



# Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

Journal of the Turkish Veterinary Medical Society

Cilt / Volume : 91

Sayı / Issue: 1

Yıl / Year: 2020

91(1)

ISSN : 0377 - 6395  
e-ISSN : 2651 - 4214



# Veteriner Hekimler Dernegi Dergisi

*Journal of the Turkish Veterinary Medical Society*

Cilt / Volume : 91 Sayı / Issue: 1 Yıl / Year : 2020

91 (1)



**Veteriner Hekimler Derneği Dergisi**  
**Journal of the Turkish Veterinary Medical Society**

**Cilt / Volume: 91 Sayı / Issue: 1 Yıl / Year: 2020**

Altı ayda bir yayımlanır / Published bi-annually • Yayın Türü: Yerel Süreli Yayın

<http://dergipark.org.tr/vetheder>

ISSN : 0377 -6395 e-ISSN: 2651-4214

**Veteriner Hekimler Derneği Adına Sahibi**

**Dr. Hüseyin Yalçın KÖKSAL**

Ziya Gökalp Caddesi No:16/7 Kızılay, Ankara

**Yazı İşleri Müdürü**

**Dr. Gülay KABASAKAL ERTÜRK**

Ziya Gökalp Caddesi No: 16/7 Kızılay, Ankara

---

**Editörler Kurulu / Editorial Board**

Dr. Öğr. Üyesi Doğukan ÖZEN  
(Baş Editör / Editor-in-Chief)

Dr. Seçkin SALAR

Dr. Koray TEKİN

Dr. Görkem CENGİZ

Dr. Bahar ONARAN

Dr. Caner BAKICI

Doç. Dr. M. Agah TEKİNDAL  
(İstatistik Editörü/ Statistics Editor)

Beste ÇİL

(Dil Editörü / English Editor)

**Danışma Kurulu (Advisory Board)\***

Prof. Dr. Mustafa ARICAN, Selçuk Üniversitesi

Prof. Dr. R. Tamay BAŞAĞAÇ GÜL, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Hasan BATMAZ, Uludağ Üniversitesi

Prof. Dr. Sacit BİLGİLİ, Auburn University

Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Ayşe ÇAKMAK, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Serdar DİKER, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Murat FINDIK, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Prof. Dr. Ahmet GÜNER, Selçuk Üniversitesi

Prof. Dr. Engin SAKARYA, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Tarkan ŞAHİN, Kafkas Üniversitesi

\*İsimler soyadına göre alfabetik olarak sıralanmıştır

\* Names arranged alphabetically by last name

---

**Hakemli Dergidir / Peer-Reviewed Journal**

Bu dergi, ULAKBİM (Yaşam Bilimleri), CAB Abstracts, Google Scholar ve Türkiye Atıf Dizini tarafından indekslenmektedir.

This journal is covered by ULAKBIM (Life Sciences), CAB Abstracts, Google Scholar and Türkiye Citation Index database systems.

**VETERİNER HEKİMLER DERNEĞİ**

**Adres:** Ziya Gökalp Caddesi No:16/7 Kızılay, Ankara • **Tel:** +90 312 431 62 74 • **Faks:** +90 312 435 79 14

**e-İleti:** [info@veteriner.org.tr](mailto:info@veteriner.org.tr) • **web adresi:** [www.veteriner.org.tr](http://www.veteriner.org.tr)

**Derneğin Kuruluş Tarihi:** 6 Şubat 1930

**Derginin İlk Yayın Tarihi:** 1 Ekim 1930

**Yayımlanma Tarihi / Publication Date: 15.01.2020**

---

Tüm hakları saklıdır. Bu Derginin tamamı yada Dergide yer alan bilimsel çalışmaların bir kısmı yada tamamı 5648 sayılı yasanın hükümlerine göre Veteriner Hekimler Derneği'nin yazılı izni olmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz.



DOI: 10.33188/vetheder.591867

Araştırma Makalesi / Research Article

## Comparative effects of nisin and monensin on pure cultures of rumen bacteria

**Ahu DEMİRTAŞ<sup>1, a\*</sup>**

<sup>1</sup> Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Physiology, Burdur, Turkey

ORCID: 0000-0003-2942-6243<sup>a</sup>

### MAKALE BİLGİSİ:

#### ARTICLE INFORMATION:

Gelis / Received:  
16 Temmuz 2019  
16 July 2019

Kabul / Accepted:  
19 Ağustos 2019  
19 August 2019

Anahtar Sözcükler:  
Antibakteriyal  
Nisin  
Minimal inhibitör  
konsantrasyon (MİK)  
Monensin  
Rumen bakterileri

