç Wehrend A. (2008).** Mid-gestation pregnancy termination in rabbits by the progesterone antagonist aglepristone. *Theriogenology.* 69 (9). 1056–1060.
- Schäfer-Somi S. Aksoy OA. Beceriklisoy HB. Einspanier A. Hoppen HO. Aslan S (2007).** Repeated induction of abortion in bitches and the effect on plasma concentrations of relaxin, progesterone and estradiol-17beta. *Theriogenology.* 68 (6). 889–895.
- Turgut K (2000).** Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis 2. Baskı Bahçivanlar Basım San. A. Ş. Konya.
- Verstegen J (2000).** Feline reproduction. In: Ettinger SJ, Feldman EC (eds) *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat* (volume 1 and 2). Ed.5. WB Saunders. Philadelphia. 1585-1592.



Clinical and Treatment Evaluation of Congenital Intestinal Atresia Cases in Calves

İbrahim YURDAKUL

Cumhuriyet University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Sivas, Turkey

Received: 31.10.2018

Accepted: 17.01.2019

ABSTRACT

In this study the calves with intestinal atresia like atresia ani, atresia ani & recti, atresia ani & rectovaginal fistula and atresia coli applied to Surgery Clinics of Veterinary Faculty of Cumhuriyet University between 2016-2018 was evaluated on the basis of diagnosis, treatment and results. The material of the study consisted of 19 (9.05%) intestinal atresia calves with different breed, age and gender from the 210 calves brought to the Surgery Clinic between 2016-2018. Various anomalies of intestinal atresia were detected in the calves including atresia ani (1 cases), atresia ani at recti (1 case), atresia ani at rectovaginal fistula (2 cases) and atresia coli (15 cases). In the study, 3 of 19 intestinal atresia cases died in the preoperative period and 2 cases were not allowed to be operated by the animal owner. A total of 5 cases could not be intervened. In the remaining 14 cases, 10 atresia coli, 1 atresia ani, 1 atresia ani et recti and 2 atresia ani et rectovaginal fistula were operated. In the postoperative period, 4 of 10 atresia coli cases survived and 6 cases died; All of the cases who had 1 atresia ani, 1 atresia ani & recti and 2 atresia & rectovaginal fistulas were survived. As a result, the operative intervention in intestinal atresia is quite successful except atresia coli cases. However, it was concluded that early diagnosis of all intestinal atresia including atresia coli would increase the success of operative treatment.

Keywords: Calf, Congenital Malformation, Intestinal atresia

ÖZ

Buzağılarda Kongenital İntestinal Atresia Olgularının Klinik ve Sağaltım Yönünden Değerlendirilmesi

Bu çalışmada; 2016-2018 yılları arasında Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniğine getirilen atresia ani, atresia ani & rekti, atresia ani & rektovaginal fistül ve atresia coli gibi intestinal atresialı buzağuların tanı, uygulanan tedavi şekli ve sonuçları değerlendirildi. Çalışmanın materyalini 2016-2018 yılları arasında Cerrahi Kliniği'ne getirilen 210 adet buzağıdan farklı ırk, yaş ve cinsiyetteki 19 adet (%9.05) intestinal atresialı buzağı oluşturdu. Buzağılarda atresia ani (1 olgu), atresia ani & rekti (1 olgu), atresia ani & rektovaginal fistül (2 olgu) ve atresia coli (15 olgu) olmak üzere çeşitli intestinal anomaliler belirlendi. İntestinal atresia gözlenen 19 olgunun 14' ünün (%73.68) erkek, 5' inin (%26.32) dişi olduğu belirlendi. İntestinal atresia olgularının 11' ini (%57.90) Simmental, 7' sini (% 36.84) Montofon ve 1' ini ise (% 5.56) Yerli ırk buzağular oluşturdu. Çalışmada tespit edilen 19 adet intestinal atresia olgularından 3' ünün preoperatif dönemde ölmesi, 2' sinin ise hayvan sahibi tarafından operatif müdahaleye izin verilmemesi sonucu toplam 5 olguya operasyon yapılamadı. Geriye kalan 14 olgu içerisinde bulunan 10 atresia coli, 1 atresia ani, 1 atresia ani & rekti ve 2 atresia ani & rektovaginal fistül belirlenen olgulara operatif girişim yapılmıştır. Postoperatif dönemde atresia coli olgularından 4' ü hayatta kalmış, 6'sı ölmüş olup 1 atresia ani, 1 atresia ani & rekti ve 2 atresia ani & rektovaginal fistül belirlenen olguların ise tümü hayatta kalmıştır. Sonuç olarak, atresia coli olguları dışındaki intestinal atresialarda operatif girişimin oldukça başarılı olduğu, buna karşın atresia coli dahil olmak üzere tüm intestinal atresiaların erken tanısının operatif sağaltımın başarısını arttıracığı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Doğumsal anomali, İntestinal atresia

GİRİŞ

Doğumdan sonra hayvanlarda görülen her türlü yapı ve fonksiyon bozukluğu kongenital anomali olarak tanımlanır (Alam ve Rahman 2008; Bademkırın ve ark. 2009; Abdel-Hakiem ve Aref 2012). Kongenital anomaliler sayıca az

görülmesine rağmen önemli ekonomik kayıplara yol açması ve genetik olarak yeni nesillere aktarılması nedeniyle büyük önem taşımaktadırlar (Belge ve ark. 2000). Kongenital anomaliler içerisinde yer alan anorektal anomalilerin sindirim sistemi anomalileri içerisinde en

fazla gözlenen anomaliler olduğu bildirilmektedir (Belge ve ark. 2000; Yurdakul 2015).

İntestinal atresia; bağırsak duvarının gelişim anomalisine bağlı olarak bağırsak lümeninin kısmi veya tam kapalı olmasına ya da bağırsak lümeninin bir kısmının tamamen yokluğuna denir (Azizi ve ark. 2010). İntestinal sistemin konjenital anomalileri arasında en sık görülenler stenoz ve atresiadır. Literatürler sıklıkla atresia tipleri arasında belirgin bir sınıflandırma yapmazlarken, bazende bağırsak segmentinin herhangi bir bölgesinde şekillenen stenozu da atresia olarak sınıflandırmaktadırlar (Lombardero ve Yllera 2014). Stenoz; bağırsak lümeninin tam olmayan tıkanması olarak tanımlanır. Bu; bağırsağın lokalize bir daralması veya oluşumunu tamamlamamış eksik bir lumen şeklinde olabilir. Aksine atresia; bağırsak duvarının anormal gelişiminin bir sonucu olarak bağırsak lümeninin tamamen içsel tıkanıklığını gösterir (Lombardero ve Yllera 2014). İntestinal atresialar jejunum, ileum veya tüm ince bağırsağın herhangi bir yerinde; kolon, rektum veya anüste oluşabilmektedir (Göksel ve Sarıtaş 2016). Buzağılarda bağırsak atresiası en sık jejunum, kolon ve rektumda görülür. Bağırsak segmentleri ile ilgili en sık görülen anomali atresia kolidir (Atiba ve Farrag 2016).

İntestinal atresialar 4 tipte sınıflandırılmaktadır. Tip 1 atresiada intestinal lümen bir perde ile tıkalıdır. Bu atresia tipi membran atresiası olarak isimlendirilmektedir. Tip 2 atresiada bağırsağın proksimal ve distal segmentleri kör kese şeklinde sonlanmış ve bu iki kısım birbirlerine fibröz bir band ile bağlanmıştır. Bu atresia tipine fibröz bağ atresiası ismi verilmektedir. Tip 3 atresiada bağırsağın kör kese şeklinde sonlanan proksimal ve distal segmentleri arasında bir boşluk vardır. Bu atresia tipi ise kör uç atresiası olarak isimlendirilmektedir. Tip 4 atresiada birden fazla bağırsak segmentinde atresia görülmektedir (Kılıç ve Sarierler 2004; Yurdakul 2015; Kılıç ve Kibar 2018).

İntestinal atresianın ön tanısı genellikle yaşları 1-6 gün arasında değişen yeni doğan buzağılarda anoreksi, depresyon, abdominal gerginlik, ıkınma gibi klinik bulgularla sağlanır (Abouelnasr ve ark. 2012; Yurdakul 2015; Magsi ve ark. 2016). Atresia ani ve atresia ani & rekti olgularında perineal bölgenin görsel olarak incelenmesinde anal açıklığın olmaması veya körelmiş bir anal açıklığın tespit edilmesi ile (Abouelnasr ve ark. 2012), atresia ani & rektovaginal fistül olguları; ıkınmayla birlikte dışkıının vulvadan geldiğinin görülmesi ile kolayca teşhis edilebilir (Aslan ve ark. 2009). Atresia koli olgularında ise atresia ani & rekti olgularındaki klinik bulgulara ilaveten doğumdan itibaren anal açıklığın olmasına rağmen dışkılamamanın olmaması, anal açıklıktan hafif krem rengeinde bazen de kanla karışık mukus içeriğinin görülmesi atresia koliden şüphelenilmesine yardımcı olur (Koç ve ark. 2001; Abouelnasr ve ark. 2012; Coşkun ve ark. 2017).

İntestinal atresialı buzağılarda doğumdan sonraki ilerleyen günlerde intestinal obstrüksiyona bağlı olarak gelişen abdominal gerginliğe ve endotoksemik şoka bağlı hiperapnea ve taşikardinin oluşabileceği, ayrıca pek çok atresia koli vakalarında dehidrasyonun tespit edilebileceği bildirilmektedir (Magsi ve ark. 2016; Kılıç ve Kibar 2018).

Yapılan bu çalışmada intestinal atresialı buzağılarda klinik, operasyon ve postoperatif sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma materyalini Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniğine dışkı yapamama veya dışkıının vulvadan yapıldığı şikâyeti ile getirilen 1-8 günlük farklı ırk ve cinsiyette toplam 19 adet intestinal atresialı buzağılar oluşturdu (Tablo 1).

Hasta sahiplerinden elde edilen bilgiler doğrultusunda her olgu vücut ısısı, nabız, solunum ve dehidrasyon yönünden muayene edildi. Tüm olguların klinik muayenesinden sonra LL pozisyonlarda abdomenin direkt radyografileri ile rektal yoldan 5-7 ml/kg dozda baryum sülfat (RX süspansiyon %100, 240 gr/240 ml. Recordati ilaç sanayi - Türkiye) verilerek anomalilerin yerinin tespit edilmesi amacıyla 1, 15, 60 ve 120. dakikalarda indirekt radyografileri alındı.

Operasyon öncesi klinik muayene neticesinde dehidrasyon belirlenen hastalara sıvı elektrolit sağaltım amacıyla izotonik sodyum klorür ve %5 dextrose gibi sıvılar verildi.

Atresiaların yerinin tespit edilmesinden sonra operasyona karar verilen olguların tamamına 0.2 mg/kg im dozunda Xylazine HCL (Rompun, Bayer) ile sedasyon eşliğinde bölgenin lokal infiltrasyon anestezisi yapıldı.

Operasyon Tekniği

Atresia ani tanısı konulan 2 olguda anal bölgede belirlenen yere 1.5- 2 cm çapında sirküler bir ensizyon yapılarak deri altı bağ dokuları küt diseksiyonla ayırt edildi. Hayvanın karnına basınç uygulandığında rektumun kör ucunun yaraya doğru kabartı yaptığı görüldü. Bu kabartıya yapılan küt diseksiyon işlemi sonucunda rektum görüldü. Rektum anüs deliği sınırına getirilerek 1 numara poliglaktin 910 (Vicryl; Ethicon) iplik ile buradaki deri altı bağ dokusuna dikildi. Daha sonra bu dikişin ortasından makas yardımıyla sirküler olarak kesit yapıldı ve rektumda biriken mekonyum dışarı alındı. Son olarak rektumun kenarları 1 numara poliglaktin 910 (Vicryl; Ethicon) iplik ile anüs derisine basit ayrı dikişlerle tutturuldu.

Atresia ani & rektovaginal fistül belirlenen 2 olguda öncelikle atresia ani operasyonundaki işlemler yapıldı. Rektumun anüsle normal bağlantısı sağlandıktan sonra vaginal yoldan rektum ve vaginada bulunan defektler basit ayrı dikişlerle kapatıldı.

Atresia ani & rekti belirlenen 1 olguda atresia ani operasyonunda olduğu gibi anal bölgeden girilerek anal bölgeye mesafesi yaklaşık 3 cm olan kranialdeki rektuma ulaşıldı. Rektum; çevresindeki bağ dokulardan küt diseksiyonla ayırt edildi ve bir pens yardımıyla rektum hafifçe anal bölgeye doğru çekilerek atresia ani operasyonundaki işlemler yapılarak operasyon tamamlandı.

Atresia koli tespit edilen 15 olgudan 2 tanesi hasta sahiplerinin operasyonu kabul etmemesi, 3 tanesinin ise klinik muayenelerden sonra preoperatif süre içerisinde ölmesi nedeniyle toplam 5 olguya operatif olarak müdahale edilememiş, kalan diğer 10 atresia koli olgularına ise operasyon yapılmıştır. Buzağılarda 7'inde median laparotomi, 3'ünde sağ fossa paralumbalisten laparotomi yapıldı. Operatif manüvasyonları kolaylaştırmak için sekumun apeksine yapılan 3-4 cm'lik ensizyonla sekum ve ascendes kolon içerisindeki gaz ve mekonyum boşaltıldı ve ensizyon hattı 1 numaralı poliglaktin 910 (Vicryl, Ethicon) ile schmieden ve lembert dikiş tekniği uygulanarak kapatıldı. Daha sonra rektumdan verilen ılık su ve bükülebilir bir sonda anostomoz uygulanacak olan descendes kolonun kör ucuna kadar ilerletildi. Uygulanan sonda rehberliğinde descendes

kolonu atrofik olan 6 buzağıda yan-yan kolorektal anastomoz gerçekleştirildi. Atrezik bölgenin arkasında kalan descendes kolon çapının normalden küçük ve anastomoz yapılamayacak kadar atrofik olmasından dolayı 4 olguda ise colostomy uygulandı.

Postoperatif Bakım

Hayvan sahiplerine operasyon sonrası 3 gün süreyle 1 ml/10 kg metamizol (Difaljin, CEVA-DİF), 7 gün süreyle 8 ml /100 kg parenteral olarak penisilin+streptomisin (Reptopen S, CEVA-DİF) ve operasyon yaralarına da lokal antiseptik uygulamalarının yapılması, ayrıca destekleyici amaçla vitamin (B kompleks ve vitamin C) enjeksiyonları önerildi. Olguların durumu hakkında postoperatif 1 ay süreyle hasta sahiplerinden bilgiler alındı.

BULGULAR

Ekim 2016-Ekim 2018 yılları arasında Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniğine çeşitli şikâyetlere bağlı olarak toplam 210 adet buzağı getirildi. Toplam buzağular içerisinde dışkı yapamama veya dışkının vulvadan yapıldığı şikâyeti ile 1-8 günlük toplam 19 adet (%9.05) intestinal atresialı buzağı muayene edildi. İntestinal atresialı buzağuların 14'ünü (%73.68) erkek, 5'ini (%26.32) dişi buzağular oluşturdu. İntestinal atresialar içerisinde ilk sırayı 15 adet (%78.95) atresia koli, ikinci sırayı 2 adet (%10.53) atresia ani & rektovaginal fistül, son sırayı ise 1 adet (%5.26) atresia ani ve 1 adet (%5.26) atresia ani & rektinin oluşturduğu belirlendi. İntestinal atresialı buzağular ırklara göre değerlendirildiğinde Simmental ırkı buzağular 11 adet (%57.90), Montofon ırkı buzağular 7 adet (%36.84) ve yerli ırk buzağı 1 adet (%5.56) olarak tespit edildi.

Preoperatif Bulgular

Hasta sahiplerinden elde edilen bilgiler doğrultusunda atresia ani ile beraber seyreden rektovaginal fistül olgularında hayvanın ıknmasıyla dışkının vulvadan geldiği; atresia ani, atresia ani & rekti, atresia koli olgularında ise doğumdan sonra buzağuların annelerini emdikleri, sağlıklı oldukları; fakat ilerleyen günlerde buzağuların iştahsız oldukları ve hiç dışkı çıkarmadıkları öğrenildi. Yapılan klinik muayeneler sonucu atresia ani ile beraber seyreden rektovaginal fistül olgularında hayvanın ıknmasıyla veya abdominal bölgeye uygulanan basınç sonrası dışkının vulvadan geldiği; atresia ani tespit edilen olgularda hayvanın sürekli ıknığı, ıknma esnasında hayvanın anal deri bölgesinde bir şişkinliğin olduğu, abdomenin gergin ve anüsün kapalı olduğu tespit edildi. Atresia koli olgularında ise hayvanın sürekli ıknığı ancak anüsün açık olmasına rağmen dışkılayamadığı, anal açıklıktan hafif krem renginde bazen de kanla karışık mukusun geldiği ve abdomende gerginlik tespit edildi. Ayrıca intestinal atresialı buzağularda değişen derecelerde dehidrasyon görüldü.

Atresia anili 1 buzağının (Olgu no 3) LL direkt radyografisinde anal deriye yakın bölgede içerisi gaz ve mekonyum ile dolu bağırsak içeriği tespit edildi. Atresia ani & rekti tanısı konan 1 olgunun (Olgu no 19) LL direkt radyografisinde anal bölgeye mesafesi yaklaşık 3 cm olan, içerisinde gaz ve mekonyum ile karışık rektumun sınırları ve sonlanma yeri tespit edildi (Olgu no 19, Şekil 1 A). Atresia koli tanısı konan 15 olgunun LL direkt radyografisinde yaşları 5-8 gün arasında değişen 8 adet buzağıda (Olgu no 1,2,7,8,9,11,16,17); sekum ve kolonun gaz ve mekonyum ile dolu olduğu (Olgu no 8, Şekil 1 B), geriye kalan 7 buzağıda ise atresianın kesin tanısının elde edilemediği, buna istinaden rektal yolla baryum sülfat

kontrast madde verilerek alınan indirekt radyografide ise kontrast maddenin kolonun descendesine kadar ilerlediği ve buradan daha ileriye gidemediği görüldü (Olgu no 8, Şekil 1 C).

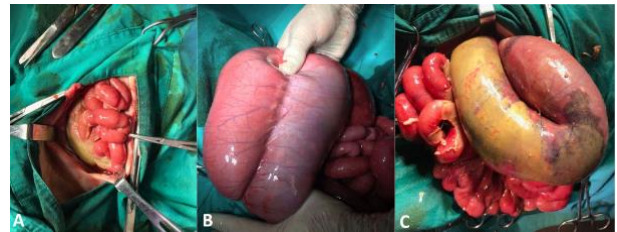


Şekil 1 (A-C): A. Atresia rekti olgusunun direkt radyografik görüntüsü, B. Sekumda gaz ve mekonyuma bağlı dolgunluk, C. Kontrast maddenin descendes kolondaki radyografik görünümü

Figure 1 (A-C): A. Direct radiographic image of a case of atresia recti, B. The tension of cecum due to gas and meconium, C. Radiographic appearance of the contrast agent in the descendes colon

İntraoperatif Bulgular

Atresia ani ve atresia ani & rekti tanısı konulan olgular anüs ve rektumun agenezisi veya disgenezisine göre yapılan sınıflandırmaya göre atresia anide tip 2 ve atresia ani & rekti de tip 3 olarak tespit edildi. Atresia koli olgularında karın boşluğuna operatif olarak girildiğinde 4 olguda (Olgu no 7, 9, 16, 17) periton sıvısının arttığı, fibrin yumaklarına bağlı olarak ince ve kalın bağırsak serozalarının yapıştığı (Olgu no 7, Şekil 2 A), sekum ve kolonun gaz ve mekonyumdan dolayı dolgun olduğu gözlemlendi (Olgu no 9, Şekil 2 B). Özellikle kliniğe geç getirilen olgularda sekum ve ascendes kolonun aşırı gergin, hiperemik, kısmen siyanotik ve frajil oldukları, yer yer işemik alanların oluşmaya başladığı görüldü (Olgu no 16, Şekil 2 C).



Şekil 2 (A-C): A. Periton sıvısı ve fibrin yumaklarına bağlı bağırsak serozalarında yapışma, B. Sekum ve kolonda gaz ve mekonyuma bağlı dolgunluk, C. Sekumun hiperemik ve siyanotik görünümü

Figure 2 (A-C): A. Adhesion in intestinal serosa due to peritoneal fluid and fibrin particles, B. The fullness of gas and meconium in the colon and cecum, C. Hyperemic and cyanotic appearance of the cecum

Postoperatif Bulgular

Postoperatif 30 gün süreyle takip edilen olgulardan atresia ani, atresia ani & rekti, atresia ani & rektovaginal fistül tanısı konulan buzağuların operasyondan sonra normal olarak yaşamlarını sürdürdükleri, operasyona alınan atresia kolili 6 olgu dışında 4 olgunun yaşadıkları bilgisi hayvan sahiplerinden alındı (Tablo 1).

Tablo 1. Kongenital intestinal anomalilerin ırk, cinsiyet, yaşlara göre dağılımı, anormal klinik bulguları, atresia coli operasyon şekli ve postoperatif sonuçlar
Table 1. Breed, gender, age distribution, abnormal clinical findings, atresia coli operation type and postoperative results of Congenital intestinal anomalies

No	İrk	Cinsiyet	Yaş	Anomali	Anormal Klinik Bulgular	Atresia Koli Operasyon şekli	Operasyon Sonuçları
1	Montofon	Erkek	7 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon, Taşikardi	-	Preoperatif öldü
2	Montofon	Erkek	5 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon	-	Operasyon yapılmadı
3	Simmental	Erkek	3 günlük	Atresia ani	-	-	Postoperatif 30. gün yaşıyordu
4	Simmental	Erkek	1 günlük	Atresia coli	Taşikardi, Taşipne	Lateral Kolostomie	Postoperatif 1. gün öldü
5	Simmental	Dişi	1 günlük	Atresia ani & rektovaginal fistül	-	-	Postoperatif 30. gün yaşıyordu
6	Yerli	Erkek	2 günlük	Atresia coli	Taşikardi, Taşipne	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Postoperatif 30. gün yaşıyordu
7	Simmental	Dişi	6 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon, Taşipne	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Postoperatif 2. gün öldü
8	Simmental	Erkek	8 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon, Taşikardi, Taşipne		Preoperatif öldü
9	Simmental	Erkek	6 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon, Taşikardi	Lateral Kolostomie	Postoperatif 15. gün öldü
10	Simmental	Erkek	3 günlük	Atresia coli	Taşikardi	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Postoperatif 30. gün yaşıyordu
11	Montofon	Erkek	5 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon, Taşikardi, Taşipne		Preoperatif öldü
12	Simmental	Erkek	3 günlük	Atresia coli	Taşikardi	Lateral Kolostomie	Postoperatif 30. gün yaşıyordu
13	Montofon	Dişi	2 günlük	Atresia coli	Taşipne		Operasyon yapılmadı
14	Montofon	Dişi	3 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon, Taşipne	Lateral Kolostomie	Postoperatif 26. gün öldü
15	Simmental	Erkek	3 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon, Taşipne	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Postoperatif 30. gün yaşıyordu
16	Simmental	Erkek	5 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon, Taşipne	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Postoperatif 9. gün öldü
17	Montofon	Erkek	7 günlük	Atresia coli	Dehidrasyon, Taşipne	Yanyana Kolorektal Anostomosis	Postoperatif 1. gün öldü
18	Simmental	Dişi	2 günlük	Atresia ani & rektovaginal fistül	-	-	Postoperatif 30. gün yaşıyordu
19	Montofon	Erkek	5 günlük	Atresia ani & rekti	Dehidrasyon, Taşipne	-	Postoperatif 30. gün yaşıyordu

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kongenital anomalilerin sebebi kesin olarak bilinmemekle birlikte yaygın olarak; embriyogenezis veya fetal gelişmenin çeşitli evrelerinde genetik, çevresel veya genetik- çevre etkileşimlerine bağlı olarak oluşabileceği belirtilmektedir (Belge ve ark. 2000; Chauhan ve ark. 2011; Phaneendra ve ark. 2015; Yurdakul 2015). Bağırsak atresialarının şekillenmesinde bağırsak lümeninin oluşum yetersizliği ve gebeliğin erken tanısı amacı ile gebeliğin 42. günlerinden önce özellikle 35, 36 ve 37. günlerde uygulanan rektal palpasyonun etkili olacağı belirtilmektedir (Syed ve Shanks 1992; Atiba ve Farrag 2016). Rektal palpasyonda amniyotik keseye yapılan basıncın; embriyo üzerinde de etkili olarak vasküler yetersizliğe sebep olduğu ve bununla barsak atresialarının oluşmasında önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür (Koç ve ark. 2001; Abouelnasr ve ark. 2012; Atiba ve Farrag 2016).

Ülkemizde yapılan araştırmalarda ruminantlarda kongenital anomalilerin görülme sıklığı Özaydın ve ark. (1995) %26.8, Oğurtan ve ark. (1997) %2.96 ve Belge ve ark. (2000) ise % 6.58 olarak bildirilmiştir. Kongenital anomaliler içinde, sindirim sistemi anomalileri ikinci sırada yer almaktadır (Göksel ve Sarıtaş 2016). Çeşitli araştırmacılar (Atiba ve Farrag 2016; Göksel ve Sarıtaş 2016) sindirim sistemi anomalileri içerisinde anorektal anomalilerin en fazla gözlenen anomaliler olduğunu bildirirlerken; Kılıç ve ark. (2004) en sık görülen anomalilerin atresia coli ve atresia ani olduğunu belirtmektedirler. Bazı araştırmacılar (Sinowatz 2010; Atiba ve Farrag 2016) ise en çok jejunum, kolon ve rektumda intestinal anomalilerin görüldüğünü, bu anomaliler içerisinde de bağırsak segmentleri ile ilgili en sık gözlenen anomalinin atresia coli olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada 19 adet intestinal atresia olguları içinde atresia coli olgularının (n: 15, %78.95) diğer intestinal atresia olgularına göre daha fazla gözlemlendiği belirlenmiş olup; bu da ilgili araştırmacıları (Sinowatz 2010; Atiba ve Farrag 2016; Coşkun ve ark. 2017) destekler niteliktedir.

Birçok çalışmada ruminantlarda tespit edilen anomalilerin erkek hayvanlarda dişilerden daha fazla oranda gözlemlendiği ifade edilmektedir (Aslan ve ark. 2009). İntestinal atresialar için cinsiyete göre kesin bir tercih yapılmamasına rağmen (Azizi ve ark. 2010) araştırmacıların çoğu intestinal atresiaların erkek hayvanlarda dişilerden daha fazla görüldüğünü belirtmişlerdir (Lombardero ve Yllera 2014; Göksel ve Sarıtaş 2016). Atalan ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada intestinal atresialı buzağuların büyük oranını (%66.7) erkek, geri kalanını ise (%33.3) dişi buzağuların oluşturduğunu, Aslan ve ark. (2009) anorektal anomalilerin büyük çoğunluğunu (%87) erkek, geri kalanını ise (%13) dişi buzağuların oluşturduğunu, yapılan bir diğer çalışmada Hossain ve ark. (2014) 40 adet atresia anili buzağuların 28 adedini erkek, 12 adedini dişi buzağuların oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada intestinal atresia gözlenen 19 olgunun 14'ünün (%73.68) erkek, 5'inin (%26.32) ise dişi buzağular olduğu saptandı. Bu çalışma da elde edilen veriler ilgili araştırmacıların (Atalan ve ark. 2003; Aslan ve ark. 2009; Hossain ve ark. 2014) sonuçları ve literatür bilgileri (Lombardero ve ark. 2014; Göksel ve Sarıtaş 2016) ile uyumlu olup intestinal atresiaların şekillenmesinde cinsiyetin etkisi olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

İrk faktörü incelendiğinde intestinal atresia olgularına daha çok Holstein, Montofon ve Jersey ırklarının duyarlı

olduğu bildirilmiştir (Atalan ve ark. 2003). Çalışmamızda; Simmental ırkı buzağularda (n: 11, %57.90) intestinal atresia olgularının daha çok görüldüğü belirlendi. Elde edilen bu veriler doğrultusunda intestinal atresia olgularının hayvan ırklarıyla ilişkilendirilmesinden ziyade hangi bölgede ortaya çıktığı önem arz etmektedir.