Keywords:  
Antibacterial  
Nisin  
Minimum inhibitory  
concentration (MIC)  
Monensin  
Rumen bacteria

### ABSTRACT:

Nisin is a low molecular weight bacteriocin which is produced by *Lactococcus lactis*. Literature about the effects of nisin on pure cultures of rumen bacteria is scarce. The objective of the present study was to investigate the comparative effects of nisin and monensin on pure cultures of some Gram-positive and Gram-negative rumen bacteria. The antibacterial activity assays of nisin and monensin were carried out using broth microdilution method in anaerobic conditions. Antibacterial effect of monensin on Gram-positive rumen bacteria was higher than nisin. *Ruminococcus albus* and *Eubacterium ruminantium* were the most sensitive bacteria to monensin. Growth of these bacteria was inhibited completely by monensin, at 6 and 12 µg/mL concentrations respectively. Nisin exhibited stimulatory effects on *R. albus*, *E. ruminantium* and, *Streptococcus bovis* ( $p<0.05$ ), unlike monensin. Both nisin and monensin showed potential antibacterial activity on *Ruminococcus flavefaciens* and *Butyrivibrio fibrisolvens* ( $p<0.05$ ), although they did not inhibit these bacteria completely. Nisin and monensin also did not show inhibitory effect on *Methanobacterium formicum*, however the potential antimicrobial activity of monensin on this methanogen was more evident. Gram-negative rumen bacteria, *Megasphaera elsdenii* and *Fibrobacter succinogenes*, were resistant to both of nisin and monensin. It was concluded that the different effects of nisin and monensin particularly on some Gram-positive rumen bacteria may be responsible for their inconsistent effects on ruminal fermentation.

## ***Nisin ve monensin'in rumen bakterilerinin saf kültürleri üzerine karşılaştırmalı etkileri***

### ÖZET:

Nisin, *Lactococcus lactis* tarafından üretilen düşük moleküler ağırlıklı bir bakteriyosindir. Nisin'in rumen bakterilerinin saf kültürleri üzerine etkileri hakkında oldukça sınırlı düzeyde literatür bilgisi bulunmaktadır. Bu çalışmanın amacı, nisin ve monensin'in bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif rumen bakterilerinin saf kültürleri üzerine karşılaştırmalı etkilerini araştırmaktır. Nisin ve monensin'in antibakteriyal aktivite analizleri, anaerobik koşullarda mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Monensin'in Gram-pozitif rumen bakterileri üzerine antibakteriyal etkisi nisin'den daha yüksek bulunmuştur. *Ruminococcus albus* ve *Eubacterium ruminantium* monensin'e karşı en duyarlı bakteriler olarak belirlenmiştir. Bu bakterilerin büyümesi, monensin tarafından sırasıyla 6 ve 12 µg/mL konsantrasyonlarında tamamen baskılanmıştır. Nisin, monensin'den farklı olarak *R. albus*, *E. ruminantium* ve *Streptococcus bovis* üzerine uyarıcı etkiler göstermiştir ( $p<0.05$ ). Hem nisin hem de monensin, *Ruminococcus flavefaciens* ve *Butyrivibrio fibrisolvens* üzerine potansiyel antibakteriyal aktivite sergilemişler ( $p<0.05$ ), ancak bu bakterileri tamamen baskılamamışlardır. Nisin ve monensin ayrıca *Methanobacterium formicum* üzerine baskılayıcı etki göstermemekle birlikte, monensin'in bu metanojen üzerine potansiyel antimikrobiyal etkinliğinin daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Gram-negatif rumen bakterileri olan *Megasphaera elsdenii* ve *Fibrobacter succinogenes*'in, hem nisin hem de monensin'e karşı dirençli oldukları belirlenmiştir. Nisin ve monensin'in özellikle bazı Gram-pozitif rumen bakterileri üzerine olan farklı etkilerinin ruminal fermentasyon üzerine uyumlu olmayan etkilerinden sorumlu olabileceği sonucuna varılmıştır.

**How to cite this article:** Demirtaş A: Comparative effects of nisin and monensin on pure cultures of rumen bacteria. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 91(1): 1-8, 2020, DOI: 10.33188/vetheder.591867

\* Sorumlu yazar eposta adresi / Corresponding author e-mail address: ahu-demirtas@hotmail.com

## 1. Introduction

Ruminants, thanks to their rumen and its microorganisms, are able to process indigestible feedstuffs and convert them in nutritious food. Rumen bacteria, which make up 95% of the total microbiota in the rumen (3), break down plant materials and form volatile fatty acids and bacterial proteins as evaluable energy and protein sources for the host animal (14). However, Gram-positive species which produce greater amounts of hydrogen, formate, ammonia, and lactic acid compared to the Gram-negative bacteria in the rumen lead to the loss of energy and protein (5). Ionophore antibiotics that affect selectively Gram-positive bacteria improve animal productivity via increasing propionate production, fibre digestion and decreasing methanogenesis, deamination of amino acids, proteolysis of dietary crude protein, and accumulation of lactate (26). Monensin is the most commonly used ionophore until the antibiotic ban for feed additives in 2006 (21).

Many lactic acid bacteria produce antibacterial small peptides, called as ‘bacteriocins’, which are primarily effective against Gram-positive bacteria (12). Nisin is a low molecular weight bacteriocin (lantibiotic) which is produced by *Lactococcus lactis*, a common starter culture for cheese making (10). Nisin also has “generally recognized as safe” status, and is approved for use as a food preservative (12). It is known that nisin shows antimicrobial activity against a wide range of Gram-positive bacteria such as *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* (24), *Streptococcus pneumoniae* and, *Staphylococcus aureus* (28). It is suggested that nisin might have potential to modify ruminal fermentation because of its ability to inhibit Gram-positive ruminal bacteria (4). Callaway et al. (4) reported that even low concentrations of purified nisin inhibited *in vitro* methane production, decreased the acetate to propionate ratios and reduced ammonia production similar to monensin. On the other hand, there are also reports indicate that nisin was less effective than monensin (13, 20) as well as, monensin and nisin affect rumen fermentation and microbiota differently *in vitro* (16, 29). However, literature about the effects of nisin on pure cultures of rumen bacteria is scarce. Such an information can contribute to the clear physiological mechanisms and the mode of action of nisin in the rumen. Therefore, the objective of the present study was to investigate the comparative effects of nisin and monensin on pure cultures of some Gram-positive and Gram-negative rumen bacteria.

## 2. Material and Methods

### Nisin and monensin:

Nisin was obtained from Sigma Aldrich (N5764), and monensin was obtained from Fluka (69864).

### Bacterial strains:

The Gram-positive bacterial species used in antimicrobial tests were *Ruminococcus albus* (ATCC 27210) and *Ruminococcus flavefaciens* Sijpestein C97 (ATCC 49949) as hydrogen and formate producers, *Butyrivibrio fibrisolvens* D1 (ATCC 19171) and *Eubacterium ruminantium* GA 195 (ATCC 17233) as butyrate producers, and *Streptococcus bovis* (ATCC 33317) as a lactate producer. *Methanobacterium formicicum* (ATCC 33274), a mesophilic methanogen, was used as a methane producer. The Gram-negative bacterial species tested were *Fibrobacter succinogenes* S85 (ATCC 19169) and *Megasphaera elsdenii* LC1 (ATCC 25940), which were used as succinate and propionate producers.

### Anaerobic media:

Growth media for bacterial cultures were prepared under CO<sub>2</sub> to maintain anaerobic conditions according to Orpin (22). The chemical composition of anaerobic media is shown in Table 1. The media was gassed with CO<sub>2</sub> while heating to 60 °C in a hot water bath to remove O<sub>2</sub> completely. The conversion of the color of medium to dull yellow from bluish purple by the resazurin (0.1%, v/v), which is a redox potential indicator in the medium, was considered to be a sign of removal of oxygen. Bottle of media was closed with a rubber stopper and autoclaved.

Anaerobic bacteria were grown at 37 °C for 24-72 h under strictly anaerobic conditions inside an anaerobic chamber (Whitley DG250, Don Whitley, West Yorkshire, UK) under an atmosphere of N<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>-H<sub>2</sub> (80:10:10).

**Table 1:** Composition of the anaerobic media (for 100 mL) (Orpin 1976)

**Tablo 1:** Anaerobik besiyerinin bileşimi (100 mL için) (Orpin 1976)

Component*	
Mineral solution 1**	15
Mineral solution 2***	15
Clarified rumen fluid****	15
NaHCO <sub>3</sub> (Sigma S5761)	0.6
Yeast extract (Sigma Y1625)	0.25
Trypticase peptone (BD 211921 Bacto <sup>TM</sup> )	1
Resazurin (%0.1, v/v) (Sigma R7017)	1
Cysteine HCl (Sigma C7880)	0.1
Cellobiose (Sigma 22150)	0.5
Deionized water	55

\*Units are mL for liquid components and g for solid components.