İntestinal atresiaların yerinin belirlenmesinde direkt veya kontrast radyografinin mekonyum ve gaz ile gergin olan bağırsakların görüntülenmesinde faydalı olabileceği; ancak gergin bir abdomene sahip olgularda lezyonun belirlenmesinde yetersiz olacağı belirtilmektedir (Atalan ve ark. 2003). Bu çalışmada 1 adet atresia ani olgusu LL direkt radyografi ile, 1 adet atresia ani & rekti ve 2 adet atresia ani & rektovaginal fistül olguları ise LL kontrast radyografi ile tanıları doğrulandı. Atresia coli olgularının LL direkt radyografilerinde başta sekum ve ascendes kolon başta olmak üzere barsak segmentlerinin gaz, sıvı ve mekonyum ile dolu oldukları tespit edilmesine rağmen 7 olgu hariç (Olgu No 1, 2, 7, 8, 9, 11, 17) 8 olguda (Olgu no 3, 4, 6, 10, 12, 13, 14, 15) atresianın yerini belirlemede yetersiz olduğu gözlemlendi. Çalışmada 7 olguda (Olgu no 1, 2, 7, 8, 9, 16, 17) rektal yolla uygulanan kontrast maddenin LL radyografisinde kontrast maddenin rektum ve descendes kolona kadar ilerlediği ve buradan daha ileri gidemediği tespit edildi.

İntestinal atresia olgularında hayvanların yaşaması erken tanı ve başarılı cerrahi müdahaleye bağlıdır (Dreyfuss ve Tulleners 1989; Radostits ve ark. 2000). Erken tanı ve başarılı gerçekleşmeyen cerrahi müdahaleler hayvanın yaşam süresini kısaltır (Abdelrhman ve ark. 2013). İntestinal atresia olgularında ölüm olaylarının 7-19 gün içinde görüldüğü, atresia ani & rektovaginal fistül bulunan hayvanların ise yaşamlarını uzun süre devam ettirebildikleri ifade edilmektedir (Aslan ve ark. 2009). Çalışmada cerrahi olarak tedavi edilen 2 adet atresia ani & rektovaginal fistül (Olgu no: 5, 18), 1 adet atresia ani (Olgu no: 3) ve 1 adet atresia ani & rekti (Olgu no 19) olgularının postoperatif normal yaşamlarını sürdürdükleri, atresia kolili 6 olgu dışında 4 olgunun (Olgu no 6, 10, 12, 15) yaşamlarını devam ettirdikleri bilgisi hayvan sahiplerinden alındı (Tablo 1).

Sonuç olarak atresia ani, atresia ani & rekti ve atresia ani & rektovaginal fistül olgularının erken tanı ve erken cerrahi sağaltım ile hayvanların uzun süre yaşamlarını devam ettirebileceği, Atresia coli olgularının pek çoğunun genel durumun kritik olduğu dönemde geldiği, erken dönemde gelen olguların ise bağırsaklardaki geçiş ve gelişme bozukluklarından dolayı cerrahi müdahalelere rağmen uzun süre yaşamadıkları görüldü. İntestinal atresialar hakkında yetiştiricilerin bilinçlendirilmesi ve intestinal atresia olgularının erken tanı ve operatif girişimler ile ekonomik kayıpların en aza indirilebileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Hakim MAH, Aref NM (2012).** Prospective study on ano-rectal anomalies in neonatal farm animals. *J Vet Adv*; 2: 595-604.
- Abdelrhman MA, Seddek AM, Bakr HA (2013).** Comparison between two cecostomy techniques for treatment of atresia coli in cattle and buffalo calves. *Pak Vet J*, 33: 309-312.
- Abouelnasr K, Ishii M, Inokuma H, Kobayashi Y, Lee K, Yamada K (2012).** Atresia coli in a Japanese black calf diagnosed by a barium sulphate enema contrast radiograph in the standing position: A case report. *Vet Med-Czech*, 57: 376-379.
- Alam M, Rahman M (2008).** Surgical repair of congenital anomalies in ruminants in two different region of bangladesh. *Iran J Vet Surg*, 3:(4) 67-74.

- Aslan L, Karasu A, Gençcelep M, Bakır B, Alkan İ (2009).** Ruminanatlarda konjenital anorektal anomali olgularının değerlendirilmesi. *YYU Vet Fak Derg*, 20: 31-36.
- Atalan G, Özyayın İ, Kılıç E, Cihan M, Kamiloğlu A (2003).** Buzağlarda intestinal atresia olguları ve operatif sağaltımları: 54 olgu (1992-2000). *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 9: 113-118.
- Atiba AS, Farrag FA (2016).** Comparison between colostomy and coloanal reconstruction technique for colonic atresia in calves. *Alexandria J Vet Sci*, 48: 27-33.
- Azizi S, Mohammadi R, Mohammadpour I (2010).** Surgical repair and management of congenital intestinal atresia in 68 calves. *Vet Surg*, 39: 115-120.
- Bademkiran S, İçen H, Kurt D (2009).** Congenital recto vaginal fistula with atresia ani in a heifer: a Case report. *YYÜ Vet Fak Derg*, 20: 61-64.
- Belge A, Gönenci R, Biricik HS, Ormancı S (2000).** Buzağlarda doğmasal anomali olguları. *YYU Vet Fak Derg*, 11: 23-26.
- Chauhan PM, Parmar VR, Patel TP, Thakor KB, Parikh SS (2011).** Atresia ani: a congenital defect & its successful management in non-descript calf. *IJAVMS*, 5: 520-522.
- Coşkun A, Aydogdu U, Altan S, Erol M, Erol H, Guzelbektes H; Sen İ (2017).** Hematologic, Blood Gas, Cardiac Biomarkers and Serum Biochemical Parameters in Calves with Atresia Coli and Theirs Relationship with Prognosis. *Acta Scientiae Veterinariae*, 45: 1496-1501.
- Dreyfuss DJ, Tulleners EP (1989).** Intestinal atresia in calves: 22 cases (1978-1988). *J Am Vet Med Assoc*, 195: 508-513.
- Göksel BA, Sarıtaş ZK (2016).** Buzağlarda intestinal atresia'larda klinik ve operatif yaklaşımlar. *Kocatepe Vet J*, 9: 200-210.
- Hossain MB, Hashim MA, Hossain MA, Sabrin MS (2014).** Prevalence of atresia ani in new born calves and their surgical management. *Bangl J Vet Med*, 12: 41-45.
- Kılıç N, Kibar B (2018).** Konjenital intestinal atrezili buzağlarda bazı hematolojik parametreler ile serum kardiyak belirteçlerin düzeyinin araştırılması. *F Ü Sağ Bil Vet Derg*, 32: 81-86.
- Kılıç N, Sarierler M (2004).** Congenital intestinal atresia in calves: 61 cases (1999-2003). *Revue Med Vet*, 155: 381-384.
- Koç Y, Alkan F, Ceylan C, Birdane FM (2001).** Atresia kolili 22 buzağda klinik ve operatif yaklaşımların değerlendirilmesi. *Vet Bil Derg*, 17: 27-34.
- Lombardero M, Yllera M (2014).** An unusual colon atresia in a calf: at the junction of the distal loop and transverse colon. A brief overview. *Organogenesis*, 10: 312-316.
- Magsi R, Bangulzai N, Khosa AN, Kakar MH, Baloch AH (2016).** A case study of surgical correction of atresia ani in a fifteen days old non descriptive male calf (cattle). *Lasbela U J Sci Technol*, 5: 199-200.
- Phaneendra MSSV, Lakshmi ND, Kumar KM, Reddy KS (2015).** Surgical management of congenital atresia ani (imperforate anus) leading to recto-vaginal fistula in a cow calf. *Int J Sci Environ Tech*, 4: 1110-1113.
- Radostits OM, Gay CC, Arundel JH, Blood DC, Hinchcliff KW (2000).** Veterinary Medicine. WB Saunders, Philadelphia.
- Sinowatz F (2010).** Teratology. In: Hyttel, P., Sinowatz, E, and Vejlsted, M. (Eds) Essentials of Domestic Animal Embryology. 338-382. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.
- Syed M, Shanks RD (1992).** Incidence of atresia coli and relationships among the affected calves born in one herd of holstein cattle. *J Dairy Science*, 75: 1357-1364.
- Yurdakul İ (2015).** Kuzularda atresia ani et recti. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med-Special Topics*, 1: 89-92.



The Louse and Flea Infestations in Cats and Dogs in Antakya Animal Shelter

Şerife AKKÜÇÜK Özlem Makbule KAYA Mustafa KARAGÖZ Aykut ZEREK Mehmet YAMAN

Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Hatay, Turkey

Received: 28.11.2018

Accepted: 22.02.2019

ABSTRACT

We aimed to determine frequency of louse and flea infestations in cats and dogs in various gender and age in this study. A hundred and fifty dogs and 50 cats were evaluated according to flea and louse infestation in Hatay Metropolitan Municipality Unattended Animals Care and Rehabilitation Center between 01 June 2017 and 10 July 2017. Louse was detected in none of the animals. Flea infestation was detected in 78.7% of dogs and 68% of cats. *Ctenocephalides canis* and *Ctenocephalides felis* were the most common species in dogs and cats respectively. Eight hundred and three of 1180 fleas (74%) detected in dogs were *C. canis* and 377 of 1180 (26%) were *C. felis*. In cats 217 of 340 fleas (64%) were *C. felis* and 123 of 340 (36%) were *C. canis*. There was no significant difference between infestation and age, race and sex in cats and dogs ($P>0.05$). Absence of louse and increased flea infestation in unowned cats and dogs may be related to the seasonal and geographic conditions.

Keywords: Louse, Flea, Infestation, Dog, Cat, Antakya

ÖZ

Antakya Hayvan Barınağındaki Kedi ve Köpeklerde Bit ve Pire Enfestasyonları

Çalışmamızda, değişik yaş ve cinsiyetteki kedi ve köpeklerde bit ve pire enfestasyonlarının yaygınlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Hatay Büyükşehir Belediyesi Sahipsiz Hayvan Bakım ve Rehabilitasyon Merkezi'nde 1 Haziran / 10 Temmuz 2017 tarihleri arasında 150 köpek ve 50 kedi bit ve pire enfestasyonu yönünden değerlendirilmiştir. Hayvanlarda bit enfestasyonuna rastlanmazken, pire ile enfestasyon oranı köpeklerde %78,7 ve kedilerde %68 olarak bulunmuştur. Köpeklerde *Ctenocephalides canis*, kedilerde ise *Ctenocephalides felis* pire türleri olarak saptanmıştır. Köpeklerden toplanan 1180 pirenin 803 (%74) tanesi *C. canis*, 377 (%26) tanesi *C. felis* olarak tespit edilmiştir. Kedilerden toplanan 340 pirenin ise 217 (%64) tanesi *C. felis*, 123 (%36) tanesi *C. canis* olarak bulunmuştur. Kedi ve köpeklerde enfestasyon varlığı ile yaş, ırk ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($P>0.05$). Sahipsiz kedi ve köpeklerde bitlerin görülmemesi ve yoğun pire enfestasyonunun görülmesi mevsim ve coğrafi konum ile ilişkilendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bit, Pire, Enfestasyon, Kedi, Köpek, Antakya

GİRİŞ

Paraziter hastalıklar arasında ektoparazitler önemli bir yer tutmaktadır. Direkt temasla bulaşarak hayvanlarda strese, verim düşüklüğüne ve anemiye neden olan ektoparazitler, ayrıca bakteriyel ve viral hastalıklara vektörlük yaparak önemli sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara yol açarlar (Özcel ve ark. 1997; Aksın ve ark. 2004). Phthiraptera takımının Amblycera ve Ischnocera alt takımlarında yer alan bit türleri çoğunlukla kanatlı hayvanlarda, daha az olarak da memeli hayvanlarda, Anoplura alt takımında yer alanlar ise memeli hayvanlarda ve insanlarda parazitlenirler. Anoplura alt takımında bulunan türler kanla beslenirken, diğerleri kıl veya tüyleri yiyerek, bazen de deriden sızan eksudat veya kanla beslenirler. Bunun sonucunda da hayvanlarda irritasyona, kaşıntıya, kıl veya tüylerde dökülmeye ve anemiye neden olurlar (Unat ve ark. 1995; Dik 2014).

Pireler ergin devrelerinde geçici parazitler olup özel konakları tercih etmelerine rağmen yaşantılarını sürdürebilmek için başka konaklardan da kan emebilirler (Unat ve ark. 1995). Tüm yıl boyunca yaşama şansı olan pireler kış aylarında dormant duruma geçerler. Bu süreçte merkezi ısıtma, klima, kalorifer gibi sistemlerinin bulunduğu kapalı mekânlarda yaşam ve gelişimlerini sürdürürler. Pirelerin ortam koşullarının 18-26 ° C sıcaklık ve %75-85 nem olduğu mekanlarda tüm yıl boyunca aktif kalabileceği bildirilmektedir (Coşkun ve ark. 2018). Pirelerin kan emmeleri sonucunda hayvanlarda şiddetli kaşıntı, tüy dökülmesi, ileri vakalarda akanthosis, hiperpigmentasyon ve hiperkeratinizasyon meydana geldiği bildirilmiştir (Soulsby 1982; Unat ve ark. 1995). Pirelerden *Pulex irritans* ve *Ctenocephalides* türlerinin *Dipylidium caninum* ve *Hymenolepis* türlerine, *C. canis* ve *C. felis*'in *Dipetalonema reconditum*'a, *Xenopsylla cheopis*'in *Typhus endemique murine* ve *Yersinia pestis*'e arakonakçılık

yaptığı bildirilmiştir (Soulsby 1982).

Çalışmamızda Antakya Hayvan Barınağı'ndaki kedi ve köpeklerde bit ve pire enfestasyonlarının yaygınlığının araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli onay (No: 2016/10-1) alındıktan sonra Hatay Büyükşehir Belediyesi Sahipsiz Hayvan Bakım ve Rehabilitasyon Merkezi'ne 1 Haziran / 10 Temmuz 2017 tarihleri arasında girişi yapılan ve ektoparazitler açısından tedavi almamış 150 köpek (96 dişi, 54 erkek) ve 50 kedi (29 dişi, 21 erkek) ektoparazit yönünden muayene edilmiştir. İncelenen kedilerin tamamını melez ırklar oluştururken, incelenen köpeklerin %68 melez, %12 pitbull, %6 terrier, %2 Alman kurdu, %4 golden retriever, %8 Sibiry kurdu olduğu kayıt edilmiştir. Yaş aralığı 1-84 ay arasında değişen köpeklerin yaş ortalaması 31.26 ± 22.33 ay, yaşları 3-24 ay aralığında değişen kedilerin yaş ortalaması 14.8 ± 18 ay olarak tespit edilmiştir.

Örnek Alma

Hayvanlar makroskopik muayene edilerek bütün vücut yüzeyleri incelenmiştir. Muayene sırasında enfeste kedi ve köpeklerde görülen ektoparazitler bit taraklarıyla toplandıktan sonra içerisinde %70'lik etil alkol bulunan cam şişelere konulup laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarda tür tayini için %10'luk KOH içerisinde 24 saat süreyle şeffaflaştırıldıktan sonra 24 saat distile su içerisinde bekletilmiştir. Sırası ile %70, %80 ve %96'lık

etil alkol serilerinden geçirildikten sonra kanada balsamı ile lamlara yapıştırılarak, lamlar kurutulduktan sonra binoküler ışık mikroskopunda teşhisleri yapılmıştır (Dik 2014; Dik 2015).

İstatistiksel Değerlendirme

Yaş karşılaştırmaları için Students's t testi kullanıldı. Kategorik değişkenler arasındaki farklılık ise Ki-Kare testi ile incelendi. Gruplar arası mukayeselerde $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (Can 2015). Tüm istatistiksel değerlendirmelerde Windows SPSS 22.0 yazılımı kullanıldı.

BULGULAR

Çalışmada kedi ve köpeklerde bit enfestasyonuna rastlanmazken, 150 köpeğin %78.7'si, 50 kedinin %68'i pirelerle enfeste bulunmuştur.

Kedi ve köpeklerde pire enfestasyon oranı ile cinsiyet (Tablo 1) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ($P > 0.05$). Aynı şekilde kedi ve köpeklerde yaş ve ırk ile enfestasyon oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ($P > 0.05$).

Köpeklerden toplanan 1180 pirenin 803 (%74) tanesi *C. canis*, 377 (%26) tanesi *C. felis* olarak tespit edilmiştir. Kedilerden toplanan 340 pirenin ise 217 (%64) tanesi *C. felis*, 123 (%36) tanesi *C. canis* olarak bulunmuştur (Şekil 1: *Ctenocephalides canis*, Şekil 2: *Ctenocephalides felis*).

Tablo 1. Köpek ve kedilerde cinsiyet ve pire enfestasyon oranı arasındaki ilişki

Table 1. The relationship between flea infestation rate and sex in cats and dogs

Hayvan	Cinsiyet	Toplam (n)	Yüzde (%)	Enfeste(n)	Enfestasyon yok(n)
Köpek	Dişi	96	64	78	18
	Erkek	54	36	40	14
Kedi	Dişi	29	58	19	10
	Erkek	21	42	15	6

n: sayı, $P > 0.05$



Şekil 1. *Ctenocephalides canis*

Figure 1. *Ctenocephalides canis*



Şekil 2. *Ctenocephalides felis*

Figure 2. *Ctenocephalides felis*

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kedi ve köpeklerdeki kaşıntının en önemli sebepleri ektoparazitler, alerjik reaksiyonlar, viral ve bakteriyel enfeksiyonlardır. Özellikle pirelerin kan emmeleri esnasında verdikleri tükrük salgıları köpeklerde alerjik dermatitise sebep olurlar (Çakmak 2015). Ektoparazitler vektör kaynaklı enfeksiyonlarda rol oynadığı için insanlar açısından da önem teşkil etmektedir (Salant ve ark. 2014; Ebrahimzade ve ark. 2016).

Dünyada yaz ve sonbahar aylarında yapılan çeşitli çalışmalarda kedi ve köpeklerde bit enfestasyonu bazı çalışmalarda hiç görülmemekle birlikte (Kalvelage ve ark. 1991; Rinaldi ve ark. 2007; Klimpel ve ark. 2010) enfestasyon pozitif çalışmalarda % 0.2 – 15.2 oranlarında az miktarda tespit edilmiştir (Chee ve ark. 2008; Ebrahimzade ve ark. 2016; Krishna Murthy ve ark. 2017). Bit enfestasyonunun %50 oranında yüksek çıktığı bir çalışma ise kış mevsiminde ve yağışlı dönemde yapılmıştır (Ebrahimzade ve ark. 2016). Çalışmamızda bit enfestasyonu görülmemesinin sebebi barınağa giriş-çıkış yapan hayvanların birbirine temas etme olasılığı düşük başıboş hayvanlardan oluşması ve araştırmanın yaz aylarında yapılması olabilir.

Dünyada yapılan çeşitli çalışmalarda köpeklerin %5.5–77.5 oranlarında pirelerle enfeste oldukları bildirilmiştir (Kalvelage ve ark. 1991; Cruz-Vazquez ve ark. 2001; Chee ve ark. 2008; Klimpel ve ark. 2010; Ebrahimzade ve ark. 2016; Galvez ve ark. 2017; Krishna Murthy ve ark. 2017; Shukullari ve ark. 2017). Kedilerde ise pire enfestasyonu %18.9-71.6 arasında tespit edilmiştir (Kalvelage ve ark. 1991; Cruz-Vazquez ve ark. 2001; Salant ve ark. 2014; Lefkaditis ve ark. 2015; Thomas ve ark. 2016). Kedi ve köpeklerde pire enfestasyon oranlarının düşük görüldüğü çalışmaların sahipli hayvanlar üzerinde gerçekleştirildiği görülmüştür (Kalvelage ve ark. 1991; Shukullari ve ark. 2017). Bu çalışmada pirelerle enfestasyon oranı köpeklerde %78.7 ve kedilerde %68 olarak bulunmuştur. Dünyanın değişik ülkelerinde yapılan çalışmalarda kış mevsiminde pire enfestasyon oranı en düşük seviyede iken, bit enfestasyon oranının en yüksek seviyede olduğu bulunmuştur (Cruz-Vazquez ve ark. 2001; Ebrahimzade ve ark. 2016; Shukullari ve ark. 2017). Çalışmalarda ortaya çıkan sonuçlar, pirelerle yüksek enfestasyonun en yüksek Eylül ayında ve sonbahar mevsiminde gerçekleştiği, yaz aylarında da yoğun enfestasyonun görüldüğü yönündedir (Rinaldi ve ark. 2007; Salant ve ark. 2014; Mirzaei ve ark. 2016; Galvez ve ark. 2017). Çalışmanın yaz ayında yapılması nedeniyle bitlere rastlanmaması ve pire enfestasyon oranının yüksek çıkması ilgili literatürleri destekler niteliktedir.

Bit ve pire enfestasyonları üzerine yapılan çalışmalarda bu ektoparazitlerin tür tayinleri yapıldığında değişik oran ve sonuçlar çıkmıştır. Dünyanın değişik ülkelerinde yapılan çalışmalarda köpeklerde pire türleri dağılımı %1.5-68 arasında *C. canis*, % 4.8–81.7 *C. felis*, %2.9-6.9 *P. irritans* iken bit türü dağılımı %0.2-50 *Trichodectes canis*'tir. Kedilerde pire türleri dağılımı ise %24.3-97.2 *C. felis*, %12 *C. canis* iken bit türü %0.59-14.4 *Felicola subrastratus* olarak bildirilmiştir (Rinaldi ve ark. 2007; Chee ve ark. 2008; Klimpel ve ark. 2010; Tüzer ve ark. 2010; Salant ve ark. 2014; Lefkaditis ve ark. 2015; Ebrahimzade ve ark. 2016; Thomas ve ark. 2016; Galvez ve ark. 2017; Krishna Murthy ve ark. 2017; Shukullari ve ark. 2017). Farklı coğrafik bölgelerde yapılan çalışmalarda türlerin dağılımı değişiklik göstermektedir. Köpeklerde yaygın pire türleri *C. canis*, *C. felis* ve *P. irritans* olarak belirlenmiştir. Londra, Mısır ve Danimarka'da *C. felis*, Birleşik Krallık, Dublin ve

Avustralya'nın kırsal kesimlerinde *C. canis* ve ABD'nin güney kesimlerinde *P. irritans*'ın yaygın görüldüğü bildirilmiştir (Chee ve ark. 2008). Genel olarak köpekler üzerinde *C. canis*'in dominant tür olduğu bildirilmiştir. Kore'deki bir çalışmada köpeklerde pire enfestasyonu %28.4 olarak saptanmıştır. Enfeste tüm köpeklerde *C. canis* tespit edilirken *C. felis*'e rastlanmamıştır. Sadece bir köpekte *C. orientis* enfestasyonuna rastlanmıştır (Ahn ve ark. 2018). Ancak bu durumun aksini bildiren bir çalışmada köpeklerden toplanan 57 pire örneğinin 15'i (%10.64) *C. canis*, 42'si (%89.36) *C. felis* olarak belirlenmiştir. Kedilerden toplanan 95 pire örneğinde ise dağılımın 94'ü (%98.94) *C. felis*, 1'i (%1.06) *C. canis* olarak saptanmıştır (Coşkun ve ark. 2018). Bu çalışmada köpeklerden toplanan pirelerden *C. canis* (%74), *C. felis*'ten (%26), kedilerden toplanan pirelerden *C. felis* (%64) ise *C. canis*'ten (%36) yaklaşık 3 kat fazla bulunmuştur. Literatürlerde farklı oranlarda görülen türler göz önüne alındığında araştırmamız İstanbul ve Hatay illerinde yürütülen diğer çalışma (Tüzer ve ark. 2010) ile benzerlik göstermektedir.

Yaşa göre pire enfestasyonunun oranlandığı bazı çalışmalarda yetişkin sokak köpeklerinde pire enfestasyonunun evcil ve küçük yaşta olanlara göre daha fazla olduğu belirtilmiştir (Krishna Murthy ve ark. 2017). Yukarıdaki çalışmanın aksine bir yaş altı köpeklerde %66.7 oranında pire enfestasyonu bildiren ve altı aylıktan küçük kedilerin enfestasyona daha duyarlı olduğunu savunan çalışmalar da vardır (Chee ve ark. 2008; Salant ve ark. 2014). Yapılan çalışmada kedi ve köpeklerde yaş ile enfestasyon oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ($P>0.05$).

Yapılan bazı çalışmalarda (Ebrahimzade ve ark. 2016; Mirzaei ve ark. 2016) bit ve pire enfestasyonları ile hayvanların cinsiyetleri arasında anlamlı bir fark bulunamamasına rağmen Chee ve ark. yaptıkları çalışmada erkek hayvanlarda enfestasyonun %26.9, dişilerde ise %17.5 olduğunu ve bu sonucun istatistiksel olarak anlamlı bulunduğunu belirtmişlerdir (Chee ve ark. 2008). Bu çalışmada kedi ve köpeklerde cinsiyet ve enfestasyon oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ($P>0.05$).

Sonuç olarak, çalışmada muayene edilen köpek ve kedilerde bit enfestasyonuna rastlanmazken, köpeklerde %78.7, kedilerde %68 oranında pire enfestasyonu tespit edilmiştir. Köpeklerde *C. canis*, kedilerde ise *C. felis* baskın pire türleri olarak saptanmıştır. Kedi ve köpeklerde enfestasyon varlığı ile yaş, ırk ve cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Pireler sadece kedi ve köpekler için değil aynı zamanda diğer hayvan ve insanlara birçok hastalığın taşınmasında rol oynadıkları için önemlidirler. Bu yüzden kedi ve köpeklerdeki ektoparazitler durum gözlenmeli ve kontrol altına alınmalıdır.

KAYNAKLAR

- Ahn KS, Huh SE, Seol SW, Kim HJ, Suh KH, Shin SS (2018). *Ctenocephalides canis* is the dominant flea species of dogs in the Republic of Korea. *Parasit Vectors*, 11 (1), 196.
- Aksın N, Erdoğan Z, Aksın E (2004). İki koyun çiftliğinde yaşayan insan ve hayvanlarda bulunan pire türleri ve bunların kontrolleri. *Türkiye Parazit Derg*, 28(3), 146-149.
- Can MF (2015). Ankara ili merkez ilçelerindeki sığır besi işletmelerinin ekonomik analizi. *Eurasian J Vet Sci*, 31 (2), 87-94.
- Chee JH, Kwon JK, Cho HS ve ark. (2008). A survey of ectoparasite infestations in stray dogs of Gwang-ju City, Republic of Korea. *Korean J Parasitol*, 46(1), 23-27.
- Coşkun G, Çetin H (2018). Kış aylarında evcil kedi ve köpeklerdeki pire (Siphonaptera: Pulicidae) enfestasyonları ile ilgili Antalya, Türkiye'den Bir Araştırma. *Türkiye Parazit Derg*, 42(4), 277-280.

- Cruz-Vazquez C, Castro Gamez E, Parada Fernandez M, Ramos Parra M (2001).** Seasonal occurrence of *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae) infesting dogs and cats in an urban area in Cuernavaca, Mexico. *J Med Entomol*, 38(1), 111-113.
- Çakmak F (2015).** Köpeklerde Kaşıntının Etiyolojisi. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 1(1), 1-8.
- Dik B (2014).** Türkiye’de Yabani Kuşlardaki (Aves) Bitler (Phthiraptera) Üzerine Çalışacak Araştırmacılara Tavsiyeler. *Türkiye Parazit Derg*, 38, 248-254.
- Dik B (2015).** Veteriner Entomoloji. S.Ü. Basımevi, Konya.
- Ebrahimzade E, Fattahi R, Aho MB (2016).** Ectoparasites of Stray Dogs in Mazandaran, Gilan and Qazvin Provinces, North and Center of Iran. *J Arthropod Borne Dis*, 10(3), 364-369.
- Galvez R, Montoya A, Checa R ve ark. (2017).** Flea species infesting dogs in Spain: updated spatial and seasonal distribution patterns. *Med Vet Entomol*, 31(1), 107-113.
- Kalvelage H, Munster M (1991).** *Ctenocephalides canis* and *Ctenocephalides felis* infestations of dogs and cats. Biology of the agent, epizootiology, pathogenesis, clinical signs, diagnosis and control. *Tierarztl Prax*, 19(2), 200-206.
- Klimpel S, Heukelbach J, Pothmann D, Ruckert S (2010).** Gastrointestinal and ectoparasites from urban stray dogs in Fortaleza (Brazil): high infection risk for humans? *Parasitol Res*, 107(3), 713-719.
- Krishna Murthy CM, Ananda KJ, Adeppa J (2017).** Prevalence of ectoparasites in dogs of Shimoga, Karnataka. *J Parasit Dis*, 41(1), 167-170.
- Lefkaditis MA, Sossidou AV, Panorias AH ve ark. (2015).** Urban stray cats infested by ectoparasites with zoonotic potential in Greece. *Parasitol Res*, 114(10), 3931-3934.
- Mirzaei M, Khovand H, Akhtardanesh B (2016).** Prevalence of ectoparasites in owned dogs in Kerman city, southeast of Iran. *J Parasit Dis*, 40(2), 454-458.
- Özcel MA, Daldal N (1997).** Parazitoloji’de Artropod Hastalıkları ve Vektörler. Türkiye Parazitoloji Derneği Yayınları, 13.
- Rinaldi L, Spera G, Musella V ve ark. (2007).** A survey of fleas on dogs in southern Italy. *Vet Parasitol*, 148(3-4), 375-378.
- Salant H, Mumcuoglu KY, Baneth G (2014).** Ectoparasites in urban stray cats in Jerusalem, Israel: differences in infestation patterns of fleas, ticks and permanent ectoparasites. *Med Vet Entomol*, 28(3), 314-318.
- Shukullari E, Rapti D, Visser M, Pfister K, Rehbein S (2017).** Parasites and vector-borne diseases in client-owned dogs in Albania: infestation with arthropod ectoparasites. *Parasitol Res*, 116(1), 399-407.
- Soulsby E (1982).** Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. The English Language Book Society and Bailliere Tindal, London.
- Thomas JE, Staubus L, Goolsby JL, Reichard MV (2016).** Ectoparasites of free-roaming domestic cats in the central United States. *Vet Parasitol*, 228, 17-22.
- Tüzer E, Muz MN, Bilgin Z, Erçin S, Tınar R (2010).** Fipronil damlatma çözeltisinin kedi ve köpeklerde pirelere ve köpeklerde kenelere etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 16(3), 469-472.
- Unat EK, Yücel A, Altaş K (1995).** Pireler ve Parazitlikleri. Unat’ın Tıp Parazitolojisi, Doyuran Matbaası, İstanbul.



Sexual Dimorphism of the Maxilla in European Hare Using Geometric Morphometric Techniques

Arzu ÖNEL¹ İbrahim Akın TEMİZER²

¹ Kafkas University, Faculty of Education, Department of Biology Education, Kars, Turkey

² Fırat University, Faculty of Science, Department of Biology, Elazığ, Turkey

Received: 14.09.2018

Accepted: 08.03.2019

ABSTRACT

In this study, 40 European hares (20 male and 20 female) that were obtained from the provinces of Elazığ and Malatya in Turkey, were used. The samples were evaluated by placing 23 landmarks on the ventral of the maxilla. After the landmarks were placed onto the pictures, which were developed by means of Thin Plate Spline (TPS) program, the landmarks were standardized by using Morphueus program. Pairwise test, Principle Component Analysis (PCA) and Discriminant Function Analysis (DFA) were applied to the data. The result of the statistical analysis with geometric morphometric techniques showed no sexual dimorphism (SD) in European hares (*Lepus europaeus*).

Keywords: *Lepus europaeus*, European hare, Sexual dimorphism, Geometric morphometric techniques, Maxilla

ÖZ

Avrupa Tavşanlarının Maxillalarında Geometrik Morfometrik Yöntemler Kullanılarak Eşeyssel Dimorfizmin Araştırılması*

Bu çalışmada, Türkiye'nin Elazığ ve Malatya illerinden elde edilen 40 adet (20 dişi, 20 erkek) Avrupa tavşanı kullanıldı. Örnekler maxilla'ların ventral'ine 23'er adet landmark konularak değerlendirildi. Thin Plate Spline (TPS) programı ile konulan landmarklar Morphueus programı ile standardize edildi. Verilere pairwise testi, Principle Component Analizi (PCA) ve Discriminant Fonksiyon Analizleri DFA uygulandı. Geometrik morfometri teknikleri kullanılarak yapılan istatistiksel analiz sonuçları Avrupa tavşanı (*Lepus europaeus*) örneklerinde eşeyssel dimorfizm olmadığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Lepus europaeus*, Avrupa tavşanı, Eşeyssel dimorfizm, Geometrik morfometri yöntemleri, Maxilla

INTRODUCTION

European hares (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) are widespread across the world from Central and South Europe and China to Arctic Circle and desert areas (Demirsoy 1995; Demirsoy 1996; Carleton and Musser 2005; Alves et al. 2008). There are a total of 32 European hare species in the world (Chapman and Flux 2008). Only *Lepus europaeus* of them live in Turkey and it is in superabundant (Demirbaş et al. 2010).

Sexual dimorphism (SD) is when the sexes of a species are distinguishable from each other. Although SD is present in all vertebrate taxa it is not noticeable at first sight. Sexual differentiation starts in the embryonic period and may develop in terms of anatomical and physiological characteristics. SD can occur in terms of body size, body composition, skeletal composition, the brain and nervous systems, weaponry, behaviour, metabolism, pelage and body markings, vocalisation and other organs. SD in the skull can only be seen in animals when male ones go head to head against each other. For example, the skull bones of

males are thicker because male animals such as sheep and deer compete for females during mating seasons (McPherson and Chenoweth 2012). The level of SD is affected by environmental factors and therefore SD differs in each population (Bigoni et al. 2010). SD is best considered separately in comparative analyses (Sanger et al. 2013). Sexual dimorphism is very important to understand skeletal structures. Although morphologic studies have some difficulties with quantification, SD characteristics can be researched morphologically and metrically. However, geometric morphometric techniques are more suitable to describe subtle differences in SD structures (Gonzales et al. 2011). Geometric morphometric is a new method and allows for the better assessment of morphologic characteristics (Pretorius et al. 2004).

There are no important differences between male and female European hare except that the males have higher shoulders and are more fearful than the females and that tails of the males straighten up whereas tails of the females are adjacent to the body (Huş 1963). The purpose of this study was to apply geometric morphometric techniques to

describe SD in the maxilla of European hare. This study explored SD by means of 23 landmarks placed on the ventral maxilla of European hares obtained from the provinces of Elazığ and Malatya in Turkey.

MATERIALS and METHODS

The samples were collected between 2007 and 2008 from the provinces of Elazığ and Malatya, which are located in the east of Turkey. The samples were selected from animals that had died from natural causes. The samples which were 20 male and 20 female European hare were examined in this study. The locations from which the samples were collected can be seen in Figure 1.



Figure 1. Geographical distribution map of the analysed samples of *Lepus europaeus*

The samples were embalmed using the method described by Mursaloğlu (1965). The maxilla of the samples were equipped to technique of maceration according to the method described by Taşbaş and Tecirlioglu (1965). After the maceration the genders were marked on the maxilla. The specimens were photographed with a FinePix s7000 digital camera. In total 23 morphological characters were measured. Thin Plate Spline (TPS), Morphueus, Past and SPSS programs were used for the geometric morphometric techniques.

The landmarks and TPS program were used according to Bookstein (1989) and Rohlf (2002) and the landmarks used are shown in Fig 2. The photographs were developed into TPS files using Tps Util 1.44 to Rohlf (2005). The landmarks defined are as follows:

1. Rostral tip of alveoli of incisive
2. Rostral tip of palatine fissura (incisive foramen)
3. Interface of palatine fissuras with recess in medial
4. Caudal tip of palatine fissura (incisive foramen)
5. The widest point of palatine fissura (incisive foramen)
6. Anterior extremity of the toothrow
7. Vanishing point of rostrum and zygomatic arch in the ventral
8. Most anterior point of the orbit
9. Caudal end of the hindmost molar tooth
10. Pterygoid process
11. Rostral tip of the orbit
12. Styloglossal process of the tympanic bullae
13. Occipito-caudale
14. Opistocranium
15. Caudal tip of the foramen magnum (Opisthion)
16. Caudal end of the medial edge of the occipital condyle (top point of the foramen magnum)
17. Rostral end of the occipital foramen in the midline (basion)
18. Foramen ovale
19. Widest top point of the sphenoid bone
20. The rostral interface point of the sphenoid bone on the medial line
21. Basisphenoid foramen
22. Rostral end of the curvature of the palatine bone (Lamina horizontalis ossis palatini)
23. Palatal fenestrae

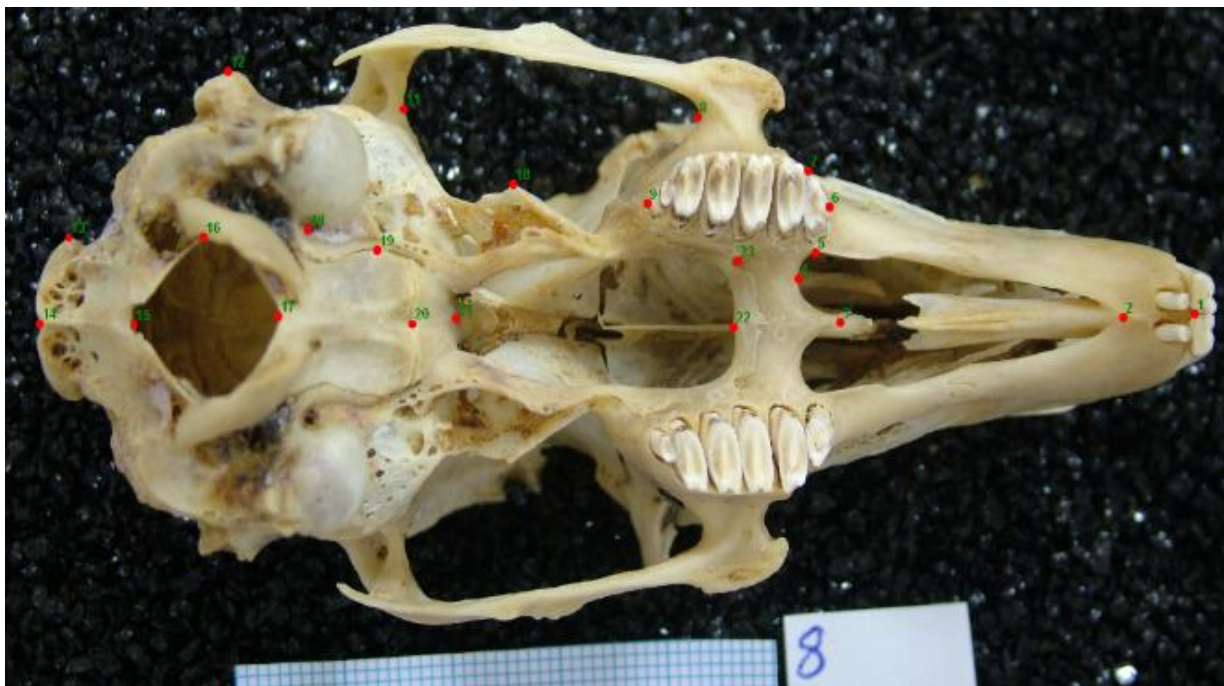


Figure 2. Landmarks placed on the ventral side of the maxilla

The landmarks were placed on the ventral side of the maxilla using TpsDig 2.14 to TPS files. The marking

landmarks attended to Elbroch (2006). The landmarks were tested for correctitude using TPS small 1.20. In these

tests the correlation value was taken between tangent space (y coordinate) and procrustes space (x coordinate). The correlation value was 1 and the slope value close to 1. Shapes can be defined in a configuration of landmark points after the differences due to location, scale and orientation are removed with landmark-based analyses (Bookstein 1991; Bookstein 1996).

The effects of location, scaling and orientation were typically removed using Generalized Procrustes Superimposition (GPA) (Rohlf 1999; Slice 2001) with respect to a common reference form. For correlation between morphometric characters, Principle Component Analyses were carried out using 2.0 version of the Past program. The differences inside each gender were minimised to be seen the differences between genders were applied Discriminant Function Analyses (DFA) using the SPSS 17.0. Consequently, SD tested between European hare groups from the provinces of Elazig and Malatya in Turkey.

RESULTS and DISCUSSION

Characteristics of the businesses

In the present study the Past program was used to test the differences between the maxilla of male and female European hares. Thus, the samples were grouped according to their sex in the mdt file in Morpheus program after TPS. Consequently, it was produced as an excel file. The first group consisted of females and the second group consisted of males and the number of samples in each group was 20. Multivariate Principal Component Analyses were applied to both groups.

As a result, the European hare male and female individuals were compared using Multivariate Principal Component Analyses in the past program. In these analyses, which explored SD in the same species groups no difference was seen in terms of maxilla namely SD (Fig 3-5).

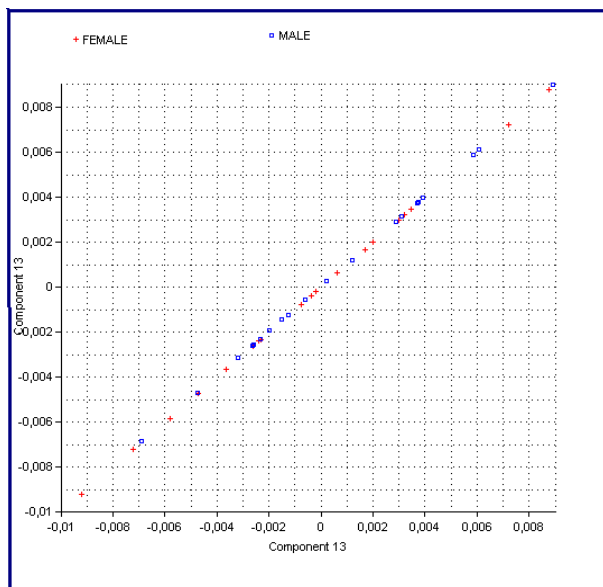


Figure 3. The graphics of Principal Component Analyses for SD in *Lepus europaeus* (a)

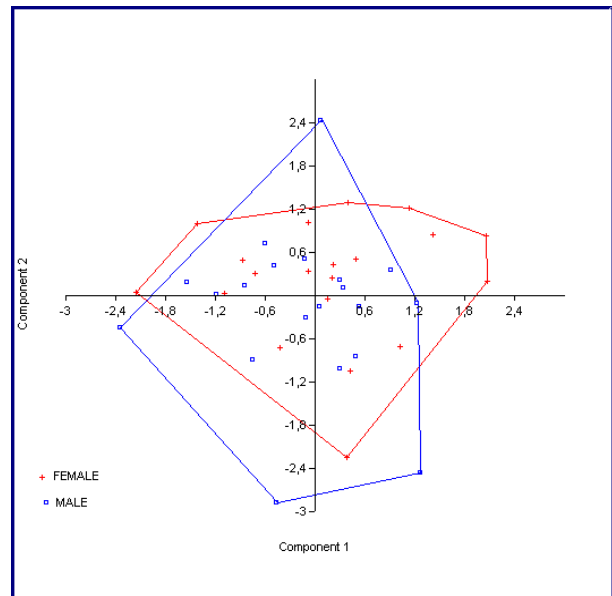


Figure 4. The graphics of Principal Component Analyses for SD in *Lepus europaeus* (b)

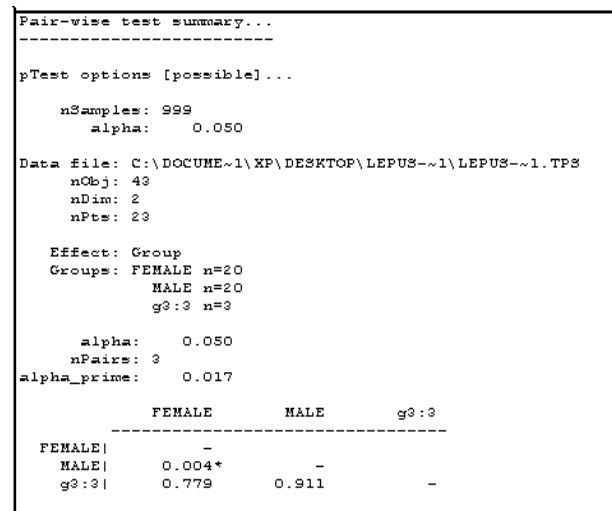


Figure 5. The result of the pairwise test in Morpheus program for SD of *Lepus europaeus*

SD in head size and shape has been documented in many animals (Herrel et al. 2018). However, this dimorphism shows diversity. For example, for the Serbian red fox (*Vulpes vulpes*), the male cranium is about 5% larger than that of the females (Jojic et al. 2017). Plateau zokor (*Eospalax baileyi*) has SD in body and skull measures. Su et al. (2018), found positive results in favour of male individuals. Lapoint et al. (2017) showed that the skull of male stoats are longer than those of females.

Cardini and Tongiorgi (2003) investigated SD on the premolar tooth wear and the size and shape of the mandible of the yellow-bellied marmot. According to their results, SD was moderate depending on sexual maturity and social role of the adult male and females. Mandibular shape modification was related to the different behavioural ecology of immature and adult marmots. Corti et al. (2001) researched SD between groups of the genus *Proechimys*. However, they found no variation in the ventral and dorsal of the maxilla. Vallejo et al. (2017) examined the cranial morphology of *Megadontomys* (Rodentia: Cricetidae). Researchers showed that for

mandibles, neither size nor shape was significantly different between sexes ($p > 0.05$). For both skull and mandible, the interaction between sex and species was not significant ($p > 0.05$).

Given the scientific research conducted on the European hare, Bo Frylestam (1980) confirmed that juvenile European hares showed no clear tendency in SD in terms of body weight. Sobocinska-Janeszek (1976) inquired SD in the 34 different skeletal bones of the *Lepus europaeus* but they only found sexual differences in pelvis and os sacrum bones and couldn't confirm any sexual discrimination in the maxilla of the European hare. Segovia et al. (2006) could not observe SD in the vomeronasal systems of rabbits. Similarly, in this study SD wasn't found in European hare samples collected from the provinces of Elazig and Malatya in Turkey.

REFERENCES

- Alves CA, Ferrand N, Hacklönder K (2008). Lagomorph Biology (Evolution, Ecology and Conservation). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Austria.
- Bigoni L, Velemínska J, Bruzek J (2010). Three-dimensional geometric morphometric analysis of cranio-facial sexual dimorphism in a Central European sample of known sex. *HOMO*, 61(1), 16-32.
- Bookstein FL (1989). Principal Warps: Thin-Plate Splines and the decomposition of deformations, *IEEE T Pattern Anal*, 11(6), 567-585.
- Bookstein FL (1991). Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. First edition, Cambridge University Press, New York.
- Bookstein FL (1996). Landmark methods for forms without landmarks: Morphometrics of group differences in outline shape. *Med Image Anal*, 1(3), 225-243.
- Cardini A, Tongiorgi P (2003). Yellow-bellied marmots (*Marmota flaviventris*) 'in the shape space' (Rodentia, Sciuridae): sexual dimorphism, growth and allometry of the mandible. *Zoomorphology*, 11-23.
- Carleton MD, Musser GM (2005). Order Rodentia, Mammal species of the world: A taxonomic and geographic reference, 3rd edition. *The Johns Hopkins University Press, Baltimore*, 2, 745-752.
- Chapman JA, Flux JEC (2008). Lagomorpha Biology: Evolution, Ecology, and Conservation. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Corti M, Aguilar M, Capanna E (2001). Size and shape changes in the skull accompanying speciation of South American spiny rats (Rodentia: *Proechimys* spp.). *J Zool, Land*, 253, 537-547.
- Demirbaş Y, Aşan N, Albayrak İ (2010). Cytogenetic study on the European brown hare (*Lepus europaeus* Pallas, 1778) (Mammalia: Lagomorpha) in Turkey. *Turk J Bio*. 34: 247-252.
- Demirsoy A (1995). Yaşamın Temel Kuralları, Omurgalılar/ Amniyota (Sürüngenler, Kuşlar ve Memeliler). Cilt III/ Kısım II, İkinci Baskı, Meteksan A.Ş., Ankara.
- Demirsoy A (1996). Türkiye Omurgalıları: Memeliler, Türkiye Omurgalı Faunasının Sistematik ve Biyolojik Özelliklerinin Araştırılması ve Koruma Önlemlerinin Alınması. Meteksan A.Ş., Ankara.
- Elbroch M (2006). Animal Skulls, A Guide to North American Species. First Edition, Stackpole Books, China.
- Frylestam B (1980). Growth and body weight of European hares in southern Sweden. *Ecography*, 3(2), 81-86.
- Gonzalez PN, Bernal V, Perez SI (2011). Analysis of sexual dimorphism of craniofacial traits using geometric morphometric techniques. *Int J Osteoarchaeol*, 21(1), 82-91.
- Herrel A, Petrochic S, Draud M (2018). Sexual dimorphism, bite force and diet in the diamondback terrapin. *J Zool*, 304(3), 217-224.
- Huş S (1963). Av Hayvanları Bilgisi. İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, Yayın No:1036, Kurtulmuş Matbaası, İstanbul.
- Jojic V, Porobic J, Cirovic D (2017). Cranial variability of the Serbian red fox. *Zool Anz-A Journal of Comparative Zoology*, 267, 41-48.
- LaPoint S, Keicher L, Wikelski M, Zub K, Dechmann DK (2017). Growth over shoot and seasonal size changes in the skulls of two weasel species. *Roy Soc Open Sci*, 4(1), 160947.
- McPherson FJ, Chenoweth PJ (2012). Mammalian sexual dimorphism. *Anim Reprod Sci*, 131(3-4), 109-122.
- Mursaloğlu B (1965). Bilimsel Araştırmalar İçin Omurgalı Numunelerinin Toplanması ve Hazırlanması. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara.
- Nomina Anatomica Veterinaria (2012) (Fifth Edition). World Association of Veterinary Anatomists (W.A.V.A.) Knoxville, TN (U.S.A.)
- Pretorius E, Steyn M, Scholtz Y (2004). Investigation into the usability of geometric morphometric analysis in assessment of sexual dimorphism, *Physical Anthropol*, 129 (1), 64-70.
- Rohlf FJ (1999). Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *J Classif*, 16(2), 197-223.
- Rohlf FJ (2002). Geometric morphometrics and phylogeny. *In Morphology, Shape and Phylogeny*, 175-193.
- Rohlf FJ (2005). TpsRELW. Version 1.42, Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook, New York.
- Sanger TJ, Sherratt E, McGlothlin JW, Brodie III ED, Losos JB, Abzhanov A (2013). Convergent evolution of sexual dimorphism in skull shape using distinct developmental strategies. *Evolution*, 67(8), 2180-2193.
- Segovia S, Garcia-Falgueras A, Carrillo B, Collado P, Pinos H, Perez-Laso C, ... Guillamon A (2006). Sexual dimorphism in the vomeronasal system of the rabbit. *Brain Res*, 1102: (1), 52-62.
- Slice D (2001). Landmarks aligned by Procrustes analysis do not lie in Kendall's shape space. *Syst Biol*, 50: 141-149.
- Sobocinska-Janeszek J (1976). Sex dimorphism in certain bone elements of the European hare. *Acta Theriol*, 21: (1), 3-17.
- Su J, Hegap IM, Ji W, Nan Z (2018). Function-related drivers of skull morphometric variation and sexual size dimorphism in a subterranean rodent, Plateau Zokor (*Eospalax baileyi*). *Ecol Evol*, 8(9), 4631-4643.
- Taşbaş M, Tecirlioğlu S (1965). Meserasyon Tekniğinin Üzerine Araştırmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 12(4): 324-330.
- Vallejo RM, Guerrero JA, Gonzalez-Cozatl FX (2017). Patterns of differentiation and disparity in cranial morphology in rodent species of the genus *Megadontomys* (Rodentia: Cricetidae). *Zool Stud*, 56: (14) 1-15.



The Effect of Acupuncture on Oxidative Stress in Rats with Femur Fractured

Seval YILMAZ¹ Emre KAYA¹ Ahmet KAVAKLI² Süleyman GÜRBÜZ³ Erhan YILMAZ³

¹ Firat University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biochemistry, Elazığ, Turkey

² Firat University, Faculty of Medicine, Department of Anatomy, Elazığ, Turkey

³ Firat University, Faculty of Medicine, Department of Orthopedics and Traumatology, Elazığ, Turkey

Received: 10.10.2018

Accepted: 08.03.2019

ABSTRACT

The effect of acupuncture which is one of alternative and complementary methods on fracture healing and free oxygen radicals was investigated. In this study, 54 female Wistar albino rats with 250-300 g BWs were randomly divided into 10 groups including, control group, sacrificed on days 7, 14 and 21 of acupuncture, sacrificed on days 7, 14 and 21 of fracture, and sacrificed on days 7, 14 and 21 of fracture + acupuncture application. The rats in the control group received no treatment. The 0.5 mm thick kirschner wire was advanced intramedullary as retrograde from the fracture line of the proximal part of the bone and fracture was performed. After fracture formation, acupuncture (50 Hz, 20 qA, 25 minutes) was applied to the rats. This treatment was applied for 7, 14 and 21 days as 4 sessions per week. The rats were sacrificed at 7, 14 and 21 days after fracture formation and plasma malondialdehyde (MDA), whole blood reduced glutathione (GSH) levels, erythrocyte catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) activities were measured. Plasma MDA and GSH levels were statistically significant in all fracture groups compared to the control group ($P<0.05$). A statistically significant reduction was observed in the fracture + acupuncture groups compared to the fracture groups ($P<0.05$). While no statistically significant change was observed in blood CAT activities of the group sacrificed on 7th day of fracture compared to the control group, statistically significant decreases were observed in the groups sacrificed at 14th and 21th days of fracture compared to the control group. There were a statistically significant decreases in the blood SOD, GSH-Px and G6PD activities compared to the control group in fracture groups. CAT, SOD, GSH-Px and G6PD activities showed a significant increase in the fracture + acupuncture groups compared to the fracture groups ($P<0.05$). In conclusion, it can be said that the application of acupuncture can positively influences the fracture healing process of the fracture by suppressing the harmful effects of free oxygen radicals and regulating the activities of antioxidant enzyme activities.