\*\*Mineral solution 1: 3 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Sigma P3786)

\*\*\*Mineral solution 2: 3 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Sigma P9791), 6 g/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Sigma A4915), 6 g/L NaCl (Sigma S7653), 0.6 g/L MgSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O (Sigma 230391) and 0.6 g/L CaCl<sub>2</sub> (Sigma C1016)

\*\*\*\*The ruminal fluid brought from the slaughterhouse was mixed and filtered through three layers of cheesecloth to partition into liquid and solid (digesta) fractions. Liquid fraction was centrifuged at 15000 rpm and, the clear supernatant was used as a component of anaerobic media.

### Evaluation of antibacterial activity:

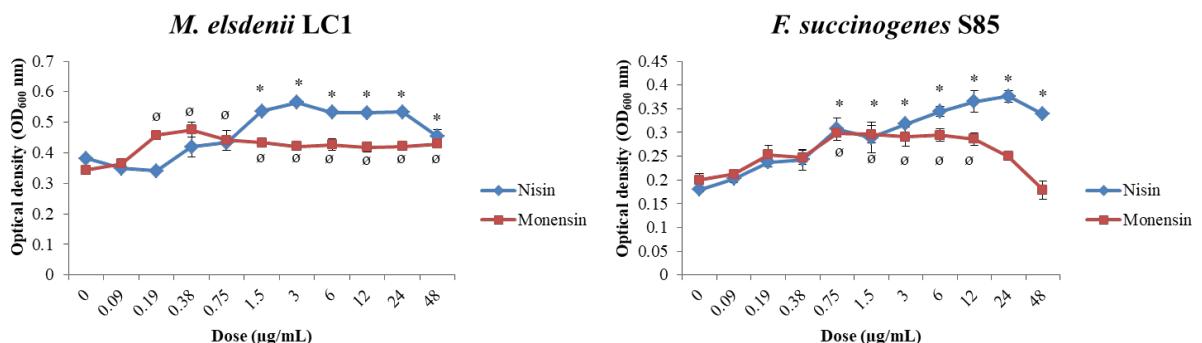
The antibacterial activity assays of nisin and monensin were carried out using a broth microdilution method following the Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines (8) in the anaerobic chamber. Stock solutions of nisin and monensin (20 mg/mL) was prepared dissolving nisin and monensin in 50 % (v/v) ethanol. The minimal inhibitory concentrations (MICs) of the several ionophore and non-ionophore antibiotics on rumen bacteria were investigated at doses ranging from 0.09 to 48 µg/mL (19). Therefore, the highest concentration of samples in the present study was 48 µg/mL. A serial 2-fold dilution of nisin and monensin (48, 24, 12, 6, 3, 1.5, 0.75, 0.38, 0.19, 0.09 µg/mL) was prepared in the anaerobic media. Two hundred microliters of each was added to wells of a 96-well plate (Corning 3599, Flat bottom). Then, 20 µL aliquots of  $4 \times 10^{10}$  cell/mL bacteria were added into each well. Triplicate wells were used for each concentration. Negative control wells without antimicrobial compounds and media control wells without bacteria were maintained for each set. After incubation at 37 °C for 24 h in the anaerobic chamber, microbial growth was determined at 600 nm using a plate reader (BioTek, Epoch). The MIC was the lowest concentration at an OD<sub>600</sub> value of  $\leq 0.1$  (15). A significantly lower OD<sub>600</sub> value compared to control dose (0 µg/mL) was accepted as potential antibacterial activity (17) while significantly higher OD<sub>600</sub> value was accepted as stimulatory activity.

## Statistical analyses:

Statistical analysis was carried out by the use of one-way ANOVA followed by Dunnett's test. Each well of a 96-well plate was an experimental unit. A value of  $p<0.05$  was taken to indicate a significant difference.