Keywords: Acupuncture, Antioxidant enzyme, Glutathione, Fracture healing, Malondialdehyde

ÖZ

Femur Kırığı Oluşturulmuş Ratlarda Oksidatif Stres Üzerine Akupunkturun Etkisi

Alternatif ve komplementer tedavi yöntemlerinden olan akupunkturun kırık iyileşmesi ve serbest oksijen radikalleri üzerine etkisi araştırıldı. Çalışmada, 250-300 g ağırlığında 54 adet dişi Wistar albino rat, kontrol grubu, 7, 14 ve 21. gün süreyle akupunktur uygulanan gruplar, kırık oluşumunun 7, 14 ve 21. günlerinde sakrifiye edilen gruplar ve 7, 14 ve 21 gün boyunca kırık+akupunktur uygulanan gruplar olmak üzere rastgele 10 gruba ayrıldı. Kontrol grubu ratlara tedavi uygulanmadı. Ratların femurlarında gigli testeresi ile transvers bir kırık hattı oluşturuldu. Kirschner teli kemiğin proksimal parçasının kırık hattından retrograd olarak intramedüller ilerletildi ve kırık tespiti yapıldı. Kırık oluşumunun ardından ratlara akupunktur (50 Hz, 20 qA, 25 dakika) uygulandı. Bu tedavi haftada 4 seans olacak şekilde 7, 14 ve 21 gün süre ile uygulandı. Ratlar kırık oluşturulmasından 7, 14 ve 21 gün sonra sakrifiye edilerek plazma malondialdehit (MDA), tam kan redükte glutatyon (GSH) seviyeleri, eritrosit katalaz (KAT), süperoksit dismütaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktiviteleri ölçüldü. Plazma MDA ve kan GSH düzeylerinde, tüm kırık gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artma saptandı ($P<0,05$). Kırık + akupunktur gruplarında kırık gruplarına göre istatistiksel olarak önemli ölçüde azalma gözlemlendi ($P<0,05$). Kan KAT aktivitelerinde 7. gün sakrifiye edilen kırık grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmezken, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilen kırık gruplarında kontrol grubuna göre önemli bir azalma saptandı. Kan SOD, GSH-Px ve G6PD aktiviteleri kırık gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma saptandı ($P<0,05$). KAT, SOD, GSH-Px ve G6PD aktivitelerinde kırık + akupunktur gruplarında kırık gruplarına göre önemli bir artma gözlemlendi ($P<0,05$). Sonuç olarak akupunktur uygulamasının serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerini baskılayarak ve antioksidan enzim aktivitelerini düzenleyerek kırık iyileşme sürecini olumlu yönde etkilediği söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Akupunktur, Antioksidan enzim, Glutatyon, Kırık iyileşmesi, Malondialdehid

GİRİŞ

Kırık iyileşmesi inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme aşamaları sonrasında travmatize kemiğin orijinal hale dönmesi olarak tanımlanmaktadır. Kırığın oluşması ile birlikte kırık iyileşmesi başlamakta, olgun ve organize kemik dokusu ile kemik uçları tamamen bir bütün oluncaya kadar devam etmektedir (Frost 1989).

Organizmada fizyolojik ve patolojik tüm metabolik işlemlerin yürütülmesi, yüzlerce enzim ve substratın katıldığı reaksiyonların düzenli ve hızlı bir şekilde sürdürülmesi ile mümkündür. Bu reaksiyonlar sırasında yararlı birçok ürünle birlikte, özellikle fazla miktarda oluştuğunda organizma için zararlı etkiler yapabilecek bileşikler de ortaya çıkmaktadır. Bunlardan en önemlileri serbest radikallerdir. Hücrelerin karbonhidrat, protein, lipid, DNA ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki eden serbest radikaller hücre hasarı ve hücre ölümüne yol açarlar (Göktürk 1997; Yılmaz ve Yılmaz 2006; Yılmaz ve ark. 2006).

Kemik iyileşmesine olumlu ya da olumsuz yönde etki eden pek çok lokal ve genel faktör bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, kemik iyileşmesi üzerine etkili olan faktörler arasında serbest radikallerin de bulunduğunu göstermektedir. Biyolojik etkileşimlerin en yoğun gözlemlendiği kırık iyileşmesinin erken döneminde serbest radikallerin meydana geldiğini ve bu radikallerin kırık iyileşmesi üzerine olumsuz etkilerinin olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (McKibbin 1978; Frost 1989; Comeli ve Lane 1992; Göktürk 1997). Göktürk (1997), ön kollarını manüel kompresyon ile kırdığı sıçanlara polimorfonükleer lökositlerdeki nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazı uyararak serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşturmak için zymosan uygulamış ve kırık iyileşmesinin bozulduğunu saptamıştır. Norazlina ve ark. (2002), serbest radikallerin osteoblastlar üzerinde toksik etki gösterip hücrenin foksionlarını durdurarak etki gösterdiğini ve SOR'nin kırık iyileşmesinde önemli rolleri olduğunu bildirmişlerdir.

Kırık iyileşmesinin erken dönemi oldukça önemlidir. Kırık oluşuktan hemen sonra inflamasyon evresi kırık oluşumundan sonraki ilk beş günü içerir ve hasar gören tüm dokularda meydana gelen bir olaydır. Kırık oluştuğunda endosteum, periost ve çevredeki yumuşak dokuların hasar görmesi ile dokular arasına kan, lenf ve eksudat birikir. Kırık hematomu şeklinde isimlendirilen bu birikinti kırık kemiğin onarılması için gerekli bütün temel öğeleri içerisinde barındırır (Greenwald ve Moy 1979). Kırığın iyileşmesi için çok önemli olan şey başlangıç fazında, inflamatuvar hücrelerin (lökosit, makrofaj ve mast hücreleri gibi) kırık bölgesine ulaşmasıdır (McKibbin 1978; Frost 1989; Comeli ve Lane 1992). Polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonu ile üretilen SOR'nin granülasyon dokusunu bozduğu ve yara iyileşmesini geciktirdiği bildirilmektedir (Seyama 1993; Göktürk 1997; Engle ve ark. 1998; Keskin ve ark. 1999).

Kırıklar ekstremiteyi iskemiyeye maruz bırakabilir. İskemik dokuların oksijenize kanla reperfüzyonu; hidroksil (OH⁻), süperoksit (O₂⁻), singlet oksijen (¹O₂), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve nitrik oksit (NO⁻) gibi SOR'nin aşırı üretimine ve bu SOR'nin kan dolaşımına dahil olmasına sebep olur (Cheeseman 1993; Turgut ve ark. 1999). Kırık hattının iyileşmesi esnasında fazla miktarda SOR meydana gelmekte ve inflamasyon evresini de içeren onbeşinci günde en yüksek seviyelere ulaşmaktadır. Meydana gelen SOR düzeyindeki bu yükseliş, kırık iyileşmesini olumsuz

bir şekilde etkilemektedir (Göktürk ve ark. 1995; Yeler ve ark. 2005).

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı, hücre ve dokularda gelişmiş olan antioksidan moleküllerin çeşitliliğine, yaygın dağılımına ve oldukça etkili koruma sağlamalarına karşın, bazı durumlarda savunma sistemi yetersiz kalmakta ve makromoleküler hasar görülmektedir (Göktürk 1997; Turgut ve ark. 1999; Yılmaz ve Yılmaz 2006; Yılmaz ve ark. 2006). Endojen antioksidanların yetersiz kaldığı, serbest radikallerin çok fazla üretildiği kırıkta, akupunktur gibi birçok hastalıkta olumlu etkisinin olduğu ispat edilmiş olan detoksifikasyon sürecine katkıda bulunabilecek doğal yöntemlerin etkileri araştırılmıştır (Adrian 2012).

Akupunktur, sinirlerin uyarılması amacıyla vücuttaki belirli özel noktalara iğnelerin batırılması ile yapılan tedavi şeklidir. Belirli bu özel akupunktur noktaları canlıda meydana gelen biyokimyasal ve fizyolojik reaksiyonları artırabilecek kabiliyete sahiptirler. Akupunktur, canlı organizmanın kendisini tedavi ettiği bir yöntem olup, en önemli özelliği ise herhangi bir yan etkisinin bulunmamasıdır (Adrian 2012; Gao ve ark. 2017). Özel akupunktur noktalarının bu yöntem ile uyarılmasıyla; akupunktur yapılan bölgede kan dolaşımının fazlalaşması, inflamasyonun düşmesi, morfin benzeri etki gösteren endorfin hormonunun salgılanması, kas sertliğinin geçmesi, yüksek olan kan basıncının düşmesi, cildin ve müköz membranların çeşitli faktörlere karşı aşırı duyarlılığının azalması, immün yanıtta ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı dirençte artış, sekonder bir mekanizma ile lipolizisin uyarılması, hipnotik etki gibi bazı özel etkiler meydana gelmektedir. Akupunktur noktaları uyarılınca, bu noktadan başlayan hücresel uyarılar sinirsel iletim vasıtasıyla beyine ulaşır, buradan da ilgili organlar uyarılır. Bunun sonucunda canlı vücudunda var olan kimyasal maddeler, enzimler, hormonlar salgılanmakta ve birtakım hücresel değişiklikler meydana gelmektedir (Hunter 2011; Acosta-Olivo ve ark. 2017). Akupunktur uygulaması ile başta romatizmal rahatsızlıklar olmak üzere, nörolojik, ruhsal, hormonal, solunum yolu, deri, ağız hastalıkları, üriner ve genital sistem, mide-bağırsak sistemi, kardiyovasküler sistem ve göz rahatsızlıkları gibi hemen hemen tıbbın her alanında tedavi uygulamaya uygun olduğu ve akupunktur uygulaması ile bu rahatsızlıkların iyileştirilebildiği belirtilmiştir (Schulman 2001).

Çalışmada; kırık iyileşme sürecinde akupunktur uygulamasının malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH) düzeyleri ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada 3 aylık toplam 54 adet Wistar-Albino ırkı dişi rat (250-300 gr ağırlığında) kullanıldı. Araştırmaya başlamadan önce Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan araştırma için etik kurul izni (2011/07-92) alındı ve deney hayvanları Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edildi. Deneysel uygulamalar laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık ve 24±3°C) göre gerçekleştirildi. Deneysel uygulamalar boyunca ratlara standart ticari rat yemi (pelet yem) ve musluk suyu *ad libitum* sağlandı. Ratlar, kontrol ve deney grupları olarak toplam 10 gruba ayrıldı. Gruplar; kontrol grubu (grup I), akupunktur uygulamasının 7. gününde kesilen grup (grup II), akupunktur uygulamasının 14.

gününde kesilen grup (grup III), akupunktur uygulamasının 21. gününde kesilen grup (grup IV), kırık oluşumunun 7. gününde kesilen grup (grup V), kırık oluşumunun 14. gününde kesilen grup (grup VI), kırık oluşumunun 21. gününde kesilen grup (grup VI), kırık oluşturulup akupunktur uygulamasının 7. gününde kesilen grup (grup VIII), kırık oluşturulup akupunktur uygulamasının 14. gününde kesilen grup (grup IX), kırık oluşturulup akupunktur uygulamasının 21. gününde kesilen grup (grup X)'tur.

Ratların sol femurlarında kırık oluşturuldu. Deneklere deneyin başlangıcında intraperitoneal olarak genel anestezi (Ketamin (Ketalar®) 50 mg/kg ve Xylazine (Rompun®) 10 mg/kg) uygulandı. Genel anestezi altında

tüm ratların sol femurları üzerinde 2,5 cm uzunluğunda anterolateral cilt insizyonu gerçekleştirildi. Femurun orta diafizer bölgesine ulaşarak gigli testeresi kullanılarak orta shaft kısmında enine kırık oluşturuldu. 0,5 mm kalınlığındaki kirschner teli kemiğin proksimal parçasının kırık hattından retrograd olarak intramedüller olarak ilerletildi. Femurun üst ucundan çıkarılan kirschner teli aynı şekilde intramedüller olarak distal kırık parçasına ilerletilip kırık tespiti yapıldı. Deney boyunca ratlara herhangi bir şekilde aktivite kısıtlaması yapılmadı ve girişim yapılan bacağa yük uygulamasına izin verildi. Kırık oluşumu direkt radyograflerle radyolojik olarak doğrulandı.

Tablo 1. Deney grupları

Table 1. Experimental groups

Gruplar	Uygulamalar
	Grup I Kontrol grubu (n:5)
Akupunktur Grupları	Grup II Akupunktur uygulamasının 7. gününde kesilen grup (n:5)
	Grup III Akupunktur uygulamasının 14. gününde kesilen grup (n:5)
	Grup IV Akupunktur uygulamasının 21. gününde kesilen grup (n:5)
	Grup V Kırık oluşumunun 7. gününde kesilen grup (n:6)
Kırık Grupları	Grup VI Kırık oluşumunun 14. gününde kesilen grup (n:6)
	Grup VII Kırık oluşumunun 21. gününde kesilen grup (n:6)
	Grup VIII Kırık oluşturulup Akupunktur uygulamasının 7. gününde kesilen grup (n:6)
Kırık+Akup. Grupları	Grup IX Kırık oluşturulup Akupunktur uygulamasının 14. gününde kesilen grup (n:5)
	Grup X Kırık oluşturulup Akupunktur uygulamasının 21. gününde kesilen grup (n:5)



Şekil 1. Akupunktur uygulaması

Figure 1. Acupuncture application

Kırık oluşumunun ardından ratlara elektroakupunktur (Elakupunktur Cihazı; 6 kanallı, ES-160 model, ITO CO LTD, 3-3-3 Toyotama-minami, JAPAN) uygulaması hem cerrahi alan civarına hem de uzak akupunktur noktalarına yapıldı. Cerrahi alanın 15 mm proksimal ve distaline birer iğne yerleştirildi. Uzak nokta olarak St 36 (tuberositas tibia'nın distal kenarı hizasında ve lateralinde, fibula ile tibia arasında), Li 4 (ön ayakların dorsumunda 1. ile 2. parmaklar arasında), Sp 6 (arka ayaklar tibia distal ucunun medial tarafında), Liv 7 (tibia medial kondilinin distalinde meidalde) ve Liv 3 (arka ayaklar dorsumunda 1. ve 2. parmakları arasında) noktaları iğnelendi. Cihazdan çıkan

uçlar aynı taraf akupunktur noktalarına ve cerrahi alanın proksimaline ve distaline gelecek şekilde uygulanmış iğnelere bağlanarak 50 Hz, 20 µA, 25 dakika, haftada 4 seans olacak şekilde 7, 14 ve 21 gün süre ile gruplara ayrı ayrı elektroakupunktur uygulandı (Şekil 1).

Kırık oluşturulmasından 7, 14 ve 21 gün sonra ratlar sakrifiye edilerek kan örnekleri alındı. Kan örnekleri etilendiamin tetraasetik asit (EDTA) içeren tüplerde toplandı ve +4°C'de 3.000 rpm'de plazmalarını ayırmak için 10 dk santrifüj edildi. Plazma MDA, tam kan ise GSH ve glutasyon peroksidaz (GSH-Px) tayini için kullanıldı. Plazması ayrılan EDTA'lı kan örnekleri, serum fizyolojik ile 3 kez yıkandıktan sonra eritrositlerde katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktiviteleri ve hemoglobin düzeyleri belirlendi. Plazma örneklerinde MDA düzeylerinde oluşan değişimler spektrofotometrik olarak Placer ve ark. (1966)'dan modifye edilen yöntemle göre ölçüldü. Bu yöntem LPO'nun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonu temelinde dayanmaktadır. GSH tayini Ellman (1959) tarafından bildirilen metotla yapıldı. Bu yöntem, 5,5'dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ilave edildiğinde sülfidril gruplarının oldukça stabil sarı renk meydana getirmesi temelinde dayanan spektrofotometrik bir yöntemdir. KAT aktivitesini ölçmek için Aebi metodu (1974) kullanıldı. KAT, H₂O₂'in yıkımını katalize eder. H₂O₂'in KAT tarafından yıkılma hızı, spektrofotometrik olarak 240 nm dalga boyunda H₂O₂'in ışığı absorbe etmesinden faydalanılarak belirlendi. SOD aktivitesi Sun ve ark. (1988)'nin modifye etikleri metoda göre tayin edildi. SOD aktivite ölçümü, ksantin-ksantin oksidaz sistemi ile üretilen O₂'nin nitroblue tetrazolium (NBT)'ü indirgeyerek renk oluşması esasına dayanan metod ile ölçüldü. GSH-Px ve G6PD

aktivitesi ölçümü için Beutler metodu (1975) kullanıldı. GSH-Px, GSH'un okside glutatyon (GSSG)'a oksidasyonunu H_2O_2 kullanarak katalizler. GSSG'ün oluşum hızı glutatyon redüktaz reaksiyonu vasıtasıyla ölçülür. Hemogloblin düzeyi tayininde Frankel ve ark. (1970)'nın metodu kullanıldı. Buna göre ferrisiyanür hemoglobindeki Fe^{+2} 'yi oksitleyerek $+2$ değerden $+3$ değerli demire çevirir, methemoglobine dönüşmesini sağlar. Bunu takiben potasyum siyanid ile stabil bir pigment olan siyanomethemoglobin meydana gelir. Siyanomethemoglobinin absorbanası 546 nm 'de okunur.

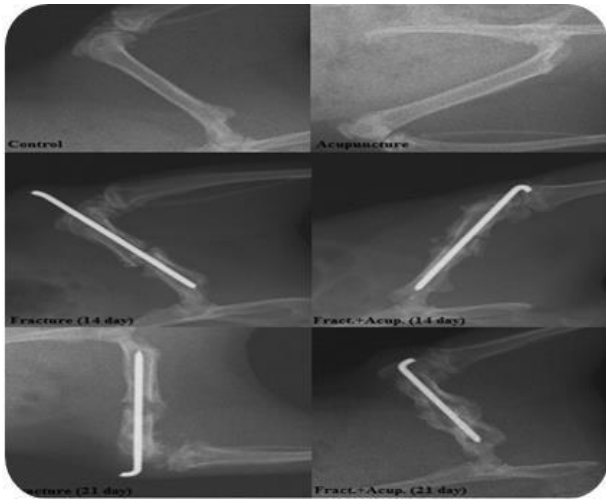
İstatistiksel Analiz

Ölçülen tüm parametrelere ait ham değerlerin normal dağılım gösterip göstermediklerini belirlemek için Shapiro-Wilk normallik testi uygulandı ve testin sonucunda tüm parametrelerdeki değerlerin normal dağılım gösterdiği tespit edildi. Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve anlamlılığın görüldüğü durumlarda, farkın hangi gruptan/gruplardan kaynaklandığını saptamak için de *post hoc* Tukey testi uygulandı.

Yapılan tüm istatistiksel analizlerde SPSS 22 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) yazılım paketi kullanıldı. Çalışma sonucunda elde edilen veriler ortalama ve standart hata olarak ifade edildi. $P < 0,05$ değerleri anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

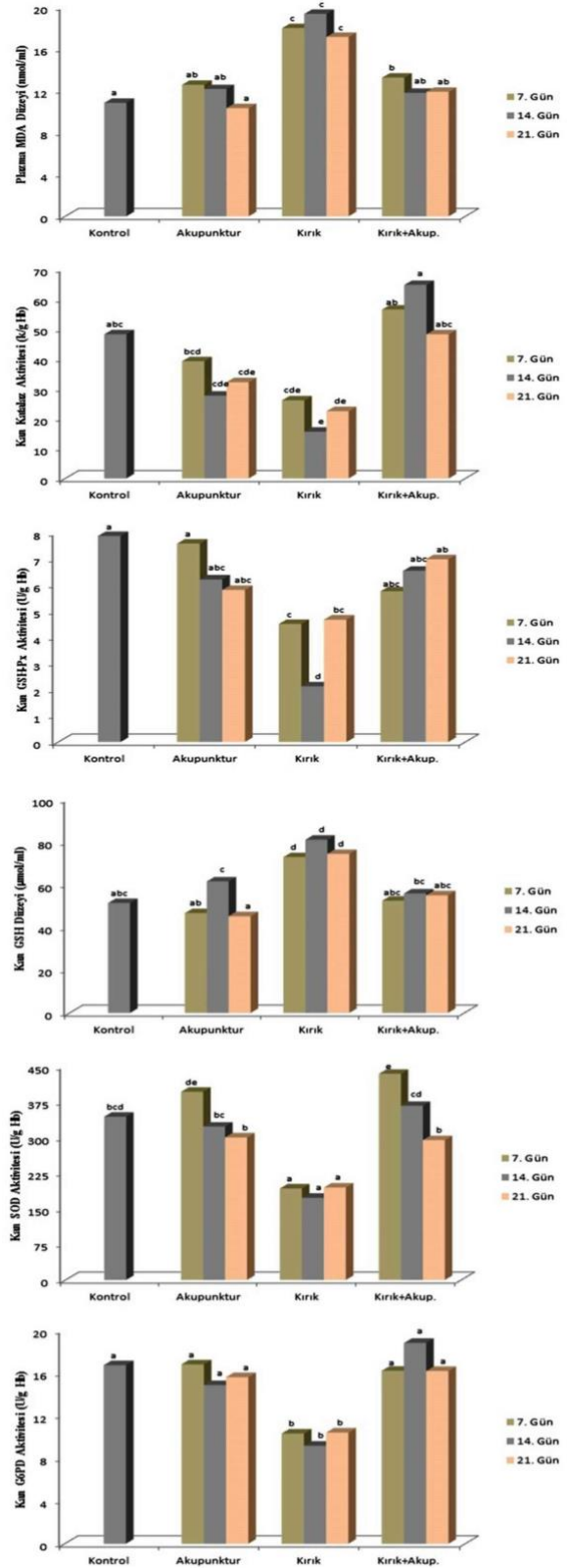
Ratlar herhangi bir komplikasyon olmadan ameliyat sonrası iyileştiler ve herhangi bir rahatsızlık belirtisi göstermediler. Tüm kırık gruplarında kırık sonrası elde edilen radyografilerde iyileşme saptandı (Şekil 2).



Şekil 2. Kırık iyileşmesinde radyolojik değerlendirme: Kontrol, akupunktur, kırık, kırık+akupunktur (14. ve 21. günler)

Figure 2. Radiological evaluation of fracture healing: Control, acupuncture, fracture, fracture+acupuncture (days 14 and 21)

Plazma MDA, tam kan GSH düzeyleri, eritrosit KAT, SOD, GSH-Px ve G6PD aktiviteleri Şekil 3'de verildi. Plazma MDA ve tam kan GSH düzeylerinde akupunktur gruplarında (7, 14, 21. gün) kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmedi. Plazma MDA ve tam kan GSH düzeylerinde tüm kırık gruplarında (7, 14, 21. gün) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede artma saptandı ($P < 0,05$). Kırık+akupunktur gruplarında kırık gruplarına göre istatistiksel olarak önemli ölçüde azalma gözlemlendi ($P < 0,05$).



a, b, c, d, e, Aynı grafikte farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir

Şekil 3. Kırık oluşturulan ratlarda akupunkturun MDA, GSH düzeyleri ile KAT, SOD, GSH-Px ve G6PD aktiviteleri üzerine etkileri

Figure 3. Effects of acupuncture on MDA, GSH levels, CAT, SOD, GSH-Px and G6PD activities in fractured rats

Eritrosit KAT, SOD, GSH-Px ve G6PD aktiviteleri kontrolle karşılaştırıldığında, akupunktur gruplarında (7, 14, 21.

gün) istatistiksel olarak önemli bir değişiklik göstermedi. Eritrosit KAT aktivitelerinde 7. gün sakrifiye edilen kırık grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmezken, 14 ve 21. günlerde sakrifiye edilen kırık gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma saptandı ($P<0.05$). Eritrosit SOD, GSH-Px ve G6PD aktivitelerinde kırık gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalma saptandı. Eritrosit SOD, GSH-Px ve G6PD aktivitelerinde kırık+akupunktur gruplarında kırık gruplarına göre önemli bir artma gözlemlendi ($P<0.05$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Kırık iyileşmesini etkileyen faktörler ve iyileşmenin hızlandırılması araştırmacıların üzerinde çalıştığı popüler konularından biridir. Hayvan modellerinden elde edilen sonuçların insanlara uyarlanabilmesi çok önemlidir. İnsanlarda kırık iyileşmesinin erken dönemleri incelendiğinde, diyafiz kırıklarında görülen onarım hızı ile deneysel kırığın onarım hızı benzerlikler göstermiştir (Huo ve Troiano 1991). Bu nedenle, deneysel kırık modelinden elde edilen sonuçların insanlara uyarlanabileceği düşünülmektedir.

Kırık iyileşmesinin inflamasyon evresinde SOR'nin arttığını bildiren çeşitli çalışmalar mevcuttur. Shandall ve ark. (1986) dokudaki lokal hasar ya da cerrahi sonucu bölgeye gelen polimorfların reperfüzyon stimülasyonu ve inflamasyon etkisi ile SOR'ni artırdığı sonucuna varmışlardır. Greenwald ve ark. (1979) vücut içinde lökositler tarafından üretilen SOR'nin kırıkta ve çevresel eklem yapılarının yapısal veya fonksiyonel bütünlüğünü olumsuz yönde etkilediğini göstermişlerdir. Basu ve ark. (2001), Cohen ve Meyer (1993) ve Leveille ve ark. (1997), oksidatif stresin artışıyla kemik dansitesindeki azalma arasında ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir.

Vasküler yaralanmalar ve kompartman sendromunun eşlik ettiği kırıklarda, ekstremitelerde belirli bir süre iskemiye maruz kalmakta ve iskemi süresi sonlandıktan sonra reperfüzyon gerçekleşmektedir. İskemik durumlarda temel amaç, erken reperfüzyonu sağlayarak kas nekrozunu önlemektir (Wang ve ark. 2005). İskemi sonrası doku hasarı, çoğunlukla reperfüzyon sırasında oluşur (Toledo-Pereyra ve ark. 2004). Reperfüzyon, iskemik dokularda nötrofillerin birikimine ve endotel hücrelerinde ksantin oksidaz aktivitesinin artmasına neden olur ki, bu olaylar, O_2^- , H_2O_2 ve OH-olarak bilinen SOR'nin hızlı bir şekilde üretimine yol açar (Seyama 1993; Toledo-Pereyra ve ark. 2004; Wang ve ark. 2005). Geçici iskemi ve reperfüzyonun eşlik ettiği tibia kırıklarında oluşan SOR miktarının, kırık iyileşmesinin inflamasyon evresinde oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir (Cetinus ve ark. 2005). Serin ve ark. (1998), ratlarda yaptıkları bir çalışmada, iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarında serbest radikaller ve bu hasara karşı vücutta koruyucu bazı değişikliklerin oluştuğunu ve bu değişikliklerden kan, kemik ve kas dokuları içerisinde en az etkilenen dokunun kas dokusu olduğunu bildirmişlerdir. Durak ve ark. (1996), femurlarını kırıkta tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında; SOR'nin etkilerinin kırık hematoma sıvısında plazmadan daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir. Buna kırık bölgesinde gelişen ve SOR üretimi ve lipid peroksidasyon artışı ile sonuçlanan iskemi ve reperfüzyonun sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda plazma MDA düzeyinin kırığın 7. günden başlayarak arttığı saptanmıştır. MDA düzeyinin artması, kırık iyileşmesini olumsuz olarak etkilemektedir. Lipid peroksidasyonunun osteoklastları direkt olarak aktive ederek kemik rezorpsiyonunu artırdığı

bildirilmektedir (Garrett ve ark. 1990; Suda 1991). Bu nedenle, lipid peroksidasyonunun kırık iyileşmesini olumsuz etkileyebildiği, bunun da yüksek seviyede SOR ve düşük seviyedeki antioksidanların etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kırık (7, 14 ve 21. günlerde), lipid peroksidasyonunda ve endojen antioksidan bir bileşik olan GSH düzeyinde önemli artışa neden olmuştur. GSH'un GSSG'a dönüşümünü katalizleyen antioksidan bir enzim olan GSH-Px aktivitesindeki azalma GSH'un GSSG'a dönüşümünü engellemiş olabilir. GSH, sayısız elektrofilik ve oksitleyici bileşiklerle etkileşim kurarak hem nükleofil hem de etkili indirgeyici görevi gören başlıca hücresel -SH bileşimidir. -SH grubunun SOR ile doğrudan etkileşimi ile nonenzimatik bir antioksidan görevi yapabilir veya bir koenzim olarak SOR için enzimatik detoksifikasyon reaksiyonunda yer alabilir (Göktürk 1997; Harmankaya ve Özcan 2017).

Vücutta her şey düzenli çalışırsa, düşük düzeyde ortaya çıkan SOR antioksidan enzimlerle etkisiz kılınır. Bunların üretimleri organizmanın temizleme olanaklarını aştığında dokuda yıkım başlamaktadır (McCord 1985; Göktürk 1997; Yılmaz ve Yılmaz 2006; Yılmaz ve ark. 2006; Yılmaz ve ark. 2014). Çalışmamızda, kırık gruplarında kan KAT, SOD, GSH-Px ve G6PD aktiviteleri düşük bulunmuştur. Avitabile ve ark. (1996), antioksidan sistemin düşük aktivitesi ve kemik demineralizasyonu ile serbest radikal düzeyindeki artış arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Osteoklast hücreleri, kemik rezorpsiyonu süresince SOR ve özellikle O_2^- anyonları ürettikleri ve bu anyonların, kemik yıkımına önemli bir katkısı olduğu gösterilmiştir (Collin-Osdoby ve ark. 1998). Kemik rezorpsiyonu O_2^- anyonlarını temizleyici bir enzim olan SOD ile engellenmektedir. Halıcı ve ark. (2010), plak eğme cihazı kullanarak ratların sağ tibianın distal 1/3'ünde kırık oluşturmuş ve sonra deneyin sonuna kadar intraperitoneal yolla 30 mg/kg/gün melatonin vermişlerdir. Plazma MDA seviyesinin kırık oluşturulan ratlarda 3, 7, 14 ve 28. günlerde kontrol değerlerine göre yüksek, kırık oluşumu ile birlikte melatonin uygulanan ratlarda ise düşük olduğunu bildirmişlerdir. Kanda SOD aktivitesinin melatonin uygulanmayan grupta 3, 7 ve 14. günlerde düşük olmasına rağmen, 28. günde ilk günkü değerine ulaştığını, miyeloperoksidaz seviyesinin ise 1, 3. ve 7. günlerde azaldığını bildirmişlerdir.

Kırık iyileşmesini hızlandırmak için birçok yazar farklı kimyasal ajanları kullanarak in vitro ve in vivo ortamlarda çalışmalar yapmıştır. Histing ve ark. (2011), sıçanlar üzerinde yapmış oldukları deneysel çalışmada, sildenafilin siklik guanozin monofosfat fosfodiesteraz 5'i inhibe ederek kırık iyileşmesini hızlandırdığını göstermişlerdir. Spiro ve ark. (2013), deneysel sıçan çalışmasında selektif östrojen modulatorü olan raloksifenin kırık iyileşmesinin erken fazlarında katkısı olduğunu göstermişlerdir. Bukata (2011), teriparatidin kırık kallus oluşumunu ve kırık iyileşmesini hızlandırdığını bildirmiştir. Çift kör prospektif çalışmalarda elektromanyetik uyarımın femoral ve tibial osteotomilerin iyileşimine pozitif etkileri olduğu Mammi ve ark. (1993) tarafından gösterilmiştir. Ekstremitelerde uzatması yapılan 13 hastayı içeren bir çift kör çalışmada, Eyres ve ark. (1996) elektromanyetik uyarımın kemik iyileşmesi üzerine etkisi olmadığını bulmuşlardır; bununla birlikte 12 aylık takipte elektromanyetik uyarım uygulanan hastalarda distraksiyon hattının distalindeki kortikal kemikte daha az osteopeni olduğunu bildirmişlerdir. Claes ve ark. (2017), ratlarda yumuşak doku travmasının kırık iyileşmesi üzerine etkisini inceledikleri çalışmada, bölgede revaskularizasyonun gecikmesi sonucu kan akımının azalmasına bağlı olarak

kallus oluşumunun bozulacağı ve kırık iyileşmesinin gecikeceği sonucuna varmışlardır.

Elektrik stimülasyonunun kırık bölgesine doğrudan uygulanması kemik kaynamasını sağlamak için kullanılan çok etkili bir yöntemdir. Yapılan bir çalışmada, ratlarda tibia kırığı iyileşme süreci üzerinde akupunkturun etkileri incelenmiştir. 12 haftalık erkek Wistar ratların tibialarına tek taraflı açık osteotomi uygulanmıştır. Akupunktur grubuna cerrahi bölgesine ve proksimaline 3 hafta boyunca günlük akupunktur uygulaması (50 Hz, 20 uA, 20 dakika) yapılmıştır. Ameliyat sonrası 1, 3, 4 ve 6. haftalarda radyografik, makroskopik ve mekanik muayeneler ile yanıt değerlendirilmiştir. Akupunktur, mekanik testte 6. haftada mükemmel bir sonuç göstermiştir. Akupunktur uygulaması ile tedavi süresinin daha kısa ve hareket fonksiyonlarının çok daha iyi olduğu rapor edilmiştir (Nakajima ve ark. 2010). Sonuçlarımız, akupunkturun MDA yükselmesini önemli ölçüde inhibe ederek kontrol seviyelerine geri döndüğünü göstermektedir. Akupunkturun serbest radikaller üzerine etkisi SOD, KAT, GSH-Px ve G6PD'nin salınımına yönelik uyarıcı etkisine atfedilebilir. Akupunktur uygulaması kemik iyileşme sürecinde kallus gelişimi ve kemik mineralizasyonunu artırmıştır.

Yapılan bir başka çalışmada, ulna kemik kırıklarında akupunktur noktalarından altın tel implantasyonu uzun vadeli stimülasyona yol açarak akupunkturun etkilerini uzatmak için ampirik olarak kullanılmıştır. Akupunktur noktalarında subkutan altın tel implantasyonunun sıçan ulna kemik defektinde kemik rejenerasyonu üzerine uzun vadeli etkileri olduğu gösterilmiştir (Kim ve ark. 2009). Gecikmiş kaynama ve kaynamama üzerine endüktans kancası ile birlikte akupunkturun tedavi edici etkisi araştırılmış, endüktans kancası ile birlikte akupunkturun kırık iyileşmesini teşvik etmek için iyi bir yöntem olduğu ileri sürülmüştür (Li ve ark. 2008). Kansere bağlı kemik ağrısının giderilmesinde akupunkturun etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, akupunkturun ağrının giderilmesine yardımcı olabileceği ve zararlı yan etkilerinin bulunmadığı belirtilmiştir (Paley ve ark. 2011). Frantz ve ark. (2017), farelerde pentilentetrazol ile serebral kortekste meydana getirdikleri oksidatif stres ve inflamasyonda akupunkturun etkilerini inceledikleri çalışmalarında, akupunkturun potansiyel anti-epileptojenik etki göstermediğini, buna rağmen antioksidan ve anti-enflamatuar etkilerden kaynaklanabilecek nöronal korumayı büyük ölçüde desteklediğini göstermişlerdir.

Çalışmada kırık oluşumu lipid peroksidasyonun artmasına, antioksidan enzim aktivitelerinin ise azalmasına sebep olmuştur. Kırık bölgesine akupunktur uygulaması ise lipid peroksidasyonunu düşürmüş, antioksidan enzim aktivitelerini artırmıştır. Elde edilen bulgular SOR'nin kırık iyileşmesinde rolü olduğunu düşündürmektedir. Kırık oluştuktan hemen sonra son zamanlarda sık kullanılan doğal yöntemlerden akupunkturun uygulaması ile kırık iyileşme süreci kısaltılabilecek etkilerinin olacağı ve kullanılan ilaçlardan ileri gelebilecek yan etkilerin azaltılabileceği kanısına varılmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma, Fırat Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından VF.12.12 nolu proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Acosta-Olivo C, Siller-Adame A, Tamez-Mata Y, Vilchez-Cavazos F, Peña-Martinez V (2017). Laser Treatment on Acupuncture Points Improves Pain and Wrist Functionality in Patients Undergoing Rehabilitation Therapy after Wrist Bone Fracture. A Randomized, Controlled, Blinded Study. *Acupunct Electrother Res*, 42(1), 11-25.
- Adrian W (2012). Acupuncture in Medicine. BMJ Group Subscriptions Department, Northwich, Cheshire.
- Aebi H (1974). Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. Methods of enzymatic analysis. 2nd English ed. Weinheim: Verlag Chemie; 673-678.
- Avitabile M, Rasa R, Campagna NE, et al. (1996). Calcium release from the mineral matrix of the mandibular bone due to hydrogen peroxide exposure. *Minerva Stomatol*, 45, 401-403.
- Basu S, Michaelsson K, Olofsson H, Johansson S, Melhus H (2001). Association between oxidative stress and bone mineral density. *Biochem Biophys Res Commun*, 288, 275-279.
- Beutler E (1975). Red cell metabolism. In: A manual of biochemical methods. 67-69, New York: Grune Strottan.
- Bukata SV (2011). Systemic administration of pharmacological agents and bone repair: What can we expect. *Injury*, 42, 605-608.
- Cetinus E, Kiliç M, Uzel M, et al. (2005). Does long-term ischemia affect the oxidant status during fracture healing? *Arch Orthop Trauma Surg*, 125, 376-380.
- Cheeseman KH (1993). Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Mol Aspects Med*, 14, 191-197.
- Claes L, Gebhard F, Ignatius A, et al. (2017). The effect of a combined thoracic and soft-tissue trauma on blood flow and tissue formation in fracture healing in rats. *Arch Orthop Trauma Surg*, 137(7), 945-952.
- Cohen ME, Meyer DM (1993). Effects of dietary vitamin E supplementation and rotational stress on alveolar bone loss in rice rats. *Arch Oral Biol*, 38, 601-606.
- Collin-Osdoby P, Li L, Rothe L, et al. (1998). Inhibition of avian osteoclast bone resorption by monoclonal antibody 121F: A mechanism involving the osteoclast free radical system. *J Bone Miner Res*, 13, 67-78.
- Comeli CN, Lane JM (1992). New. st Factors in fraeture healing. *Orthop*, 277, 297-311.
- Durak K, Bilgen ÖF, Kaleli T, et al. (1996). Antioxidant effect of alfa-tocopherol on fracture haematoma in rabbit. *J Int Med Res*, 24, 419-424.
- Ellman G (1959). Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, 2, 70-77.
- Engle WA, Yoder MC, Baurley JL, Yu P (1998). Vitamin E decreases superoxide anion production by polymorphonuclear leucocytes. *Pediatric Res*, 23, 245-248.
- Eyres KS, Saleh M, Kanis JA (1996). Effect of pulsed electromagnetic fields on bone formation and bone loss during limb lengthening. *Bone*, 18(6), 505-509.
- Frankel S, Reitman S, Sonnen AC (1970). A textbook on laboratory procedure and their interpretation. Ch 20. In: Grand-Wohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. The CV Mosby Comp, 1(7), 403-404.
- Frantz AL, Regner GG, Pflüger P, et al. (2017). Manual acupuncture improves parameters associated with oxidative stress and inflammation in PTZ-induced kindling in mice. *Neurosci Lett*, 661, 33-40.
- Frost HM (1989). The biology of fraeture healing. An overview for c1nieians. Part II. *Elin Orthop*, 248, 294-308.
- Gao C, Zhao J, Yang, D (2017). Efficacy of acupuncture in pain management of chronic diseases of bone and joint: a review of literature. *Int J Clin Exp Med*, 10(6), 8788-8800.
- Garrett IR, Boyce BF, Oreffo ROC, et al. (1990). Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest*, 85, 632-639.
- Göktürk E, Turgut A, Bayçu C, et al. (1995). Oxygen-free radicals impair fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand*, 66, 473-475.
- Göktürk E (1997). Sıçanlarda serbest oksijen radikallerinin kırık iyileşmesine etkisi. *Acta Orthop Traumatol Turc*, 3, 353-356.
- Greenwald RA, Moy WW (1979). Inhibition of collagen gelation by action of the superoxide radical. *Arthritis Rheum*, 22 (3), 251-259.
- Halıcı M, Öner M, Güney A, et al. (2010). Melatonin promotes fracture healing in the rat model. *Eklem Hastalık Cerrahisi*, 21, 172-177.
- Harmankaya A, Özcan A (2017). Effect of different doses of mistletoe lectin-I on the levels of tumor necrosis factor- α , nitric oxide, total antioxidant and oxidant capacity in rabbits. *Van Vet J*, 28(1), 41-45.
- Histing T, Marciniak K, Scheuer C, et al. (2011). Sildenafil accelerates fracture healing in mice. *J Orthop Res*, 29, 867-873.
- Hunter J (2011). Acupuncture for keloid scar. *Acupunct Med*, 29(1), 2.

- Huo MH, Troiano NW (1991).** The influence of ibuprofen on fracture repair: biomechanical, biochemical, histologic, and histomorphometric parameters in rats. *J Orthop Res*, 9(3), 383-390.
- Keskin D, Karsan O, Ezirmik N, Çiftçiöğlü A (1999).** Tavşanlarda kırık iyileşmesi üzerine alfa-tokoferolün etkisi. *Artroplastik-Artroskopik Cerrahi*, 10(2), 207-210.
- Kim HY, Sohn BY, Seo UK, et al. (2009).** An exploratory study of gold wire implantation at acupoints to accelerate ulnar fracture healing in rats. *J Physiol Sci*, 59(4), 329-333.
- Leveille SG, LaCroix AZ, Koepsell TD, et al. (1997).** Do dietary antioxidants prevent postmenopausal bone loss? *Nutr Res*, 17(8), 1261-1269.
- Li CF, Wang JR, Zeng Y, Sun P, Zhao L (2008).** Clinical observation on acupuncture combined with induction coupling for treatment of delayed union and nonunion. *Zhongguo Zhen Jiu*, 28(5), 334-336.
- Mammi GI, Rocchi R, Cadossi R, Massari L, Traina GC (1993).** The electrical stimulation of tibial osteotomies. Double-blind study. *Clin Orthop Relat Res*, 288, 246-253.
- McCord JM (1985).** Oxygen-derived free radicals and tissue injury. *N Engl J Med*, 312(3), 159.
- McKibbin M (1978).** The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg*, 60, 150-162.
- Nakajima M, Inoue M, Hojo T, et al. (2010).** Effect of electroacupuncture on the healing process of tibia fracture in a rat model: a randomised controlled trial. *Acupunct Med*, 28(3), 140-143.
- Norazlina M, Ima-Nirwana S, Gapor MTA, Khalid BAK (2002).** Tocotrienols are needed for normal bone calcification in growing female rats. *Asia Pacific J Clin Nutr*, 11(3), 194-199.
- Paley CA, Bennett MI, Johnson MI (2011).** Acupuncture for cancer-induced bone pain?. *Evid Based Complement Alternat Med*. 671043.
- Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC (1966).** Estimation of products of lipid peroxidation in biochemical systems. *Anal Biochem*, 16, 359-364.
- Schulman RA (2001).** Tibial shin splint treated with a single acupuncture session: case report and review of the literature. *Med Acup*, 13(1), 7-9.
- Serin E, Yılmaz E, Yılmaz S, Ünsaldı E, Durmuş AS (1998).** İskemi-reperfüzyon hasarında serbest oksijen radikalleri (ratlarda deneysel çalışma). *Artroplastik Artroskopik Cerrahi*, 9(1), 36-39.
- Seyama A (1993).** The role of oxygen-derived free radicals and the effect of free radical scavengers on skeletal ischemia/reperfusion injury. *Jpn J Surg*, 23, 1060.
- Shandall AA, Williams OT, Hallett MB, Young HL (1986).** Colonic healing: a role for polymorphonuclear leucocytes and oxygen radical production. *Br J Surg*, 73(3), 225-228.
- Spiro AS, Khadem S, Jeschke A, et al. (2013).** The SERM raloxifene improves diaphyseal fracture healing in mice. *J Bone Miner Metab*, 31, 629-36.
- Suda N (1991).** Role of free radicals in bone resorption. *Kokubyo Gakkai Zasshi*, 58, 603-612.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y (1988).** A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem*, 34, 497-500.
- Toledo-Pereyra LH, Lopez-Neblina F, Toledo AH (2004).** Reactive oxygen species and molecular biology of ischemia/ reperfusion. *Ann Transplant*, 9, 81-83.
- Turgut A, Göktürk E, Köse N, et al. (1999).** Oxidant status increased during fracture healing in rats. *Acta Orthop Scand*, 70, 487-490.
- Wang WZ, Fang XH, Stephenson LL, et al. (2005).** Microcirculatory effects of melatonin in rat skeletal muscle after prolonged ischemia. *J Pineal Res*, 39, 57-65.
- Yeler H, Tahtabas F, Candan F (2005).** Investigation of oxidative stress during fracture healing in the rats. *Cell Biochem Funct*, 23, 137-139.
- Yılmaz S, Atessahin A, Sahna E, Karahan I, Ozer S (2006).** Protective effect of lycopene on adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology*, 218 (2-3), 164-171.
- Yılmaz S, Yılmaz E (2006).** Effects of melatonin and vitamin E on oxidative-antioxidative status in rats exposed to irradiation. *Toxicology*, 222 (1-2), 1-7.
- Yılmaz S, İssi M, Kandemir MF, Gul Y (2014).** Malondialdehyde and total antioxidant levels and hematological parameters of beef cattle with coccidiosis. *YYU Vet Fak Derg*, 25, 41-45.





Determination of Nutrient Composition and Energy Content of Seven Different Malting Barley Varieties

Mehtap GUNEY

Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Van, Turkey

Received: 04.12.2018

Accepted: 15.03.2019

ABSTRACT

The nutrient composition, in vitro Dry matter (DM), Organic matter (OM) digestion and Metabolic energy (ME) levels of seven different malt barley varieties were determined in this study. In the study, seven different malt barley varieties (Zeynelaga, Erciyes, Yıldız, Aydanhanım, Başgöl, Efes-98, Durusu) were used. Based on the results of this study, all barley varieties can be used successfully in animal nutrition in terms of both nutrient composition and metabolic energy results by in vitro DM digestion (IVTDM) and in vitro OM digestion (IVOMD). Durusu variety was better than other varieties in terms of in vitro digestion and ME values. Transfer to the field of these results of the barley which has an indispensable place in the animal feeding and malt industry is important.

Keywords: Chemical composition, Malt barley varieties, Energy, In vitro digestibility

ÖZ

Yedi Farklı Maltlık Arpa Çeşidinin Besin Madde Kompozisyonu ve Enerji İçeriklerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada, yedi farklı maltlık arpa çeşidinin, besin madde kompozisyonu, in vitro Kuru madde (KM), Organik madde (OM) sindirimi ve Metabolik enerji (ME) düzeyleri belirlenmiştir. Çalışmada yedi farklı malt arpa çeşidi (Zeynelaga, Erciyes, Yıldız, Aydanhanım, Başgöl, Efes-98, Durusu) kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda, tüm arpa çeşitlerinin hem besin madde kompozisyonu hem de in vitro gerçek KM (İVGKMS) ve OM sindirimi (İVOMS) ile belirlenen metabolik enerji (ME) sonuçları açısından hayvan beslemede başarılı bir şekilde kullanılabilir. Durusu çeşidi, in vitro sindirim ve ME değerleri bakımından diğer çeşitlerden daha iyi bulunmuştur. Hayvan besleme ve malt endüstrisinde vazgeçilmez bir yere sahip olan arpanın bu sonuçlarının sahaya aktarılması önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Kimyasal kompozisyon, Maltlık arpa çeşitleri, Enerji, In vitro sindirilebilirlik

INTRODUCTION

Barley (*Hordeum vulgare* L.) has an important place in the field of cultivation and production in Turkey and the World (Kun 1988). In the past, it was only used as human nutrition and today, is most important source of nutrients in the consumption area. Animal feed and malt industry constitutes an important part of the consumption area (Aydoğan et al. 2017). Barley is an indispensable source of feed for producers because of its high nutritional value and fast availability in the feeding of livestock (Sayim and Balabanlı 2006). On the other hand, the portion of barley which is considered as raw material in the malt industry remains very low in total barley production and it is stated that cultivation field of barley has decreased by about 44% according to the data of 2016 (Tasci and Bayramoğlu 2017). Barley is more grown as grain. The nutrient density and energy levels in the contents vary according to the cultivated ecological regions (Akman and Kara 2007).

There are also important differences between varieties. It is stated that the difference between varieties is considered as an important criterion in malt industry (Tasciand Bayramoğlu 2017).

It is important to determine the energy values and nutrient digestibilities of these varieties as well as the differences in the content of malt type barley varieties in term of nutrient composition. Therefore, the aim of this study was to determine the nutrient composition, the in vitro DM and OM digestibilities, and energy levels of seven different malt barley varieties.

MATERIALS and METHODS

Feed material

Seven different malt barley varieties (Zeynelaga, Erciyes, Yıldız, Aydanhanım, Başgöl, Efes-98, Durusu) were obtained from Ankara Field Crops Central Research Institute. Approximately 500 g samples were taken from

each variety and brought to the laboratory.

Chemical Analysis

Malt type barley samples were ground in 1 mm sieve. Samples were analysed to determine DM, ash, CP, and CF contents based on the methods described by AOAC (1990), NDF and ADF contents according to Van Soest et al. (1991).

Determination of in vitro DM, OM Digestibility and Energy Contents

ANCOM Daisy II incubator device which provides artificial rumen environment was used in order to determine in vitro DM and OM digestibilities of malting barley varieties. The rumen fluid used in in vitro incubation was taken from four-year-old cattle fed barley based on diet. In the study, seven different malt barley varieties were transferred to F57 filter bag and incubated in DAISY incubator for 24 hours. At this stage, a total of 36 filter bags; 4 replicates for each barley type and 8 blinds were soaked in acetone for 3-5 minutes before incubation and then stored at 105 °C for 4 hours in the oven. Twenty-eight samples, excluding the blinds, 0.5 g of each barley sample were weighed and closed tightly. Samples taken after incubation were washed in tap water until clear water was removed and stored at 105 °C for 3 hours until constant weight and weighed. Then, using the ANCOM method determined in vitro the true DM, OM digestion and ME (Mcal/kg DM) levels by Van Soest et al. (1991) using strainer bag technique (ANCOM 2002 Technology Corp., Fairport, NY) were determined. The following equalities were used for in vitro true DM and OM.

Digestibilities;

$$\text{In vitro true DM digestibility (\%)} = \frac{100 - (T3 - (T1 \times C1))}{(T2 \times D) \times 100}$$

$$\text{In vitro true OM digestibility (\%)} = \frac{100 \times (T2 \times Q) - ((T3 - T1) \times Z)}{(T2 \times Q)}$$

T1 : F57 weight of bags

T2 : Weight of feed sample

T3 : Weight of bag and feed sample after in vitro incubation

C1 : Bag weight change correction coefficient due to incubation

Q : Feed organic matter before incubation, %

Z : Feed organic matter after incubation, %

Statistical Analysis

The data obtained from the study were analysed using general linear model (GLM) of SAS 9.4 package program (SAS 2014). The differences between the averages of malt barley varieties were determined by Duncan test.

RESULTS

The chemical composition of malt type barley varieties is given in Table 1. When Table 1 is examined, there was a significant difference between malt barley varieties in term of all nutrient contents, except for CF content (Table 1; $p < 0.001$). DM and OM contents of Zeynelaga, Erciyes and Aydanhanım varieties were higher than other varieties. The DM content of the Efes-98 variety was higher than that of the Aydanhanım and the DM content of the varieties ranged from 94.73 to 96.88%. Sevim et al. (2017)

noted that Durusu variety which is a malt type barley variety had 93.53-94.39% DM content, 2.31-2.80% ash content, Imik et al. (2003) have reported that DM and ash contents were 88.30% and 2.34%, respectively for barley. Similarly, Guney and Demirel (2016) reported the 91.16% DM and 2.39% ash contents for barley. The DM values reported in studies mentioned above were be lower than the values obtained in this study, but were similar to the values of ash contents. It is stated that malt type barley is difficult to germinate at low DM levels and should be stored in storehouses with good air circulation (MacLeod 2018). DM content of barley grains can vary depending on type, cultivation conditions, soil structure and weather conditions in the harvesting period and storage conditions (Sevim et al. 2017).

Table 1 shows CP content of barley. CP content of Durusu variety were higher than (16.02%) those of Zeynelaga (14.24%), Aydanhanım (14.23%), Basgül (14.96%) and Efes-98 (14.30%) varieties but similar to other varieties ($p < 0.001$). In the studies at which examined the quality characteristics of barley varieties in different regions, CP contents were determined 12.03-14.46% (Aydoğan et al. 2017), 11.29% (Aldemir and Karsli (2012), 12% (Imik et al. 2003), 11.22% (Cerci et al. 2004). In current study, CP contents of malt types barley varieties ranged from 14.23% to 16.02% DM, which were significantly higher than the values reported by the researchers mentioned above. Kun et al. (1992) reported that the amount of protein in the grain barley is related to malt and fodder characters, because low in CP content in malt types and high CP content in fodder varieties is desired. It was considered that these barley varieties used in this study could not be suitable for malt industry due to high CP contents but it is appropriate to use as animal feed.

When the NDF contents were examined, Aydanhanım variety (40.99%) had the lowest, Durusu varieties (22.07%) had the lowest NDF contents among barley varieties. In term of ADF contents of varieties; Zeynelaga (6.10%), Erciyes (6.09%) and Efes-98 (5.81%) were higher than Yildiz (4.85%), Aydanhanım (4.53%) and Durusu (4.69%) (Tablo 1; $p < 0.001$). In the literature, NDF and ADF values were 35.55% and 8.64% (Güney and Demirel 2016); 27.73% and 6.62% (Sevim et al. 2017), respectively. In current study, it was noted that the range of NDF contents of malt type varieties were very wide. It is stated that the nutrient consumption of the plants is affected by many factors, including vegetation period (Kılıç 1986). As a matter of fact, Tekce and Gül (2014) reported that NDF and ADF content in feeds caused rumen pH to remain within normal limits by promoting saliva secretion in ruminants.

In vitro DM, OM digestibility and metabolized energy levels of 7 malt barley varieties are given in Table 2. DM digestibilities of malt type varieties ranged from 57.72-88.75%; whereas OM digestion varied between 68.02-83.92%. DM and OM digestion of Durusu variety was higher than other varieties. It can be stated that the increasing cell wall levels in feed causes a decrease in the total digestibility of feeds (Lithourgidis et al. 2006). Thus, it has been observed that Durusu has a lower NDF content than the other varieties (Table 2; $p < 0.0001$). ME contents of malt varieties were between 2.24-3.24 Mcal/kg and Durusu variety had the highest ME value and no difference was observed between the other varieties. Higher ME levels in Durusu variety are thought to be caused by a higher in vitro OM digestion.

Table 1. Chemical composition of malting barley varieties, DM%

Variety	Zeynelaga	Erciyes	Yildiz	Aydanhanım	Basgöl	Efes-98	Durusu	P<
DM	96.88±0.11 ^a	96.58±0.02 ^a	95.31±0.42 ^b	96.48±0.06 ^a	94.73±0.01 ^c	95.19±0.11 ^{bc}	94.78±0.06 ^{bc}	0.0001
OM	94.64±0.10 ^a	94.49±0.10 ^a	93.11±0.43 ^b	94.54±0.02 ^a	92.36±0.08 ^c	92.60±0.06 ^{bc}	92,34±0.13 ^c	0.0001
Ash	2.07±0.05 ^{bc}	2.09±0.08 ^{bc}	2.21±0.01 ^{bc}	1.94±0.08 ^c	2.37±0.09 ^{ab}	2.59±0.17 ^a	2.43±0.19 ^{ab}	0.0114
CP	14.24±0.15 ^b	15.14±0.18 ^{ab}	15.16±0.25 ^{ab}	14.23±0.20 ^b	14.96±0.27 ^b	14.30±0.32 ^b	16.02±0.58 ^a	0.0010
CF	0.69±0.01 ^{ab}	0.57±0.01 ^{ab}	0.43±0.05 ^{ab}	0.88±0.20 ^a	0.38±0.17 ^b	0.64±0.18 ^{ab}	0.64±0.17 ^{ab}	0.2539
NDF	29.80±0.60 ^{bcd}	35.13±3.45 ^{ab}	24.82±0.82 ^{cd}	40.99±4.39 ^a	32.58±4.30 ^{abc}	29.42±1.10 ^{bcd}	22.07±0.62 ^d	0.0050
ADF	6.10±0.32 ^a	6.09±0.52 ^a	4.85±0.15 ^b	4.53±0.14 ^b	5.25±0.18 ^{ab}	5.81±0.26 ^a	4.69±0.13 ^b	0.0031

DM: Dry matter, OM: Organic matter, CP: Crude protein, CF: Crude fat, NDF: Neutral detergent fiber, ADF: Acid detergent fiber (ADF); P<0.001: Means with different superscripts within a row are significantly different; a, b, c, d: Means with the same superscript(s) within each row are significantly different

Table 2. In vitro DM, OM digestibility and ME contents of Barley varieties

Variety	IVTDM, %	IVOMD, %	ME, kcal
Zeynelaga	65.57±1.68 ^{bc}	70.27±2.22 ^b	2.54±0.08 ^{bc}
Erciyes	64.21±0.40 ^{bc}	69.91±0.64 ^b	2.53±0.02 ^{bc}
Yildiz	68.55±2.27 ^b	74.31±1.91 ^b	2.69±0.07 ^b
Aydanhanım	61.95±0.91 ^{bc}	68.02±0.31 ^b	2.46±0.01 ^{bc}
Basgöl	57.72±3.44 ^c	69.12±5.29 ^b	2.24±0.12 ^c
Efes-98	68.34±2.68 ^b	73.53±2.61 ^b	2.66±0.09 ^b
Durusu	88.75±5.86 ^a	83.92±4.21 ^a	3.24±0.17 ^a

IVTDM: in vitro true dry matter digestibility, IVOMD: in vitro organic matter digestibility, ME: Metabolic energy

DISCUSSION and CONCLUSION

In the study, high DM and CP contents of malt type barley varieties have been obtained. It is thought that all varieties have high CP content and high CP content is an undesirable feature in malt industry. Thus, it is thought that it would be better if these varieties are used as animal feed. Seven different malt barley varieties can be used successfully in animal nutrition based on both nutrient composition and in vitro DM, OM digestibility, metabolic energy results. Durusu varieties were found to be superior in term of in vitro digestion and ME levels. Barley has an important place in the malt industry and animal nutrition. Therefore, it is important that these results of barley varieties are important to reveal and transfer to the field.