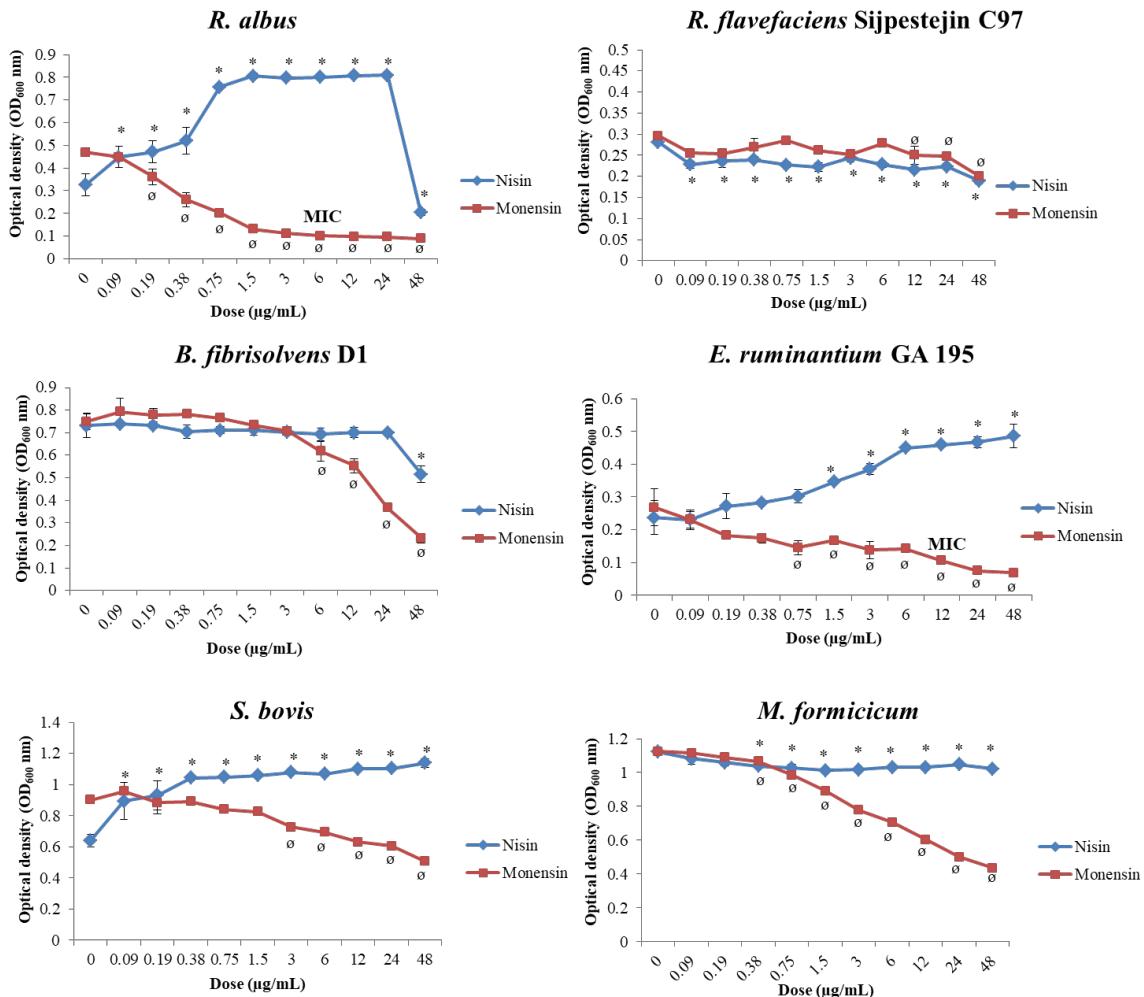
## 3. Results

Effects of nisin and monensin on rumen bacteria are presented in Figure 1 and Figure 2. Antibacterial effect of monensin on Gram-positive rumen bacteria was higher than nisin. Nisin showed growth stimulatory effect on *R. albus* at 0.09-24  $\mu\text{g/mL}$  doses ( $p<0.05$ ), while potential antibacterial activity was observed at 48  $\mu\text{g/mL}$  ( $p<0.05$ ). On the other hand, *R. albus* was inhibited completely by monensin at 6  $\mu\text{g/mL}$  (MIC). Monensin also inhibited the growth of *E. ruminantium* at 12  $\mu\text{g/mL}$  dosage (MIC), unlike nisin, which had stimulatory effect on this bacterium at 1.5-48  $\mu\text{g/mL}$  doses ( $p<0.05$ ). Similarly, monensin showed potential antibacterial activity against *S. bovis* at 3-48  $\mu\text{g/mL}$  ( $p<0.05$ ), while nisin promoted the growth of this bacterium at all doses ( $p<0.05$ ). Both nisin and monensin exhibited potential antibacterial activity on *R. flavefaciens* and *B. fibrisolvens* ( $p<0.05$ ), although they did not inhibit these bacteria completely. Nisin and monensin also did not show growth inhibitory effect on *M. formicicum*, however the potential antimicrobial activity of monensin was more evident on this methanogen.