REFERENCES

- AOAC (1990). Association of official analytical chemists. official methods of analysis, 15th Edition, AOAC, Washington, DC, 1,69-79.
- Akman Z, Kara B. (2007). Isparta yöresinde yetiştirilen Arpa köy çeşitlerinin verim ve verim öğelerinin belirlenmesi. *Akdeniz Üniv Zir Fak Derg*, 20(2), 163-169.
- Aldemir R, Karsli MA (2012). Yaş şeker pancarı posası silajının arpa yerine kullanımının koyunlarda duodenuma geçen toplam protein üzerine etkisi: I. Besin madde sindirimi ve mikrobiyal protein sentezi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 23(2), 89-98.

Aydoğan S, Sahin M, Göçmen-Akcakçık A, Demir B, Hamzaoglu S, Kara I (2017). Arpa genotiplerinin farklı lokasyonlardaki kalite özelliklerinin değerlendirilmesi. *Selçuk Tarım ve Gıda Bil Derg*, 31(2), 8-13.

Cerci IH, Tatlı Seven P, Azman MA, Birben N (2004). Koyunlarda bazı kaba ve yoğun yemlerin naylon kese yöntemiyle kuru ve organik madde yıkılabilirliklerinin ve enzim tekniği ile kuru ve organik madde sindirilebilirliklerinin saptanması. *FÜ Sağ Bil Derg*, 18(2), 111-116.

Güney M, Demirel M (2016). The effect of replacement with different levels of sulfur and sulfur free broad bean in soybean meal and barley based rations on some rumen fermentation parameters. *YYU Tarım Bil Derg*, 26(3), 341-347.

Imik H, Tuncer SD, Aytac M, Aylanc A (2003). Akkaraman kuzu rasyonlarına arpa yerine farklı oranlarda katılan kavuzu alınmış süpürge darısının (Sorgum vulgare) besi performansı ve yapağı kalitesi üzerine etkisi. *Türk J Vet. Anim. Sci*, 27, 677-684.

Kılıç A (1986). Silo yemi (Öğretim, öğrenim ve uygulama önerileri). pp 327. Bilgehan Press, Bornova, İzmir, Turkey.

Kun E (1988). Serin iklim tahılları. AU Ziraat Fakültesi publications. Textbook, pp 299, Ankara, Turkey.

Kun E, Özgen M, Ulukan H (1992). Arpa çeşit ve hatlarının kalite özellikleri üzerinde araştırmalar. II. Arpa-Malt Semineri. Mayıs 25-27, Konya, pp. 70-95.

Lithourgidis AS, Vasilakoglu IB, Dhima KV, Dordas CA, Yiakoulaki MD (2006). Forage yield and quality of common vetch mixtures with oat and triticale in two seeding rations. *Field Crops Res*, 99, 106-113.

MacLeod A (2018). Understanding Malting Barley Quality. http://msue.anr.msu.edu/uploads/234/78941/Understanding_Malting_Barley_Quality_-_Aaron_MacLeod.pdf. (02.12.2018)

Sevim B, Ayasan T, Ulger I, Ergül S, Aykanat S, Coskun AM (2017). Farklı maltlık arpa çeşitlerinin besin değerlerinin in vitro gaz üretim tekniği kullanılarak tespiti. *Türk Tarım-Gıda Bil ve Tek Derg*, 5(10),1216-1220.

SAS (2014). SAS/STAT Software: Hangen and Enhanced, Version 9.4, SAS, Inst. Inc., Cary, N.C. USA.

Sayim I, Balabanlı C (2006). Arpa çeşit ve hatlarının tane, silaj verimi ve verim komponentlerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *SÜ Vet Fak Derg*, 20, 93-104.

Sipahi H, Akar T, Ozkara R, Yıldız MA, Baspınar E, Sayim I (2009). Arpada (Hordeum vulgare L.) depo proteini elektroforegramlarının malt kalitesi ile ilişkisinin belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araş Enst Derg*, 18(1-2), 1-10.

Tasci R, Bayramoglu Z (2017). Arpa çeşitlerinin üretim, pazarlama ve işleme açısından önemi. *TURJAF Derg*, 5(8), 923-934.

Tekke E, Gul M (2014). Ruminant beslemede NDF ve ADF'nin önemi. *AU Vet Bil Derg*, 9(1), 63-73.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*, 74, 3583-3597.





The Effect of Addition Dry Sugar Beet Pulp in Triticale Silage on Silage Quality

Reşit ALDEMİR¹ Duran BOLAT²

¹ Van Yüzüncü Yıl University, Gevaş Vocational School, Laboratory and Veterinary Health Program, Van, Turkey

² Retired Lecturer

Received: 09.11.2018

Accepted: 20.03.2019

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of two different levels of dry sugar beet pulp addition (DSBP) into fresh triticale harvested at milk stage on silage quality. At the first, the concentration of nutritional matters were determined in triticale harvested at milk and dough stage in the experiment. Then, DSBP was added to triticale harvested at milk stage at the levels of 0 (Control=C), 5% and 10% based on natural weight (W/W) and these silages were incubated about 3 months in plastic barrel (about 5 lt. in volume). Triticale harvested at dough stage (Without DSBP) was also ensiled and the silage quality was determined. Silage pH and volatile fatty acids (VFA) were determined as soon as silos opened, and the other nutritional matters analyzes were determined later on. CP content was determined on both wet and dry samples. Addition of DSBP into silage linearly increased DM content of silage ($P<0.01$) and the highest DM content was observed in triticale harvested at dough stage. It was observed that ash content of triticale harvested at dough stage had significantly lower compared with other silages ($P<0.01$). The content of CP, EE and NDF were numerically different, but it was observed statistically non-significant. Triticale harvested at dough stage had significantly lower ADF concentration compared with other groups ($P<0.01$). While the lowest pH (4.62) and the highest lactic acid concentration (131.73 g/kgDM) were observed in C+5%DSBP, the highest pH (5.59) and the lowest lactic acid concentration (29.51 g/kg DM) were determined in the triticale harvested at dough stage ($P<0.01$). Butyric acid concentration was the highest (9.99 g/kg DM) in control group, and the lowest in the dough stage group (1.82g/kg DM) and the difference of the groups was determined significant ($P<0.01$). In the study, the highest acetic acid value was 15.53 g/kg DM in control, while the minimum value was in 6.59 g/kg DM in dough stage and the difference among the groups were significant ($P<0.01$). The highest propionic acid concentrations was 3.02 g/kg DM in dough stage, the minimum value was (1.18 g/kg DM) in C+10% DSBP and the differences among the groups were found to be significant at $P<0.05$ level. As a result, it was concluded that addition of 5% or 10% dry sugar beet pulp into triticale haven't improved silage quality in this study. Therefore, it was concluded that appropriate studies should be carried out in order to solve the problem of compression especially in the construction of triticale silage by determining the appropriate harvesting period.

Keywords: Dry sugar beet pulp, Silage quality, Triticale

ÖZ

Tritikale Silajına Kuru Şeker Pancarı Posası Katılmasının Silaj Kalitesi Üzerine Etkisi*

Bu araştırma süt olum döneminde biçilen tritikale hasılına iki farklı düzeyde melashı kuru şeker pancarı posası (KŞPP) katılmasının silaj kalitesi üzerine etkisini incelemek amacıyla yapıldı. Araştırmada ilk olarak süt olum ve hamur olum dönemindeki tritikale hasılına ham besin madde analizleri yapıldı. Daha sonra süt olum döneminde biçilen tritikale hasılına ağırlık olarak %0 (Kontrol=K), %5 ve %10 oranında KŞPP katılıp, 5 kg'lık plastik kovalarda üç ay süre ile inkübasyona bırakıldı. Ayrıca hamur olum döneminde de tritikale hasılı biçilerek (KŞPP katılmadan) silajı yapıldı ve silaj kalitesine bakıldı. Silaj gruplarının pH ve uçucu yağ asitleri (UYA) kovalar açılır açılmaz, diğer besin madde analizleri ise daha sonra yapıldı. HP düzeylerine kuru ve yaş numunelerde ayrı ayrı bakıldı. Silaja katılan KŞPP katıldığı miktarla orantılı olarak silajda KM düzeyini arttırdı ($P<0.01$) ve en yüksek KM ise hamur olum dönemi silajından elde edildi. En düşük HK düzeyi, hamur olum döneminde gerçekleşti ve gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu ($P<0.01$). ADF değerlerinde ise diğer gruplara kıyasla hamur olum dönemi grubunda önemli bir azalma olduğu gözlemlendi ($P<0.01$). Silajlarda en düşük pH (4.62) ve en yüksek laktik asit miktarı (131.73 g/kg KM)'nin K+%5 KŞPP grubunda elde edilirken en yüksek pH (5.59) ve en düşük laktik asit değerinin (29.51 g/kg KM) ise hamur olum dönemi grubunda ($P<0.01$) ölçüldü. Bütirik asit bakımından en yüksek miktarın K grubunda (9.99 g/kg KM), en düşük miktarın ise hamur olum dönemi grubunda (1.82 g/kg KM) gerçekleştiği ve gruplar arasındaki farkın önemli ($P<0.01$) olduğu belirlendi. Çalışmada en yüksek asetik asit değeri K grubunda 15.53 g/kg KM, elde edilirken en düşük ortalama değer ise hamur olum dönemi grubunda 6.59 g/kg KM olarak gerçekleşti ve gruplar arasındaki fark önemli bulundu ($P<0.01$). Propiyonik asitin en yüksek değeri ise (3.02 g/kg KM) hamur olum dönemi grubunda, en düşük değeri (1.18 g/kg KM) ise K+%10 KŞPP grubunda tespit edildi ve gruplar arasındaki farklılık $P<0.05$ düzeyinde önemli bulundu. Sonuç olarak bu çalışmada tritikale silajına %5 veya %10 düzeyinde KŞPP katılmasının silaj kalitesi bakımından olumlu bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı. Bu nedenle, uygun hasat döneminin saptanarak tritikale silajının yapımında özellikle sıkıştırma sorununun giderilmesi konusunda yeni çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kuru şeker pancarı posası, Silaj kalitesi, Tritikale

GİRİŞ

Bir buğday çavdar melezi olan tritikale; genel morfolojik, fizyolojik, adaptasyon özellikleri bakımından serin iklim tahılları içinde yer almakta ve buğdaygillerin genel özellikleri yanında birçok üstün özelliğe sahip olduğu bildirilmektedir. Bu özelliklerinden dolayı tritikalenin ülkemiz için alternatif bir yem bitkisi olduğu bildirilmektedir (Demir ve ark. 1981; Kün 1983; Ülger ve ark. 1987; Yağbasanlar ve Ülger 1989; Çölkesen ve ark. 1990; Tosun ve Sağsöz 1994; Dunkerken ve Bleumer 1998).

Şeker pancarı posası ise ruminantlar için yüksek enerji düzeyine sahip bir yem maddesidir (2.73 M.Kal/kg KM). Bunun nedeni, şeker pancarı posasında bulunan selülozun yüksek düzeyde sindirilmesi ve çok düşük düzeyde lignin içermesidir. Şeker pancarı posasında bulunan ham selülozun %22'si pektin, %22'si hemiselüloz %23'ü selüloz, %12'si ligninden oluşmaktadır. Selüloz ve hemiselülozun Rumen yıkılabilirliği de sırası ile %74 ve %72'dir (Deniz ve ark. 1999). Kuru şeker pancarı posasının %50-75 düzeyinde enerjice zengin dane yemlerin yerine kullanılabilmesi bildirilmektedir (Şahin ve ark. 1999). Bu özelliklerinden ve ucuz olmasından dolayı şeker pancarı posası ruminant rasyonlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Kuru şeker pancarı posası %10.45-13.39 su, %8-8.63 HP, %0.3-0.6 HY, %13.56-20 HS, %3.42-4 HK ve %56.44-59.39 azotsuz öz maddeler içermektedir (Akiltepe ve ark. 1964; Ergül 1988). Yüksek süt verimine sahip süt ineklerinin, fazla miktarda yoğun yem ile beslenmesi neticesinde, rumenlerinde meydana gelen asidik ortamın tamponlanması amacı ile de doğal bir tampon madde olarak KŞPP'nin kullanılabilmesi bildirilmektedir (Kaplan ve Deniz 2000). Böylece, bir yandan Rumen pH'sı uygun sınırlarda tutulurken, bir yandan da süt ineklerinin rumen fonksiyonlarının normal düzeylerde seyredebilmesi için ihtiyaç duyulan ham selüloz alınmış olmaktadır. Şeker pancarı posasında fiziksel yapı zayıf olduğundan, hayvanlarda ruminasyonla ilgili problemlerle karşılaşılabilir. Bu olumsuzluğun ortadan kaldırılması için posanın kaba yemlerle birlikte hayvanlara yedirilmesi önerilmektedir (Deniz ve ark. 1999). Ruminant beslenmesinde çok önemli bir yere sahip olan KŞPP, silajlara katılarak hem bu olumsuzluk önlenmiş olur hem de silajdaki laktik asit bakterilerinin aktiviteyi arttırılmış olur.

Bu çalışmada, tritikale hasılına farklı düzeylerde kurutulmuş şekerpancari posası katılmasının silaj kalitesine olan etkisine bakılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Denemede yem materyali olarak, YYÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri bölümü iş birliği ile üniversitenin kıraç arazisinde yetiştirilen tritikale hasılı kullanıldı. Hasıllar süt olum ve hamur olum olmak üzere iki farklı dönemde biçildi. Denemede kullanılan kuru şeker pancarı posası (KŞPP), Elazığ Şeker Fabrikasından temin edildi. Yaklaşık olarak 5 kg yaş yem materyali alabilen plastik kovalar ile analizler için gerekli kimyasal maddeler piyasadan satın alındı.

Metot

Silajın Hazırlanması

Süt ve hamur olum dönemlerinde kuru madde tespiti için doğrudan doğruya tritikale tarlasının değişik kesimlerinden yapılan biçimlerle örnek alındı.

Daha sonra yapılan ham besin madde analizlerinde, alınan bu örnekler kullanıldı. Süt ve hamur olum dönemlerinde bir silotrak yardımı ile biçilerek Veteriner Fakültesine getirilen tritikale hasıllarından ağırlık esasına göre (W/W) aşağıdaki karışımlar hazırlandı:

1. Süt olum döneminde tritikale hasılı + %0 KŞPP (Kontrol=K)
2. Süt olum döneminde tritikale hasılı + %5 KŞPP (K+5 KŞPP)
3. Süt olum döneminde tritikale hasılı + %10 KŞPP (K+%10 KŞPP)
4. Hamur olum döneminde katkısız tritikale hasılı

Silaja katılacak olan KŞPP daha önce 0-2 mm eleğe sahip değirmende öğütülerek hazırlandı. Yapılan ön denemelerde yaklaşık 5 kg kıyılmış silaj materyali alabileceği saptanan kovalar numaralandırılarak katılacak KŞPP miktarı hesaplandı.

Kuru madde açısından homojenliği sağlamak için, hazırlanan karışımların kovalara doldurulması, gruplarda dönüşümlü olarak gerçekleştirildi. Doldurma esnasında, ayak ile kova içindeki yeme basınç uygulanarak yemin sıkıştırılması sağlandı. Kovalar doldurulduktan sonra kapakların üzerine 30-35 kg ağırlığında kum torbaları bırakıldı. Silo kapaklarının hava almasını engellemek için, kapakların kenarları önce cam macunu, bunun üzerinden de bantla kapatılarak inkübasyona bırakıldı. Bu şekilde her grup için beş kova silaj yapıldı. Üç aylık inkübasyon süresinin sonunda kovalar açıldı. Öncelikle üst kısımda bulunan küflenmiş kısımlar alındı. Daha sonra numuneyi temsil edecek şekilde yaklaşık 1 kg'lık silaj materyali naylon poşetlere sıkıca bastırılarak dolduruldu ve analizleri yapılmak üzere derin dondurucuda saklandı.

Silajın Analizi

Ham besin madde analizleri: Ham besin madde analizleri (kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham kül (HK), asit deterjanlı fibre (ADF) ve nötral deterjanlı fibre (NDF)) Weende analiz sistemine göre (Akkılıç ve Sürmen 1979), ADF ve NDF düzeyi ise Van Soest'e (1967) göre tespit edildi.

pH'nın ölçülmesi: 25 g silaj örneği bir behere alınıp üzerine 100 cc su katılarak blenderde 5 dk homojenize edildikten sonra pH metre ile doğrudan ölçüldü (Polan ve ark. 1998).

Uçucu yağ asitlerinin ölçülmesi: pH'sı ölçülmüş olan filtrat, whatman 2 filtre kağıdı ile filtre edildi. Plastik tüplere alınan filtrat, 4000 devirde 15 dk süre ile santrifüje edildikten sonra 2.5 ml'lik iki ayrı tüpe alındı. Her bir tüpe 0.125 cc Formik Asit ve 0.375 cc %25'lik Metafosforik asit ilave edilerek ileride uçucu yağ asitlerini (UYA) ölçmek üzere derin dondurucuya bırakıldı. UYA analizleri yapılmadan önce tüpler oda sıcaklığında çözündürüldü ve tekrar 4200 devirde 15 dk süre ile santrifüje edildi. Tüplerin üst kısmından ölçümler için yeterli olabilecek kadar filtrat alınarak UYA ölçüldü. Ölçümler, Van YYÜ Merkezi laboratuvarında bulunan SHİMADZU marka Gaz kromatografi GC-14 B cihazı ile ölçüldü. Bu ölçümlerde 2 ml filtrat kullanıldı (Hart 1990).

Kromatografik şartlar: Kolon sıcaklığı: 210 °C. Enjeksiyon sıcaklığı: 250 °C Dedektör ısı: 250 °C. Gaz akış hızı: 200 ml/dk. Havada akış: 20 ml/1. Hidrojen 70.Range (Duyarlılık): 10². Yazıcı duyarlılığı (Atten): 1.Kağıt hızı: 3.

İstatistiksel analizler: Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde varyans analizi, gruplar arası farklılıkların değerlendirilmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı (Düzgüneş ve ark. 1983).

BULGULAR

Araştırmada kullanılan KŞPP, süt olum ve hamur dolum dönemlerinde biçilen tritikalenin ham besin madde düzeyleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. KŞPP, Süt olum ve Hamur Olum Dönemlerinde Biçilen Tritikale Hasılına Ham Besin Madde İçerikleri, %

Table 1. DSBP, the crude nutrient contents of triticale which were harvested at milk and dough stages, %

	Kuru Şeker Pancarı Posası	Süt Olum Dönemi	Hamur Olum Dönemi
KM*	91.95	35.43	45.92
HK**	4.81	6.97	5.43
HP**	10.08	10.91	10.10
HY**	1.17	3.22	3.76
ADF**	24.01	28.96	26.01
NDF**	53.05	57.03	56.26

*: Taze materyal üzerinden (Süt ve hamur olum dönemindeki tritikale hasılları için); **: Kuru madde esasına göre.

Grupların silaj öncesi ham besin madde kapsamı Tablo 2'de sunulmuştur. Silaj gruplarının ham besin madde kapsamı Tablo 3'te verilmiştir. Silaj gruplarına ait pH ve fermentasyon ürünlerine ilişkin değerler Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 2. Grupların Silaj Öncesi Ham Besin Madde İçerikleri, %

Table 2. Crude nutrient contents of groups before silage, %

	Kontrol (K)	K+%5 KŞPP	K+%10 KŞPP	Hamur Olum Dönemi
KM*	35.43	38.26	41.08	45.92
HK**	6.97	6.86	6.75	5.43
HP**	10.91	10.87	10.83	10.10
HY**	3.22	3.12	3.02	3.76
ADF**	28.96	28.71	28.47	26.01
NDF**	57.03	56.83	56.63	56.29

*: Taze materyal üzerinden; **: Kuru madde esasına göre

Tablo 3. Silaj Gruplarının Ham Besin Madde Kapsamı, %

Table 3. Crude nutrient contents of silage groups, %

	Kontrol (K)	K+%5 KŞPP	K+%10 KŞPP	Hamur Olum Dönemi	F
KM	36.68±0.788 ^c	40.87±1.196 ^{bc}	43.08±1.732 ^{ab}	46.98±0.296 ^a	13.075 ^{**}
HK ^y	8.48±0.316 ^a	7.41±0.309 ^a	7.57±0.309 ^a	5.73±0.312 ^b	17.008 ^{**}
HP ^y	10.17±0.234	10.64±0.102	10.7±0.248	10.37±0.154	1.633 ⁻
HY ^y	3.24±0.075	3.13±0.236	3.04±0.310	3.71±0.270	1.543 ⁻
HP ^z	4.55±0.132	4.69±0.125	4.75±0.090	4.77±0.114	0.735 ⁻
ADF ^y	32.38±0.423 ^a	32.29±0.756 ^a	31.58±0.654 ^a	27.06±0.272 ^b	20.857 ^{**}
NDF ^y	58.83±0.914	57.89±0.903	57.82±0.918	57.09±0.882	0.624 ⁻

** : P<0.01, - : P>0.05, n:5; a, b, c: Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur. y: Kuru madde üzerinden; z: Yaş silaj örneğinde

Tablo 4. Silaj Gruplarının pH Değerleri ve kuru maddede (KM) uçucu yağ asitleri içeriği, g/kg.

Table 4. pH value of the silage groups and volatile fatty acids contents (VFA) in dry matter (DM), g/kg

	Kontrol (K)	K+%5 KŞPP	K+%10 KŞPP	Hamur Olum Dönemi	F
PH	4.69±0.075 ^b	4.62±0.141 ^b	4.78±0.077 ^b	5.59±0.172 ^a	13.332 ^{**}
Laktik asit	129.00±8.251 ^a	131.73±20.719 ^a	73.25±15.470 ^{ab}	29.51±4.528 ^b	12.667 ^{**}
Asetik Asit	15.53±1.529 ^a	13.94±1.715 ^b	9.43±1.389 ^{bc}	6.59±0.870 ^c	8.464 ^{**}
Bütirik Asit	9.99±0.917 ^a	7.27±1.895 ^{ab}	3.29±0.774 ^{bc}	1.82±0.368 ^c	10.771 ^{**}
Propionik Asit	1.67±0.480 ^b	3.02±0.303 ^a	1.18±0.377 ^b	2.01±0.376 ^{ab}	3.984 [*]

*: P<0.05, **: P<0.01, n:5; a, b, c: Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler birbirinden farklı bulunmuştur.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Doğu Anadolu bölgesi ekolojik koşullarına uygun, fakat yeterince tanınmayan tritikaleye silajlık bir yem bitkisi olarak dikkat çekmek, yapılan silajda kuru şeker pancarı posasını katkı maddesi olarak verimli bir şekilde değerlendirmek ve böylece ülkemizde büyük ve küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde önemli ölçüde yetersizliği hissedilen kaliteli kaba yem açığının giderilmesine yardımcı olmak amacıyla yapılan bu çalışmada, silaj gruplarının ham besin maddeleri ve fermentasyon ürünleri incelendi.

Grupların silaj öncesi ve sonrası kuru madde düzeyleri Tablo 2 ve Tablo 3'te verilmiştir. Tablolar incelendiğinde bütün silaj gruplarında silaj öncesi ham silo materyaline göre kuru madde düzeyinde bir artış olduğu görülmektedir. Bu durumun taze örnek analizi ile silaj yapımı arasında geçen süredeki su ve fermentasyon kaybından kaynaklandığı düşünülmektedir. Vegetasyonun ilerlemesine bağlı olarak hamur olum döneminde KM düzeyinin süt olum dönemine göre yüksek bulunması diğer literatür bilgileriyle uyum halindedir (Shamma 1992; Moore ve Kenedy 1994; Ashbell 1997; İptaş ve Avcıoğlu 1997; Siefers ve Bolsen 1997; Muruz ve Baytok 1999; Yıldız ve Demirel 1999). Kuru madde bakımından, Kontrol ile K+

%10 KŞPP ve hamur olum dönemi grubu silajları arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$).

Silaj gruplarının HK düzeyleri Tablo 3'te verilmiştir. Silaja katılan kuru şeker pancarı posası, kontrol grubuna göre ham kül düzeyinde bir düşüşe neden olurken, bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ancak hamur olum dönemi silajında ham kül düzeyi diğer gruplardan daha düşük gerçekleşmiş ve bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Moore ve Kenedy (1994), çayır otu silajına %3,5 ve 7 oranında KŞPP katkısıyla yapılan silajlarda HK değerlerindeki değişikliğin önemli olmadığını bildirmişlerdir. Laboratuvar şartlarında yapılan başka bir çalışmada (O'kiely 1991) kontrol grubu silajının, KŞPP katkılı çayır silajına göre daha yüksek HK düzeyine sahip olduğu görülmüştür.

Çalışmada elde edilen ham protein değerleri Tablo 3'te sunulmuştur. Kontrol, K+ %5 KŞPP ve K+%10 KŞPP gruplarında silaj öncesi materyale göre ham protein düzeyinde rakamsal olarak bir azalma görülüyorsa da, silaj grupları arasında HP yönünden istatistiksel olarak bir farklılık saptanamamıştır. Silaj gruplarının ham protein düzeylerine yaş silaj materyalinde de bakılmıştır (Tablo 3). Bu değerler incelendiğinde, gruplar arasında istatistiksel bir farkın olmadığı görülmektedir. Bu değerler, Carnide ve ark. (1988) tarafından bildirilen değerler ile uyum göstermektedir.

Grupların ham yağ düzeyleri Tablo 3'te verilmiştir. Veriler incelendiğinde Kontrol grubuna göre gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı görülmektedir. Ayrıca grupların silaj öncesi ve silaj materyali karşılaştırıldığında, ham yağ düzeyinde önemli bir değişim olmadığı görülmektedir. Bu durum, Alçiçek ve Aşyalı (1997) tarafından bildirilen, fermentasyon ile hiçbir kayba uğramayan besin maddesinin ham yağ olduğuna ilişkin bildirişi ile uygunluk göstermektedir.

Çalışmada elde edilen ADF ve NDF değerleri Tablo 3'te sunulmuştur. Katılan KŞPP, ADF düzeyleri bakımından kontrole göre bir farklılık oluşturmamıştır. Ancak hamur olum dönemindeki ADF düzeyinin diğer silaj gruplarından düşük olduğu görülmüş ve bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Yine katılan KŞPP'nin silaj grupları arasında NDF değerleri bakımından istatistiksel bir farka neden olmadığı görülmektedir.

Silaj öncesi ve silaj materyalinin NDF değerleri karşılaştırıldığında, düşük düzeyde de olsa genel bir artışın olduğu görülmektedir. Bunun nedeni de silaj kuru maddesinde meydana gelen rölatif artış olabilir. Benzer bir durum D'urso ve ark. (1989) tarafından da bildirilmiştir.

Çalışmada elde edilen pH değerleri, Tablo 4'de sunulmuştur. Genel olarak bütün gruplarda pH düzeyleri klasik kaynaklarda (Kılıç 1986 ve Ergül 1988), bildirilen değerlerden daha yüksek gerçekleşmiştir. Kontrol ve KŞPP katılan silaj grupları arasında pH değerleri açısından bir farklılık bulunmamaktadır. Buna karşılık hamur olum dönemi grubundaki pH değeri diğer gruplardan yüksek bulunmuş ve oluşan farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Bu durumun bu gruptaki yüksek KM düzeyinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim çeşitli kaynaklarda (Kılıç 1986; Ergül 1988; D'urso ve ark. 1989; Siefers ve Bolsen 1997) yüksek KM düzeylerinde fermentasyonun olumsuz etkileneneği ve pH'nın ise yükselebileceği bildirilmektedir. Bu çalışmada da, K+%10 KŞPP ve hamur olum dönemindeki KM düzeyinin artışına ve fermentasyondaki gerilemeye bağlı olarak fermentasyon ürünleri miktarında bir azalma tespit edilmiştir.

Silajların laktik asit düzeylerine ait değerler Tablo 4'te verilmiştir. Tablo 4'ün incelenmesinde de görülebileceği gibi %10 KŞPP katkılı grup ve hamur olum dönemindeki grupta, kontrol ve %5 KŞPP katılan gruplara göre laktik asit üretimi bakımından rakamsal olarak önemli bir düşüş gözlenmektedir. Ancak gruplar arasındaki farklılık sadece hamur olum dönemi ile K ve K + %5 KŞPP grupları arasında önemli bulunmuştur ($P<0.01$). KM'nin yüksekliğine bağlı olarak laktik asit üretiminin azalmasına ilişkin bulgular, daha önce yapılan araştırma sonuçları ile benzerlik göstermektedir (D'urso ve ark. 1989; İptaş ve Avcıoğlu 1997). Düşük KM düzeylerine sahip silajlara katılan KŞPP'nin ise laktik asit düzeyini artırdığı farklı çalışmalarda bildirilmiştir (O'kiely 1991; Moore ve Kenedy 1994).

Silajların asetik asit düzeylerine ait değerler Tablo 4'te verilmiştir. Tablo'nun incelenmesinde KM düzeyinin artışına bağlı olarak asetik asit miktarında kontrole göre düzenli bir düşüş gözlenmiştir. Oluşan farklılık, hem kontrol ve diğer gruplar arasında, hem de hamur olum dönemi ile K ve K+%5 KŞPP grupları arasında önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Hamur olum dönemindeki asetik asit miktarının süt olum dönemine göre düşük olmasının KM düzeyinin artmasından kaynaklanabileceği Muruz ve Baytok; 1999 ile Yıldız ve Demirel;1999 tarafından bildirilmektedir.

Silajların bütirik asit değerlerine ilişkin veriler Tablo 4'te verilmiştir. Veriler incelendiğinde, en yüksek bütirik asit miktarı, deneme grupları içerisinde en düşük KM düzeyine sahip kontrol grubunda elde edilmiştir. Buna karşılık en düşük bütirik asit miktarı ise deneme grupları içerisinde en yüksek KM düzeyine sahip hamur olum dönemi grubundan elde edilmiştir. Gruplar arasındaki farklılık ise, K ile diğer bütün gruplar arasında önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Nitekim daha önce yapılan çalışmalarda da bütirik asit üreten klostridial bakterilerin yüksek düzeyde faaliyet gösterebilmesi için silaj KM düzeyinin %30-35'in altında bulunması gerektiği bildirilmektedir (Meyer ve ark. 1985). Ayrıca silaj gruplarında KM miktarının artışı ile ters orantılı olarak bütirik asit miktarındaki azalış, literatürlerce (O'kiely 1991; Moore ve Kenedy 1994; Muruz ve Baytok 1999; Yıldız ve Demirel 1999) de desteklenmektedir.

Silaj gruplarının propionik asit miktarları Tablo 4'te verilmiştir. Tablo 4'ten veriler incelendiğinde en yüksek propionik asit üretiminin K+%5KŞPP grubunda gerçekleştiği bu grup ile kontrol ve K+%10 KŞPP grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($P<0.05$). Farklı tritikale varyeteleriyle yapılan bir çalışmada KM'nin bu çalışmadan daha düşük olmasına bağlı olarak propionik asit değerleri daha yüksek bulunmuştur (Kaplan ve ark. 2014).

Sonuç olarak, tritikalenin bölgemiz ekolojik koşullarında verimli ve alternatif bir yeşil yem kaynağı olabileceği, bitki yapısının sert oluşundan ve bitki sapı içindeki boşluklarda oksijen kaldığından, aerop fermentasyonu engellemek ve sıkıştırmanın daha iyi temin edebilmesi için, bitkinin belirlenen standartlardan daha ince kıyılması gerektiği tespit edildi. Kullanılan tritikale hasılında yüksek olan kuru madde düzeyinden dolayı katılan KŞPP'nin fermentasyon açısından beklenen faydayı temin etmediği ve tritikale silajının yapımında çeşitli buğdaygillerde, "süt olum dönemi"nin farklılığı göz önünde bulundurularak, en uygun hasat döneminin saptanarak tritikale silajının yapımında özellikle sıkıştırma sorununun giderilmesi konusunda yeni çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Akıltepe H, Malkoç S, Molbay İ (1964).** Türkiye Şeker Sanayi ve Şeker Pancarı Ziraatı. Mars Matbaası. Ankara.
- Akkılıç M, Sürmen S (1979).** Yem Maddeleri ve Hayvan Besleme Laboratuvar Kitabı. AÜ Basımevi. Ankara.
- Alççek A, Asyalı N (1997).** Silo yemlerinde meydana gelen besin madde kayıpları ve düzeyini etkileyen faktörler. Türkiye Birinci Silaj Kongresi (16-19 Eylül 1997), Hasad Yayıncılık. İstanbul.
- Ashbell G (1997).** Whole wheat plants for silage in sub-tropical climate. Türkiye Birinci Silaj Kongresi (16-19 Eylül 1997). Hasad Yayıncılık. İstanbul.
- Carnide V, Mascarenhas-Ferraira A, Guedes Pinto H (1988).** A Comparative study of triticale lines as a foragecrop. Tag-Beer. Akad Landwirtsch-Wiss D.D.R. Berlin, 266, 591-604.
- Çölkesen M, Yağbasanlar T ve Genç İ (1990).** Çukurova ve Şanlıurfa koşullarında bazı tritikale hatlarının verim ve verim unsurları üzerinde bir araştırma. *ÇÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5 (2): 125-140.
- D'urso G, Lıctra G, Avonoo M, Sinatra MC (1989).** Effetidell'ammonica anidrasulle carateriche difermentazione e sulla digeribilita del triticale insilato in rotoballe. *Agr. Med.*, 119, 478-483.
- Demir İ, Aydem N, Korkut KZ (1981).** İleri tritikale hatlarının bazı agronomik özellikleri üzerinde araştırmalar. *EÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3, 227-239.
- Deniz S, Tuncer Ş, Demirel M ve ark. (1999).** Değişik şekillerde üretilen şeker pancarı posası silajının kuzu ve süt ineği rasyonlarında kullanıma olanakları, TÜBİTAK VHAG-1200 No'lu Proje Sonuç Raporu.
- Dunkerken G, Bleumer E (1998).** Triticale offers good prospects on drys ands soils. *Proktijkonderzoek Rundvee, Schapen en Paarden*. 11 (6):8-10.
- Düzgüneş O, Kesici T ve Gürbüz F (1983).** İstatistik Metodları I. AÜ Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 861. Ankara.
- Ergül M (1988).** Yemler Bilgisi ve Teknoloji. EÜ Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 487. İzmir.
- Hart SP (1990).** Effects of altering the grain content of sorghum silage on its nutritive value. *J. Anim. Sci.*, 68, 3832-3842.
- İptaş S, Avcıoğlu R (1997).** Mısır, sorgum, sudanotu ve sorgum sudanotu melezi bitkilerinde farklı hasat devrelerinin silo yemi niteliğine etkileri. Türkiye Birinci Silaj Kongresi (16-19 Eylül 1997). Hasad Yayıncılık. İstanbul.
- Kaplan O, Deniz S (2000).** Ruminant rasyonlarına katılan bazı tampon etkili maddelerin süt verimi ve kompozisyonu ile besin maddelerinin sindirilme dereceleri ve azot birikimi üzerine etkisi. Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, (Doktora Tezi). Van.
- Kaplan M, Kökten K, Akçura M (2014).** Determination of silage characteristics and nutritional values of some triticale genotypes. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*.1(2):102-107.
- Kılıç A (1986).** Silo Yemi (Öğretim, Öğrenim ve Uygulama Önerileri). Bilgehan Basımevi. İzmir.
- Kün E (1983).** Serin İklim Tahılları. AÜ Ziraat Fakültesi Yayınları. 875, Ders Kitabı 240, AÜ Basımevi. Ankara.
- Meyer H, Bronsch K, Leibedseder J (1985).** Suplamente zu vorlesungen und bengen in der tierer nahrung Hannover, Berlin, Wien.
- Moore CA, Kenedy SJ (1994).** The effect of sugar beet pulp-based silage additives on effluent production, fermentation, in-silo losses, silage in take and animal performance. *Grass and Forage Science*. 49, 54-64.
- Muruz H, Baytok E (1999).** Değişik vejetasyon dönemlerinde biçilen karışık çayır otlarına kimi katkı maddeleri katılmasının silaj kalitesi ile rumende ham besin maddelerinin yıkılması üzerine etkisi, Y.Y.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü (Doktora Tezi).Van.
- O'kiely P (1991).** A note on the influence of five absorbants on silage composition and effluent retention in small-scalesilos. *Irish Journal of Agricultural Research*, 30, 153-158.
- Polan CE, Stieve D, Garret JC (1998).** Protein preservation and ruminal degradation of ensiled forage treated with heat, formic acid, ammonia or microbial inoculant. *Journal of Dairy Science*. 81, 765-776.
- Shamma M (1992).** Comparative evulation of triticale and barley silage fermentation and its nutritional effect in sheep feeding. *J Fac Vet Üniv Tehran*, 49, No: 1-2.
- Siefers MK, Bolsen KK (1997).** Agronomic and silage quality traits of winter cereals. Türkiye Birinci Silaj Kongresi (16-19 Eylül 1997). Hasad Yayıncılık İstanbul.
- Şahin K, Çerçi İH, Güleş T, Şahin N, Kalander H, Çelik S (1999).** Farklı silaj katkı maddelerinin yaş şeker pancarı posası silajı kalitesine etkileri. *Tr J Vet and Anim Sci*, 23 (3): 285-292.
- Tosun M, Sağsöz S (1994).** Triticale'nin yem bitkisi olarak önemi ve değerlendirilmesi. *Ata Ü Zir Fak Derg*, 25 (4): 655-664.
- Ülger AC, Yağbasanlar T, Genç İ (1987).** Çukurova'da tritikale yetiştirme olanakları. *Çiftçi Dergisi, (Adana Ziraat Odası Yayını)*. 5, 14-15.
- Van Soest PJ (1967).** Development of a comperehensive system of feed analysis and its aplication to forages. *J Anim Sci*, 26: 119-128.
- Yağbasanlar T, Ülger AC (1989).** Triticale'nin besin değeri ve önemi. *ÇÜ Zir Fak Derg*, 4, (14): 121-128.
- Yıldız S, Demirel M. (1999).** Hamur olum döneminde biçilen arpa hasılına kimi katkı maddeleri katılmasının silaj kalitesi ve rumende ham besin maddelerin yıkılımı üzerine etkisi. YYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü. Zootekni Anabilim Dalı (Yüksek Lisans Tezi). Van.





Determination of *In Vitro* Digestion Values of Alfalfa Hay, Dried Tomato Pomace and their Combinations

Zehra SELÇUK Mustafa SALMAN Habip MURUZ

Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Samsun, Turkey

Received: 13.11.2018

Accepted: 20.03.2019

ABSTRACT

Tomato pomace, a by-product of the processing of tomato for paste, ketchup, juice, is made up of tomato skin, pulp and crushed seeds after the process. Evaluating of tomato pomace as an ingredient of a diet may occur a potential for ruminant nutrition. For this reason, the aim of this study was to determine *in vitro* true digestibility values of alfalfa hay and dried tomato pomace mixtures formed with different levels of them for ruminants. The mixtures were prepared as alfalfa hay (100%), dried tomato pomace (100%), alfalfa hay (25%) + dried tomato pomace (75%), alfalfa hay (50%) + dried tomato pomace (50%), alfalfa hay (75%) + dried tomato pomace (25%). The filter bags containing feed mixtures, buffer solutions and rumen fluid were prepared as described for Ankom Daisy^{II} *in vitro* fermentation system. After 48 h incubation, filter bags gently washed until they were completely clean. Thereafter, neutral detergent fiber procedure was performed. Whereas *in vitro* true organic matter and neutral detergent fiber digestibilities of alfalfa hay was the lowest, *in vitro* true organic matter and neutral detergent fiber digestibilities of dried tomato pomace was the highest in the study. There were increases in *in vitro* true organic matter and neutral detergent fiber digestibility values of the mixtures with the increasing levels of dried tomato pomace ($P<0.05$). The higher digestibility values of the mixtures formed by alfalfa hay and dried tomato pomace may be due to a positive interaction between alfalfa hay and dried tomato pomace.

Keywords: Alfalfa hay, Tomato pomace, *In vitro* true organic matter digestibility, *In vitro* NDF digestibility

ÖZ

Yonca Kuru Otu, Kurutulmuş Domates Posası ve Kombinasyonlarının *in vitro* Sindirim Değerlerinin Belirlenmesi

Domatesin salça, ketçap, meyve suyu üretimi aşamasının bir yan ürünü olan domates posası, domatesin kabuğu, meyve eti ve ezilmiş çekirdeğinden oluşur. Domates posasının diyetin bir bileşeni olarak değerlendirilmesi ruminant beslenme için potansiyel oluşturabilir. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı, ruminantlar için farklı düzeylerde oluşturulan yonca kuru otu ve kurutulmuş domates posası karışımlarının *in vitro* gerçek sindirilebilirlik değerlerini belirlemektir. Araştırmada karışımlar yonca kuru otu (%100), kurutulmuş domates posası (%100), yonca kuru otu (%25) + kurutulmuş domates posası (%75), yonca kuru otu (%50) + kurutulmuş domates posası (%50), yonca kuru otu (%75) + kurutulmuş domates posası (%25) olacak şekilde hazırlandı. Araştırmada yem karışımlarını içeren filtre torbalar, tampon çözeltiler ve rumen sıvısı Ankom Daisy^{II} *in vitro* fermentasyon sistemi için tanımlanan şekilde hazırlandı. 48 saat inkübasyon sonrasında, filtre torbalar tamamen temizleninceye kadar yıkandı ve nötral deterjan lif prosedürü uygulandı. Çalışmada yonca kuru otunun *in vitro* organik madde ve nötral deterjan lif sindirilebilirlikleri en düşük, kurutulmuş domates posasının *in vitro* organik madde ve nötral deterjan lif sindirilebilirlikleri en yüksek bulundu. Yonca kuru otunun artan düzeylerde kurutulmuş domates posasıyla oluşturulan karışımlarının *in vitro* gerçek organik madde ve nötral deterjan lif sindirilebilirlik değerlerinde artış saptandı ($P<0.05$). Yonca kuru otu ve kurutulmuş domates posası ile oluşturulan karışımların daha yüksek sindirilebilirlik değerleri, yonca kuru otu ve kurutulmuş domates posası arasındaki pozitif bir etkileşimden kaynaklanmış olabilir.

Anahtar Kelimeler: Yonca kuru otu, Domates posası, *In vitro* gerçek organik madde sindirilebilirliği, *In vitro* NDF sindirilebilirliği

INTRODUCTION

Shortage of inexpensive feed resources, shortage in the quantity and quality of feed resources consistent throughout the year often cause major constraints on the enhancement of animal production. It is known that

conventional forages used in diets meet nutrients and energy requirements of ruminants. However, rumen microbial population can utilize food processing by-products rich in structural fibre. Using food processing by-products in ruminant nutrition may be a practical alternative because of rumen ecosystem. In other words,

non-forage fiber sources such as tomato pomace, grape pomace, soybean hulls which are obtained during processing of a commodity for human nutrition can be used in ruminant diets to supplement conventional forages (Mirzaei-Aghsaghali and Maheri-Sis 2008).

Tomato pomace, a by-product of the processing of tomato for paste, ketchup, juice, is made up of tomato skin, pulp and crushed seeds after the process (Nobakht and Safamehr 2007). Tomato pomace contains many nutrients such as crude protein, fat and fiber that are important in nutrition of animal species (Selcuk et al. 2013). It is reported (Aghajanzadeh-Golshani et al. 2010; Rahbarpur et al. 2013) that tomato pomace is rich in crude protein (22.6-24.1%) and crude fiber (20.8-30.5%). Selcuk et al. (2013) state that tomato pomace contains 18.4, 10.51, 32.85 and 29.17% crude protein, ether extract, crude fiber and nitrogen free substance, respectively.

In vivo, *in situ* and *in vitro* methods are generally used to estimate the nutritive value of feedstuffs. *In vitro* digestibility experiments are less expensive and the results of them are produced more rapidly than those of *in vivo* studies. Preparing rumen conditions makes the estimation of *in vitro* digestibility of feeds possible. The technique is easily applicable and commonly used for the evaluations of conventional ruminant feeds. *In vitro* Daisy fermentation technique is a useful technique for feed evaluation, as it is capable of measuring digestibility. Evaluating of tomato pomace as an ingredient of a diet may occur a potential for ruminant nutrition. For this reason, the aim of this study was to determine *in vitro* true digestibility values as feed (IVTD_{FEED}), *in vitro* true organic matter digestibility in DM basis (IVTOMD_{DM}) and *in vitro* NDF digestibility in DM basis (IVNDFD_{DM}) of alfalfa hay and dried tomato pomace mixtures formed with different levels of them for ruminants.

MATERIALS and METHODS

Chemical analyses and *in vitro* digestibility of alfalfa hay, tomato pomace and their mixtures were conducted in the Ruminant Feed Evaluation Laboratory of Department of Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Faculty of Veterinary Medicine of Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey.

Feed material

Alfalfa hay (AH) and dried tomato pomace (DTP) used as feed material were ground approximately 2 cm length. The mixtures prepared from ground AH and DTP were presented in Table 1.

Table 1. Feed mixtures

Mixtures	Alfalfa hay %	Dried tomato pomace %
Alfalfa hay	100	0
Dried tomato pomace	0	100
25% Alfalfa hay + 75% Dried tomato pomace	25	75
50% Alfalfa hay + 50% Dried tomato pomace	50	50
75% Alfalfa hay + 25% Dried tomato pomace	75	25

Chemical analysis

Dry matter, ash, crude protein levels and NDF contents of AH, DTP and their mixtures were analyzed according to

AOAC (2006) methods and determined with the Ankom Fiber Analyzer, respectively.

Preparation of filter bags

The bags (F57) used in Ankom Daisy^{II} *in vitro* fermentation system were firstly rinsed in acetone for 3 min and they were allowed to dry and marked. After the bags were dried, at a mass of 0.5 g of AH, DTP and their mixtures passed through a 1 mm sieve were weighed into each filter bag (8 bags for AH, DTP and their each mixture) and then the bags were sealed by an impulse bag sealer. A bag without feed was also used for a blank.

Rumen content

Rumen content obtained from cows freshly slaughtered at a local slaughterhouse was collected into a prewarmed thermos (39 °C under a CO₂ atmosphere) and immediately transferred to the laboratory within 15 min, and then rumen content was filtered through four layers of cheese cloth. Anaerobic conditions were maintained throughout the preparation stages of rumen fluid and conduct of the experiment.

In vitro digestion method

The Ankom Daisy^{II} *in vitro* fermentation system was used for determination of IVTD_{FEED}, IVTOMD_{DM} and IVNDFD_{DM} of the mixtures. The procedure for *in vitro* fermentation system was conducted according to the operating instructions supplied by Ankom. Buffer solutions required *in vitro* fermentation system were prepared and poured into each digestion jar of incubator described by Ankom. Each digestion jar contained 1600 ml buffer solution. After the temperature of buffers was set 39 °C, 400 mL rumen fluid and prepared bags were added to each digestion jar. Each digestion jar was aerated with CO₂ gas immediately before activating incubator for 48 h. At the end of 48 h incubation time, the digestion jars were removed, the incubation medium inside of digestion jars was discharged and the bags were gently washed under running water until they were completely clean. Thereafter, the bags were placed in the Ankom Fiber Analyzer and NDF procedure was performed. The percentage of IVTD_{FEED}, IVTOMD_{DM} and IVNDFD_{DM} values of the mixtures were calculated with equations consisting of difference between the amounts of incubated and the residue after NDF procedure.

Statistic analysis

The data were summarized in the form of arithmetic means and standard errors. The statistical significance for each feed mixture used in the study was determined by one-way variance analysis. Tukey Posthoc test was used to determine statistical differences. Relationship between increasing levels of DTP in the mixtures and IVTOMD_{DM} was determined by regression analysis. SPSS (2012) package program was used for statistical analysis.

RESULTS

Nutrient composition and IVTD_{FEED}, IVTOMD_{DM}, IVNDFD_{DM} values of AH, DTP and their mixtures were presented in Table 2 and 3, respectively. Whereas IVTD_{FEED} value of AH was the lowest (57.00%), IVTD_{FEED} value of DTP was the highest (74.90%) in the study (Table 3). There was an increase in the same value of the mixtures combined with at least 25% DTP was higher (P<0.05) than that of AH. IVTOMD_{DM} values of the mixtures formed with at least 50% DTP were higher (P<0.05) than that of AH and AH75%+DTP25%. IVNDFD_{DM} value of the mixtures were

similar to that of DTP. A positive relationship ($R^2=0,6923$) between increasing levels of DTP in the mixtures and $IVTOMD_{DM}$ was presented in Figure 1.

Table 2. Nutrient composition of alfalfa hay (AH), dried tomato pomace (DTP) and their mixtures.

Mixtures	DM%	Ash%	CP%	NDF%
AH	93.20	10.10	16.50	49.70
DTP	92.30	4.50	19.50	57.20
AH25%+DTP75%	92.40	5.9	18.60	55.20
AH50%+DTP50%	92.60	7.4	17.90	53.50
AH75%+DTP25%	92.80	10.80	17.30	51.60

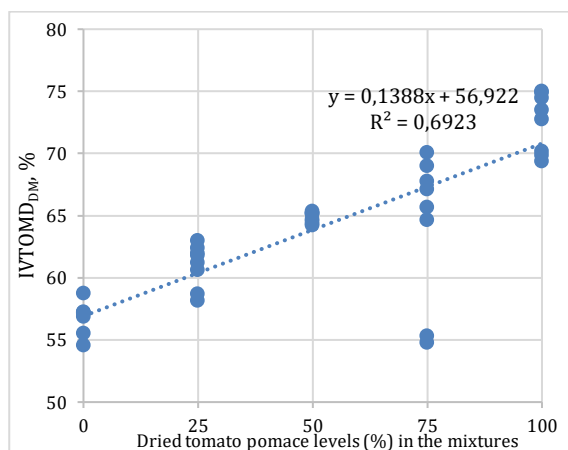


Figure 1. Regression between increasing levels of dried tomato pomace in the mixtures and *in vitro* true organic matter digestibility ($IVTOMD_{DM}$)

Table 3. $IVTD_{FEED}$, $IVTOMD_{DM}$ and $IVNDFD_{DM}$ values of alfalfa hay (AH), dried tomato pomace (DTP) and their mixtures

Mixtures	$IVTD_{FEED}\%$ $\bar{x} \pm Sx$	$IVTOMD_{DM}\%$ $\bar{x} \pm Sx$	$IVNDFD_{DM}\%$ $\bar{x} \pm Sx$
AH	57.00 \pm 0.42 ^d	56.80 \pm 0.44 ^c	18.10 \pm 0.37 ^b
DTP	74.90 \pm 0.39 ^a	72.50 \pm 0.83 ^a	27.10 \pm 0.36 ^a
AH75%+DTP25%	61.60 \pm 0.55 ^c	61.00 \pm 0.61 ^{bc}	24.50 \pm 0.51 ^a
AH50%+DTP50%	65.90 \pm 0.20 ^b	64.80 \pm 0.15 ^b	27.90 \pm 0.13 ^a
AH25%+DTP75%	66.10 \pm 1.84 ^b	64.30 \pm 2.10 ^b	26.70 \pm 2.22 ^a

Means in the same column having different superscripts differ significantly ($P<0,05$); $IVTD_{FEED}$: *in vitro* true digestibility values as feed, $IVTOMD_{DM}$: *in vitro* true organic matter digestibility in DM basis, $IVNDFD_{DM}$: *in vitro* NDF digestibility in DM basis

DISCUSSION

The feeding value of feeds are associated with both their nutrients composition and their digestibility. The digestibility of feed mixtures may differ from their individual digestibility (Niderkorn and Baumont 2009). However, feed supply and quality are one of the fundamental problems in ruminant nutrition. Therefore, there are many researches (Aghajanzadeh-Golshani et al. 2010; Abdollahzadeh and Abdulkarimi 2012; Tuoxunjiang et al. 2017) on alternative feed sources and the use of food industry by-products in ruminant feeding.

Aghajanzadeh-Golshani et al. (2010) and Omer and Abdel-Magid (2015) reported that dry matter contents of DTP were 92.00 and 91.01%, respectively. In this study, dry

matter content of DTP is similar to those of Aghajanzadeh-Golshani et al. (2010) and Omer and Abdel-Magid (2015).

Silva et al. (2016) stated that crude protein contents of tomato pomace containing six different rates of skin and seed were between 16.81 and 23.25%. Aghajanzadeh-Golshani et al. (2010) reported that crude protein value of tomato pomace was 22.17%. Savrunlu and Denek (2016) mentioned that crude protein level was 14.98%. In the present study, DTP crude protein level was higher than that of AH. Therefore, crude protein value was increased in the mixtures formed AH combined with increasing level of DTP.

Omer and Abdel-Magid (2015) and Gebeyew et al. (2015) stated that NDF contents of DTP were 65.24 and 48.9%, respectively. In this study, the result for NDF value of DTP was lower than Omer and Abdel-Magid (2015), higher than that of Gebeyew et al. (2015) and similar to that of Savrunlu and Denek (2016) who reported that NDF content of tomato pomace was 55.23%.