**Figure 1:** Effects of nisin and monensin on Gram-negative rumen bacteria. The results represent the mean  $\pm$  standard error. \* $p<0.05$ , difference of the nisin-treated culture compared with the control;  $^o p<0.05$ , difference of the monensin-treated culture compared with the control. Control level was 0  $\mu\text{g/mL}$  for both nisin and monensin.

**Şekil 1:** Nisin ve monensin'in Gram-negatif rumen bakterileri üzerine etkileri. Sonuçlar, ortalama  $\pm$  standart hatayı temsil etmektedir. \* $p<0,05$ , nisin ile muamele edilmiş kültürün kontrol ile karşılaştırıldığında farkı;  $^o p<0,05$ , monensin ile muamele edilmiş kültürün kontrol ile karşılaştırıldığında farkı. Kontrol seviyesi hem nisin hem de monensin için 0  $\mu\text{g/mL}$ 'dir.



**Figure 2:** Effects of nisin and monensin on Gram-positive rumen bacteria. The results represent the mean  $\pm$  standard error. \* $p<0.05$ , difference of the nisin-treated culture compared with the control;  $^o p<0.05$ , difference of the monensin-treated culture compared with the control. Control level was 0 µg/mL for both of nisin and monensin. MIC: Minimal inhibitory concentration

**Şekil 2:** Nisin ve monensin'in Gram-pozitif rumen bakterileri üzerine etkileri. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hatayı temsil etmektedir. \* $p<0,05$ ; nisin ile muamele edilmiş kültürü kontrol ile karşılaştırıldığında farkı;  $^o p<0,05$ ; monensin ile muamele edilmiş kültürü kontrol ile karşılaştırıldığında farkı. Kontrol seviyesi hem nisin hem de monensin için 0 µg/mL'dir. MİK: Minimal inhibitor konsantrasyon

Both nisin and monensin show growth stimulatory effect on Gram-negative rumen bacteria ( $p<0.05$ ). Nisin and monensin promoted the growth of *M. elsdenii* at 1.5-48 µg/mL and 0.19-48 µg/mL doses, respectively ( $p<0.05$ ). Nisin and monensin also showed stimulatory effect on *F. succinogenes* from 0.75 µg/mL ( $p<0.05$ ). However, the stimulatory effect of nisin was higher and permanent from 3 µg/mL dose while the effect of monensin disappeared at 24-48 µg/mL.

#### 4. Discussion and Conclusion

Antibiotic feed additives have been used since the 1970s to decrease fermentation losses and increase the useful end-products of ruminal fermentation (6). Ionophore antibiotics alter ruminal fermentation via affecting Gram-positive rumen bacteria while protecting Gram-negative ones (26). In this study, Gram-positive rumen bacteria were more sensitive to monensin than Gram-negatives, consistent with the literature. *R. albus* and *E. ruminantium* were the most sensitive bacteria to monensin. Growth of these bacteria was inhibited completely by monensin, at 6 and 12 µg/mL concentrations respectively. Monensin did not inhibit the other Gram-positive bacteria though it diminished the bacterial growth compared the control. The minimal inhibitory concentrations (MICs) of monensin on *R. flavefaciens* and *S. bovis* were higher than 40 µg/mL according to Slyter et al. (30), similar with the results of the present study. On the other hand, *R. albus*, *B. fibrisolvens*, and *S. bovis* were inhibited to differing extents by monensin at concentrations between 0.1 and 10 µg/mL (11). Dawson and Boling (9) reported that the MICs of monensin and lasalocid were greatly influenced by potassium concentrations in the medium. The MIC values of monensin and lasalocid on *Bacteroides ruminicola* were 16-64 times greater when the potassium concentration of the medium increases from 4.6 to 12.3 mM. Ionophore antibiotics exhibit antibacterial activity via depleting intracellular potassium and, antimicrobial activities of some ionophores can be reversed by increasing the potassium concentrations in the medium (9). Therefore, resistance of some Gram-positive bacteria to monensin might be related with the relatively high potassium concentration of the medium (approximately 12.8 mM) used in the present study.