Dry matter, organic matter or NDF digestibility are the methods by which determining nutritive value of forages or alternative feed sources. Tahseen et al. (2014) reported that potential dry matter degradability of the mixture tomato and cucumber greenhouse residues were 72%. Chumpawadee (2009) stated that potential dry matter and organic matter degradabilities of tomato pomace 63.5% and 61.6%, respectively. The organic matter digestibility value of tomato pomace estimated by using *in vitro* gas production technique was 62% in a study conducted by Mirzaei-Aghsaghali et al. (2011). In the present study, $IVTOMD_{DM}$ value of DTP was the highest (72.50%) whereas $IVTOMD_{DM}$ value of AH the lowest (56.80%). Denek and Deniz (2004) reported that crude protein content and *in vitro* organic matter digestibility value of alfalfa hay were 15.19 and 57.93%, respectively. Deniz et al. (2000) and Nantoume et al. (2001) stated that *in vivo* organic matter digestibility of alfalfa hay was 58.56% and 59.20%, respectively. The result of the present study for *in vitro* true organic matter digestibility of alfalfa hay was compatible with those of Denek and Deniz (2004), Deniz et al. (2000) and Nantoume et al. (2001). Omer and Abdel-Magid (2015) reported that OM digestibility of TMR increased when DTP included to TMR at the percentage of 10 or 15. It has been also revealed that incorporation DTP up to 15% may be useful in feeding lambs and dried tomato waste could be used as a substitute for good quality roughages, preferably in dried form in ration of lambs. Abdollahzadeh and Abdulkarimi (2012) mentioned that *in vivo* DM and OM digestibilities of alfalfa hay plus concentrate mixture with two levels of mixed tomato and apple pomace silage (15 and 30%) were better than that of alfalfa hay plus concentrate mixture without mixed tomato and apple pomace silage in dairy cows. In our study, $IVTOMD_{DM}$ value increased in the mixtures formed AH combined with increasing level of DTP. Namely, increasing level of DTP in the mixtures was result in improvement of $IVOMD_{DM}$ value of the mixtures. This result is consistent with that of Abdollahzadeh and Abdulkarimi (2012).

Keklikci and Selçuk (2018) reported that the average $IVNDFD_{DM}$ value of DTP for ruminants was 23.60%. In the current study, the same parameter was found higher than that of Keklikci and Selçuk (2018). Tuoxunjiang et al. (2017) stated that NDF digestibility of the diet 10% corn silage replaced by tomato pomace silage was not significantly affected by the amount of tomato pomace in the diet but this parameter tended to be higher than that of control diet without tomato pomace silage. In the present

study, IVNDF_{DM} values of DTP and the mixtures was similar to each other and higher ($P<0.05$) than that of AH. The higher digestibility values of the mixtures may be caused by interaction between DTP and AH.

Finally, it may be concluded that DTP could be incorporated at least 25% in alfalfa hay due to a positive relationship between increasing levels of DTP in the mixtures and IVTOMD_{DM}. However, further researches are needed to determine the effects of DTP inclusions in ruminant diets on *in vivo* digestion, ruminal fermentation and performance of ruminants.

REFERENCES

- Abdollahzadeh F, Abdulkarimi R (2012)**. The effects of some agricultural by-products on ruminal fermentation and apparent digestibility of Holstein dairy cow. *Life Sci J*, 9 (4), 81-85.
- Aghajanzadeh-Golshani A, Maheri-Sis N, Mirzaei-Aghsaghali A, Baradaran-Hasanzadeh A (2010)**. Comparison of nutritional value of tomato pomace and brewer's grain for ruminants using *in vitro* gas production technique. *Asian J Anim Vet Adv*, 5 (1), 43-51
- AOAC (2006)**. Official Methods of Analysis, 18th Ed., Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA.
- Chumpawadee S (2009)**. Degradation characteristic of tomato pomace, soybean hull and peanut pod in the rumen using nylon bag technique. *Pak J Nutr*, 8 (11), 1717-1721.
- Denek N, Deniz S (2004)**. Ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan kimi kaba yemlerin sindirilebilirlik ve metabolik enerji düzeylerinin *in vitro* metotlarla belirlenmesi. *Turk J Vet Anim Sci*, 28, 115-122
- Deniz S, Denek N, Karşlı MA, Yumak H, Nursoy H (2000)**. Farklı batözlerle öğütmenin kaba yemlerin besin madde içeriği ile yem tüketimi ve sindirilme derecesine etkisi. *YYU Vet Fak Derg*, 11, 82-86.
- Gebeyew K, Anmut G, Urge M, Feyera T (2015)**. The effect of feeding dried tomato pomace and concentrate on nutritional and growth parameters of Hararghe Highland sheep, Eastern Ethiopia. *J Adv Dairy Res*, 3, 130.
- Keklikci A, Selçuk Z (2018)**. Domates posasının ruminantlar için sindirilebilirliğinin belirlenmesi. *Vet Hekim Der Derg*, 89 (2), 58-65.
- Mirzaei-Aghsaghali A, Maheri-Sis N (2008)**. Nutritive value of some agroindustrial by-product for ruminants-a review. *World J Zool* 3, 40-46.
- Mirzaei-Aghsaghali A, Maheri-Sis N, Mansouri H, Razeghi ME, Safaei AR, Aghajanzadeh-Golshani A, Alipoor K (2011)**. Estimation of the nutritive value of tomato pomace for ruminant using *in vitro* gas production technique. *Afr J Biotechnol*, 10 (33), 6251-6256.
- Nantoume H, Forbes TDA, Hensarling CM, Sieckenius SS (2001)**. Nutritive value and palability of guajillo (*Acacia berlandieri*) as a component of goat diets. *Small Rum Res*, 40 (2), 139-148.
- Niderkorn V, Baumont R (2009)**. Associative effects between forages on feed intake and digestion in ruminants. *Animal*, 3, 951-960.
- Nobakht A, Safamehr AR (2007)**. The effects of inclusion different levels of dried tomato pomace in laying hens diets on performance and plasma and egg yolk cholesterol contents. *J Anim Vet Adv*, 6, 1101-1106.
- Omer HAA, Abdel-Magid SS (2015)**. Incorporation of Dried Tomato Pomace in Growing Sheep Rations. *Glob Vet*, 14 (1), 1-16.
- Rahbarpur A, Taghizadeh A, Mehmannaavaz Y (2013)**. Determination of nutritive value of tomato pomace using *in vitro* gas production technique. *Online J Anim Feed Res*, 3, 20-22.
- Savrunlu M, Denek N (2016)**. Farklı Seviyelerde Yaş Domates Posası İlavesi ile Hazırlanan Mısır Silajının Kalitesinin Araştırılması. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 5 (1), 5-11.
- Selcuk M, Selcuk Z, Kahraman Z, Ciftci G, Akal E (2013)**. Effects of dried tomato pulp used as a feed ingredient in breeder roosters' diets on blood and semen antioxidant status and on some sperm parameters. *Revue Méd Vét*, 164 (8-9): 435-442.
- Silva YPA, Borba BC, Reis MG, Caliari M, Ferreira TAPC (2016)**. Tomato industrial waste as potential source of nutrients. *International Technical Symposium Food: The Tree That Sustains Life*, 51, 2108-3111.
- SPSS (2012)**. IBM SPSS statistics for Windows, version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Tahseen O, Abdallah J, Omar JA (2014)**. *In situ* degradability of dry matter, crude protein, acid and neutral detergent fiber of olive cake and greenhouse wastes of tomato and cucumber. *Revue Méd Vét*, 165 (3-4), 93-98.
- Tuoxunjiang H, Xiaoqin LI, Yimamu, A (2017)**. Mechanism reserach of fermented tomato pomace and its effect on oxidation resistance of transition dairy cows. *Asian J Agric Res*, 9 (8), 88-94.



Treatment of Coxofemoral Luxation and Type-1 Salter Harris Femur Fracture in a Cat by Toggle Pin and Cross Pin Methods

Muhammed Enes ALTUĞ Ziya YURTAL Mehmet Zeki Yılmaz DEVECİ
Cafer Tayer İŞLER Halil ALAKUŞ

Hatay Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, Hatay, Turkey

Received: 12.07.2018

Accepted: 16.12.2018

ABSTRACT

This case was 5 month of age, 1 kg in weight and a hybrid male cat. In radiographic examination, coxofemoral luxation and right Type-1 Salter Harris femur fracture were diagnosed. It was performed by methods of Toggle pin in hip luxation and cross pin in Type-1 Salter Harris femur fracture respectively. A toggle pin was inserted into the pelvic cavity through the acetabular tunnel formed first. Then the femoral tunnel was created and the ends of 0.5 mm diameter monofilament nylon cord that connected to the Toggle pin were passed through this tunnel and the joint motion was controlled by placing the caput femoris into the acetabulum. Finally, the ends of the rope were fixed by knotting the caudolateral angle of the trochanter. Type-1 Salter Harris femoral fracture was reached with a craniolateral approach to the knee joint. The distal part of the femur was exposed in order to perform cross pinning and the medial and lateral condyles were fixed by pins 2-3.2 mm in diameter. After the surgery, the hindlimb was supported with aluminium splint bandage and the hip was covered with soft bandage. Routine postoperative medications carried out for one week and the splint bandage removed after three weeks postoperatively. The patient could able to walk on second day postoperatively and it was full weight bearing after bandage removal at 3rd week. Also on 3rd week radiographs, fracture callus formation were evaluated as adequate and hip stabilisation was excellent. Any postoperative complication was not observed.

Keywords: Cat, Coxofemoral luxation, Toggle pin, Salter Harris

ÖZ

Bir Kedide Koksofemoral Luksasyon ve Tip-1 Salter Harris Femur Kırığının Toggle Pin ve Cross Pin Yöntemleriyle Sağaltımı

Vakayı 5 aylık, 1 kg ağırlığında, melez erkek bir kedi oluşturdu. Radyografide sağ koksofemoral çıkık ve sağ Salter Harris Tip-1 femur kırığı belirlendi. Kalça çıkığında Toggle pin ve Tip-1 Salter Harris femur kırığında çapraz pin yöntemleri ile fiksasyon uygulandı. Öncelikle oluşturulan asetabular tünelden pelvis boşluğuna Toggle pin yerleştirildi. Takiben femoral tünel oluşturularak Toggle pine bağlı 0.5 mm çaplı monofilament naylon ipin uçları bu tünelden geçirildi ve caput femoris asetabulumuna yerleştirilerek eklem hareketi kontrol edildi. Son olarak ipin uçları trohanter mayörün kaudolateral açısında düğümlenerek sabitlendi. Tip-1 Salter Harris femur kırığında kranio lateral yaklaşım ile diz eklemine ulaşıldı. Femurun distal bölümü açığa çıkarılarak 2-3.2 mm çaplı pinler ile mediyal ve lateral kondüllerden femura çapraz çivileme ile fiksasyon yapıldı. Ameliyat sonrasında arka bacak alüminyum atelli bandaj ile desteklendi ve kalça bölgesi yumuşak bandaj ile korundu. Rutin postoperatif ilaç uygulamaları bir hafta süreyle yapıldı ve destekli bandaj 3 hafta sonra çıkarıldı. Hastanın ameliyattan sonraki ikinci günde yürüyebildiği ve 3 hafta sonra bandaj uzaklaştırıldığında tam ağırlık vererek basabildiği gözlemlendi. Aynı zamanda 3 hafta sonraki radyografilerde kırık kallus oluşumunun yeterli düzeyde ve kalça eklemi stabilizasyonunun çok iyi olduğu değerlendirildi. Postoperatif herhangi bir komplikasyona rastlanmadı.

Anahtar Kelimeler: Kedi, Koksofemoral luksasyon, Toggle pin, Salter Harris

INTRODUCTION

Hip luxations occurs due to tear of ligamentum ossis capitis femoris that inserting to fovea capitis. Although it is most common treatment method, relaxation may occur in

%50-70 of cases that treated with closed reduction (Trostel et al. 2000). Various methods have been described for open reduction as intraarticular and extraarticular (Lubbe and Verstraete 1990; Trostel et al. 2000; Martini et al. 2001; Demko et al. 2006; Çetinkaya and Olcay 2011;

Tamburro et al. 2013; Ergin et al. 2016). Toggle pin method has been described in 1953 by Knowles as an intraarticular technique (Piermattei et al. 2006) and it's positive results have been reported (Çetinkaya and Olcay 2011; Tamburro et al. 2013; Ergin et al. 2016).

Salter-Harris fractures includes epiphyseal region of bone and it's described five type of Salter-Harris fracture. Most common type of Salter-Harris fracture is Type-1 in cats (Kaya and Candaş, 2000). It is used Steinmann pins, intramedullary pin, cross pin, double pins intersecting at one point and Rush pin-like application methods for treatment of Type-1 Salter-Harris fractures (Çağatay and Sağlam, 2013). It was evaluated treatment with cross pin and toggle pin methods performed to a cat that femur fractured and hip luxated in the same hindlimb in this case report.

CASE HISTORY

In the present case; a five months aged, one kg in weight, mixed breed male cat that has it's right hindlimb dysfunctional for a day, because of falling from highrise, was evaluated for diagnosis and treatment. Lameness, anormal mobility and crepitation of femoral and hip regions were determined in clinical examination. Radiographs revealed a Type-1 Salter-Harris supracondylary femur fracture and craniodorsal luxation of right coxofemoral joint (Figure 1 a,b). It was planned toggle pin and cross pin methods for treatment of hip luxation and femure fracture respectively.



Figure 1. a) Preoperative VD radiograph, b) Preoperative ML radiograph

General anesthesia was provided with combination of xylazine HCl (Alfazyne®, Egevet 20 mg/ml) 2 mg/kg IM and ketamine HCl (Alfamine®, Egevet 100 mg/ml) 10 mg/kg IM. It was used craniolateral approach in order to expose coxofemoral joint. Remains of torn ligamentum capitis ossis femoris were removed. Then the acetabular tunnel created from the point that ligamentum teres originated into pelvic cavity with a drill 3.5 mm in diameter. From this hole; a 1 cm in length toggle pin that made of 0.5 mm diameter Kirschner wire according to Modified Knowles technique (Piermattei ve ark. 2006) was placed into the pelvic cavity with 0.5 mm diameter monofilament nylon rope (Oskar KYOTO DIL®, max. resistance ~31kg) (Figure 2 a,b). Placement of toggle pin is checked by pulling the double parts of rope together. Then, the caput femoris externally rotated and femoral tunnel was created with a 2 mm diameter drill by retrograde orientation from fovea capitis to caudolateral of trochanter major. After inserting of the ropes retrogradely to this tunnel, joint reduction was made. Then the rope was tightened by pulling and the joint was stabilised as tight as to able to do normal joint movements. Finally; a 1 mm diameter hole was opened to the trochanter major transversally and the toggle pin application was completed with fixation of reciprocating inserted of the ropes.

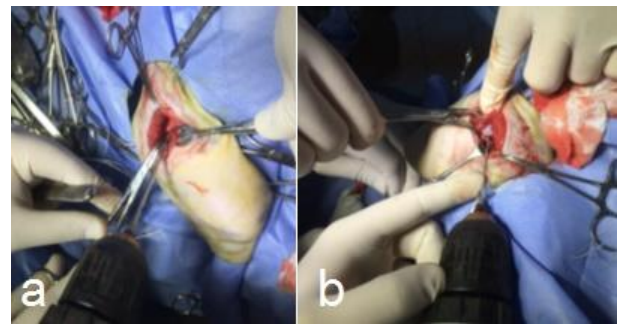


Figure 2. a) Acetabular tunnel application, b) Femoral tunnel application

A craniolateral approach was used in order to expose the knee joint and distal part of femur and reduction has been established. Fixation achieved by performing a 3.2 mm diameter pin from lateral epicondylus to medial cortex of distal femur and a 2 mm diameter pin from medial epicondyle to lateral cortex (Figure 3 a,b).

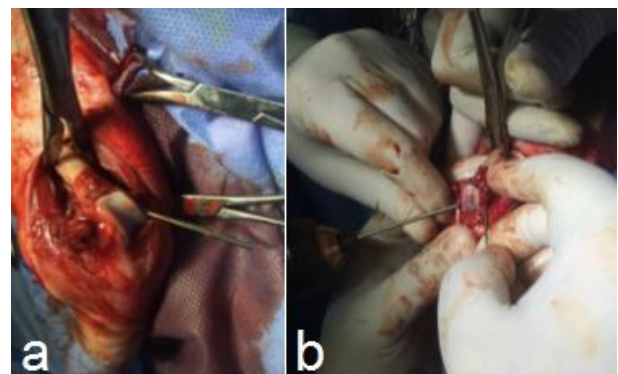


Figure 3. a,b) Cross pin application



Figure 4. a) Postoperative VD radiograph, b) Postoperative ML radiograph

Postoperative control radiography was performed (Figure 4 a,b). The distal femur fracture fixation supported with aluminium splint bandage and the hip was covered with soft bandage. Cefazolin sodium (Sefazol®, Mustafa Nevzat, Turkey) 22 mg/kg/12 hour IM postoperatively for seven days and Tolfenamic acide tablets (Tolfedine®, Novakim, Turkey) 4 mg/kg/day for five days orally. The bandage removed after three weeks postoperatively and 3rd week radiographs were taken. Fracture healing and callus formation were evaluated as adequate. Hip stabilisation was also excellent (Figure 5 a,b). The patient could able to walk on second day postoperatively and it was full weight bearing after bandage removal at 3rd week. There was no complication in early and long term period.

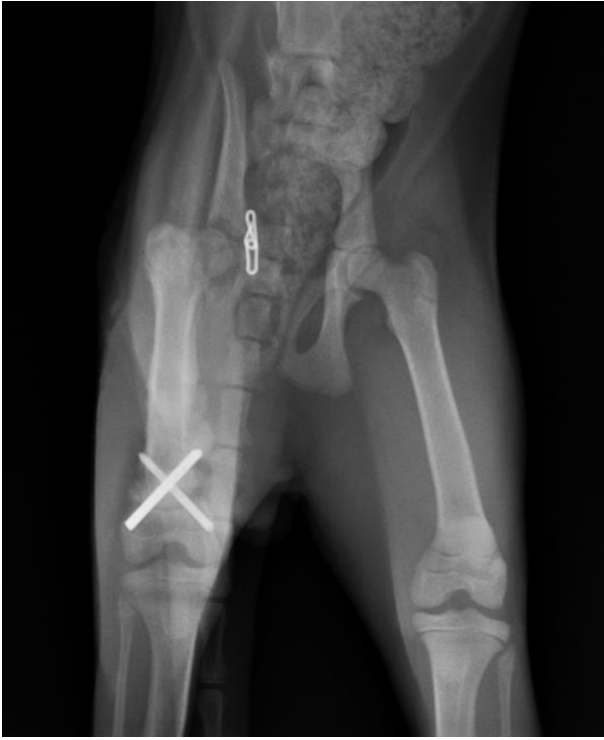


Figure 5a. Postoperative 3rd week VD radiograph

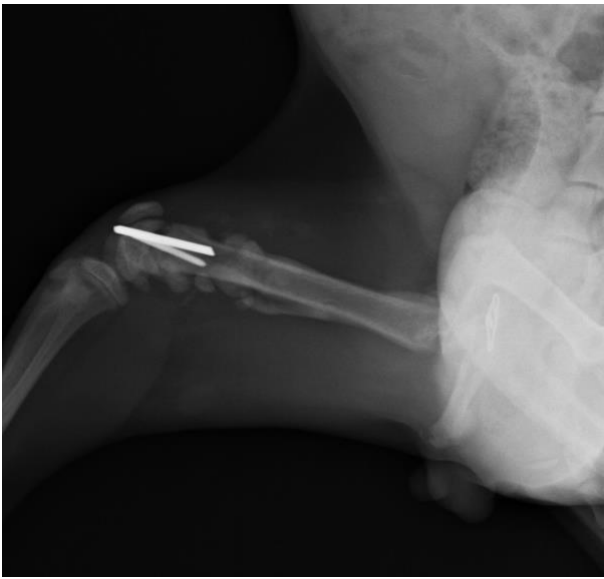


Figure 5b. Postoperative 3rd week ML radiograph

DISCUSSION and CONCLUSION

Hip luxation is one of the most common traumatic luxation type in small animal practice and mostly occurs craniodorsally (Çetinkaya and Olcay 2011). In the present case, the coxofemoral luxation was occurred craniodorsally too. Additionally, a concurrent Type-1 Salter-Harris femur fracture was determined on the same hindlimb. Choosing the appropriate method is important for the prognosis as the supracondylar femur fractures do not prevent the

continuation of the growth period (Çağatay and Sağlam 2013). In a study of force endurance measurements, it was determined that the most resistant method was cross pin in other methods that used in Type-1 Salter-Harris fractures (Sukhiani et al. 1997). Also in the present case, successful treatment was achieved with complete reduction and stabilization when the cross pin method was preferred. It was confirmed by observing of adequate callus formation at fracture site and the hip joint not relaxed radiographs on postoperative 3rd week.

It has been reported, the most common complication is relaxation due to breakdown of used material in the toggle pin technique and it occurs mostly 2nd-8th weeks (Demko et al. 2006; Çetinkaya and Olcay 2011). Similar studies have reported that if there is no any concurrent orthopaedic or general problem, the patient starts to full weight bearing at second day postoperatively (Çetinkaya and Olcay 2011; Tamburro et al. 2013; Ergin et al. 2016). However, the full weight bearing may be prolonged if there is any orthopaedic or general disease (Ergin et al. 2016). In the present case, there was no complication in postoperative period and the patient was walking with full weight bearing after bandage removal immediately. Also, it was seen no complication at 5th month check up.

In conclusion, cross pin and toggle pin methods were found to be a cheap and practical method combination for clinician veterinarians in cases of concurrent femur fracture and hip luxation in the same hindlimb.

REFERENCES

- Çağatay S, Sağlam M (2013). Clinical and radiographical assessments of treatment of Salter-Harris type fractures in cat and dog. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 60:109-116.
- Çetinkaya MA, Olcay B (2011). Köpek ve kedilerde koksofemoral eklem luksasyonlarının sağaltımında monofilament naylon dikiş materyali ile toggle pin uygulamaları ve klinik değerlendirmeleri üzerine çalışmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 58:167-174.
- Demko JL, Sidaway BK, Thieman KM, Fox DB (2006). Toggle rod stabilization for treatment of hip joint luxation in dogs: 62 cases (2000-2005). *J Am Vet Med Assoc*, 229:984-989.
- Ergin I, Senel OO, Ozdemir O, Ulsan S, Bilgili H (2016). Treatment of Coxofemoral Luxations by Double-sided Modified Toggle Pin Technique and Assessment of Early Results in Cats: 17 Cases. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 63(2): 121-126.
- Kaya Ü, Candaş A (2000). Operative management of medial condylar fracture of femur (Salter-Harris Type III) in two dogs. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 47:237-241.
- Lubbe AM, Verstraete FJM (1990). Fascia lata loop stabilization of the coxofemoral joint in the dog and cat. *J Small Anim Pract*, 31:234-238.
- Martini FM, Simonazzi B, Del Bue M (2001). Extra-articular absorbable suture stabilization of coxofemoral luxation in dogs. *Vet Surg*, 30:468-475.
- Piermattei DL, Flo GL, DeCamp CE (2006). The Hip Joint. In: (Editors: Piermattei DL, Flo GL, DeCamp CE) *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co. pp 461-511.
- Sukhiani HR, Holmberg DL (1997). Ex vivo biomechanical comparison of pin fixation techniques for canine distal femoral physeal fractures. *Vet Surg*, 26:398-407.
- Tamburro R, Carli F, Cinti F, Puggioni A, Venturini A (2013). Caudal approach and Mini TightRope system (mTR) application for the treatment of craniodorsal hip luxation in a cat: a case report. *Vet Med-Czech*, 58(9):500-504.
- Trostel CT, Peck JN, De Haan JJ (2000). Spontaneous bilateral coxofemoral luxation in four dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 36:268-276.





VAN VETERINARY JOURNAL



Article Copyright Transfer Agreement Form

We, the undersigned researchers, certify that; the article we have sent; is original, wasn't sent to or disapproved of potential publication by any other journal, wasn't initially published, and we bear the responsibility concerning the Scientific content and Ethical values related to the article, and transfer any kind and form of copyright related to the Article to Van Veterinary Journal since it is published in the journal, and accept that we will not make any changes wholly or partly in the article and chose as the authorized researcher.

Title of the article:

.....
.....
.....

Authors Name	Date	Signature
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		
8.		

Authorized Researcher

Title, Name-Surname :

Full Address :

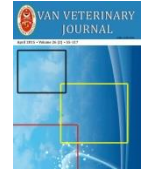
e- mail :

Tel, Fax :

Date and Signature :



VAN VETERINARY JOURNAL



Instructions for Authors

- 1- This journal is the publication of the Van Veterinary Journal and published three times a year. Abbreviated title of the journal is Van Vet J.
- 2- Original articles, observations reviews, pre-reports, scientific news, introduction of scientific books, news about the faculty, letters to editor written in Turkish and English especially in the field of Veterinary Science, Health and Life science subjects (Comprehend human and animal health) are published in this journal.
- 3- Papers are accepted for publications on the understanding that they have not been published and are not going to be considered for publication elsewhere. All responsibilities from published articles merely belong to the authors and copyright fee for authors is not paid. The article sent to the journal for publication will not be send back to authors even if it is not accepted for publication.
- 4- Papers send to the journal for publication written in Turkish or in English should contain abbreviation in the context of the International Writing Procedure and measurements should be expressed in the metric system or in SI units.
- 5- Papers should be submitted electronically via <http://vanvetderg.org> Submissions send to post are not accepted.
- 6- Papers submitted for publication should be written in Times New Roman style, 12 font size, 1.5 line spacing and 2.5 cm from all edges. Including tables, figures and graphs; original papers and reviews should not exceed 15 pages and case reports should not exceed 5 pages.
- 7- Papers written in Turkish should include English summary and papers written in English should include Turkish summary. Summaries should not exceed 1000 words. Summary should include **Aim, Material and Method, Results and Conclusion**.
- 8- In the studies requiring Ethical Commission Approval; related documents should be sending via electronic submission which is present in our submission system.
- 9- Digital images (pictures, figures etc.) should be sending as TIFF or JPEG files format at a minimum resolution of 300 dpi. Digital images should not be replaced inside the main text. Of prints of the journal will be in black and white. But the images will be given in coloured in the electronic version of the journal.
- 10- **Copyright Transfer Agreement Form** which automatically sends to the authors by the submission system after acceptance of the Paper should be signed and posted to the Editorial Office of the journal.
- 11- Apart from tables and graphs all visual elements (Photographs, drawings, diagrams etc.) should be named as **figure**. Tables and graphs are named as it is.
- 12- Definitions and names of the figures, tables and graphs should be given both in **Turkish and English** in the text.
- 13- Original research articles should be lined up as; **English Heading, Author(s) name, author(s) address, Summary and key words** and then **Turkish heading, summary and key words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusion, Acknowledgement or information** (if there is) and **References**.
- 14- References should be listed according to authors surname alphabetically. In the text; references should be written as surname of the author and the publication year (exp: Ceylan 2004; Ekin and Gurturk 2006; Isleyici et al. 2015). In the references section; short names of the journals should be written in the form approved by the [Web of Science](#). For references with more than 6 authors, only the first 3 authors should be listed, followed by 'et al.'. The references should be written as below:
Articles:
Isleyici O, Sancak YC, Sancak H, Yucel UM (2015). Determination of aflatoxin M1 levels in unpackaged sold raw cow's milk. *Van Vet J*, 26 (3), 151-155.
Ekin IH, Gurturk K, Ilhan Z, Arabaci C, Gulaydin O (2015). Detection of enzyme activities and their relation to serotypes of bovine and human group B streptococci. *J Med Microbiol*, 64, 985-989
Books:
Marrow DA (1986). Current Therapy in Theriogenology. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
Books chapters:
Bahk J, Marth EH (1990). Listeriosis and Listeria monocytogenes. In: Foodborne Diseases, Cliver DO (Ed), pp: 248-256, Academic Press, San Diego.
Electronic Material: The name of the article and available web address and access date should be written.
Who (2006). Avian Influenza, February 2006, http://www.who.int/mediacentre/factsheets/avian_influenza/en/ Access date: 10 January 2009.
- 15- Keywords of Turkish articles should be selected from, **Turkish Science Term's web site** (<http://www.bilimterimleri.com/>).
- 16- Information about the publication expenses for accepted papers will be given to the author(s) after determining cost.
- 17- Copyright fee will not be paid to the author(s).

Correspondence: Prof. Dr. Nihat MERT (Editor)

Yuzuncu Yil Universitesi, Veteriner Fakultesi, Dergi Editorlugu, 65080-Kampus/Van/TURKEY
e-mail: vfd@yyu.edu.tr Phone: +90 (432) 225 10 28 Fax: +90 432 225 11 27