Antibacterial effect of monensin on Gram-positive rumen bacteria was higher than nisin in the present study. Besides, surprisingly, nisin exhibited growth stimulatory effects on some Gram-positive bacteria like *R. albus*, *E. ruminantium*, and *S. bovis*. Literature on the effects of nisin on the pure cultures of rumen bacteria is scarce. Although nisin is known as primarily effective on Gram-positive bacteria (2), it is reported that some Gram-positive bacteria can become nisin resistant. According to Mantovani and Russell (18), any nisin-sensitive cell can become nisin resistant as long as the ratio of nisin to cells is not too high and the incubation period is long enough. In that study (18), nisin (1 mM) caused a decrease in the viability of *S. bovis* culture during the first hour of incubation, but the viable cell number started to increase from the second hour and continued to multiply until the end of 8-hour incubation. So, the *R. albus*, *E. ruminantium*, and *S. bovis* cultures seemed to become resistant to nisin during the 24 hours of incubation in the present study. However, the sharp drop in the optical density of *R. albus* culture at 48 µg/mL of nisin treatment suggested that the related dose was too high to allow bacterial resistance. Nisin exhibits antibacterial activity via aggregating to form a pore through the cell membrane and causing potassium loss from the cell (25). Nisin is a positive-charged protein (2). Researchers indicated that the nisin-resistant cells had an increased positive charge than nisin-sensitive cells therefore; they excluded some of the nisin (18). Resistant cells bound less cytochrome c –an apoptosis related protein- because of the same reason. Nisin-resistant cells were also more lysozyme resistant, and were less hydrophobic (18).

On the other hand, resistance development theory might be not sufficient to explain the growth stimulatory effects of nisin treatment on some Gram-positive bacteria in the present study. Kišidayová et al. (16) reported that the supplementation of nisin significantly increased the *in vitro* population of major ciliate groups, *Entodinium* spp. and *Dasytricha ruminantium*, in the rumen while monensin significantly decreased the population of both groups in the same study. It is known that some plant metabolites when used at low doses can be converted to more bioactive forms as a result of bacterial degradation and these end-products can stimulate synthesis of bacterial proteins (1, 23). A bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS), which is produced by *B. fibrisolvens* JL5, was reported to be degraded with a bacterial enzyme, pronase E (27). Nisin might be inactivated with a similar mechanism that is in need of illumination.

The effects of nisin and monensin on Gram-negative rumen bacteria were in the same direction in the present study. *M. elsdenii* and *F. succinogenes* were resistant to both substances. Results of the present study are consistent with the reports indicate the resistance of Gram-negative bacteria to nisin (7) and monensin (11). Gram-negative bacteria, unlike Gram-positive bacteria, have an outer membrane which protects the cell membrane from antimicrobial substances (4). The growth of Gram-negative bacteria was also promoted moderately by nisin and

monensin and, the stimulatory effect was more evident and permanent with nisin in the present study. The stimulatory effects of nisin on both Gram-negative and some Gram-positive rumen bacteria might be the explanation of the increase on ruminal acetate and propionate production with nisin treatment, unlike monensin, which increased only propionate production (13). In contrast to monensin, the lack of an adverse effect of nisin on dry matter digestibility (29) might also be a result of nisin's non-inhibitory effect on ruminal bacteria such as *R. albus*, *E. ruminantium*, and *F. succinogenes* that play key roles in cellulose digestion.

As a conclusion, the different effects of nisin and monensin particularly on some Gram-positive rumen bacteria probably responsible for their inconsistent effects on ruminal fermentation. Future *in vitro* and *in vivo* studies are needed to elucidate the nisin's mode of action on rumen bacteria, and validate the efficiency of nisin to modify bacterial profile in the rumen.

## References

- Aura AM** (2008): *Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon*. Phytochem Rev, **7**, 407–429.
- Breukink E, de Kruijff B** (1999): *The lantibiotic nisin, a special case or not?* BBA-Biomembranes **1462**, 223–234.
- Brulc JM, Antonopoulos DA, Miller ME, Wilson MK, Yannarell AC, Dinsdale EA, Edwards RE, Frank ED, Emerson JB, Wacklin P, Coutinho PM, Henrissat B, Nelson KE, White BA** (2009): *Gene-centric metagenomics of the fiber-adherent bovine rumen microbiome reveals forage specific glycoside hydrolases*. Proc Natl Acad Sci USA, **106**, 1948–1953.
- Callaway TR, De Melo AMC, Russell JB** (1997): *The effect of nisin and monensin on ruminal fermentations in vitro*. Curr Microbiol, **35**, 90–96.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, Losa R** (2007): *Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation*. Anim Feed Sci Tech, **132**, 186–201.
- Chalupa W** (1977): *Manipulating rumen fermentation*. J Anim Sci, **46**, 585–599.
- Chung KT, Dickson JS, Crouse JD** (1989): *Effects of nisin on growth of bacteria attached to meat*. Appl Environ Microbiol, **55**, 1329–1333.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)** (2016): *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 26th Informational Supplement*. In: M100-S26, CLSI, Wayne, PA.
- Dawson KA, Boling JA** (1984): *Factors affecting resistance of monensin-resistant and sensitive strains of *Bacteroides ruminicola**. Can J Anim Sci, **64**, 132–133.
- DeVuyst L** (1994): *Nisin production variability between natural *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* strains*. Biotechnol Lett, **16**, 287–292.
- Henderson C, Stewart CS, Nekrep FV** (1981): *The effect of monensin on pure and mixed cultures of rumen bacteria*. J Appl Bacteriol, **51**, 159–169.
- Jack RW, Tagg JR, Ray B** (1995): *Bacteriocins of Gram-positive bacteria*. Microbiol Rev, **59**, 171–200.
- Jalč D, Lauková A** (2002): *Effect of nisin and monensin on rumen fermentation in the artificial rumen*. Berl Munch Tierarztl, **115**, 6–10.
- Jami E, Mizrahi I** (2012): *Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals*. Plos One, **7**, e33306.
- Kang MS, Oh JS, Kang IC, Hong SJ, Choi CH** (2008): *Inhibitory effect of methyl gallate and gallic acid on oral bacteria*. J Microbiol, **46**, 744–750.
- Kišidayová S, Laukova A, Jalč D** (2009): *Comparison of nisin and monensin effects on ciliate and selected bacterial populations in artificial rumen*. Folia Microbiol, **54**, 527–532.
- Ko HH, Lareu RR, Dix BR, Hughes JD** (2018): *In vitro antibacterial effects of statins against bacterial pathogens causing skin infections*. Eur J Clin Microbiol, **37**, 1125–1135.

- 18. Mantovani HC, Russell JB** (2001): *Nisin resistance of Streptococcus bovis*. Appl Environ Microbiol, **67**, 808–813.
- 19. Nagaraja TG, Taylor MB** (1987): *Susceptibility and resistance of ruminal bacteria to antimicrobial feed additives*. Appl Environ Microbiol, **53**, 1620–1625.
- 20. Oeztuerk H, Emre B, Sagmanligil V, Piskin I, Fidanci UR, Pekcan M** (2010): *Effects of nisin and propolis on ruminal fermentation in vitro*. J Anim Vet Adv, **9**, 2752–2758.
- 21. OJEU** (2003): OJEU Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and the Council of 22 September 2003 on Additives for Use in Animal Nutrition. Official Journal of European Union. Page L268/36 in OJEU of 18/10/2003.
- 22. Orpin CG** (1976): *Studies on the rumen flagellate Sphaeromonas communis*. J Gen Microbiol, **94**, 270–280.
- 23. Patra AK, Stiverson J, Yu Z** (2012): *Effects of quillaja and yucca saponins on communities and select populations of rumen bacteria and archaea, and fermentation in vitro*. J Appl Microbiol, **113**, 1329–1340.
- 24. Pol IE, Smid EJ** (1999): *Combined action of nisin and carvacrol on Bacillus cereus and Listeria monocytogenes*. Lett Appl Microbiol, **29**, 166–170.
- 25. Russell JB, Mantovani HC** (2002): *The bacteriocins of ruminal bacteria and their potential as an alternative to antibiotics*. J Mol Microb Biotech, **4**, 347–355.
- 26. Russell JB, Strobel HJ** (1989): *Mini-Review: The effect of ionophores on ruminal fermentation*. Appl Environ Microbiol, **55**, 1–6.
- 27. Rychlik JL, Russell JB** (2002): *Bacteriocin-like activity of Butyrivibrio fibrisolvens JL5 and its effect on other ruminal bacteria and ammonia production*. Appl Environ Microbiol, **68**, 1040–1046.
- 28. Severina E, Severin A, Tomasz A** (1998): *Antibacterial efficacy of nisin against multidrug-resistant Gram-positive pathogens*. J Antimicrob Chemother, **41**, 341–347.
- 29. Shen J, Liu Z, Yu Z, Zhu W** (2017): *Monensin and nisin affect rumen fermentation and microbiota differently in vitro*. Front Microbiol, **8**, 1111.
- 30. Slyter LL, Tung RS, Kung Jr L** (1992): *Effect of monensin and lysocellin on growth and fermentation by pure cultures of ruminal bacteria*. J Appl Anim Res, **1**, 1–12.



DOI: 10.33188/vetheder.579594

Araştırma Makalesi / Research Article

## Expression of e-cadherin in early mouse embryo development

**Duygu MUTLUAY<sup>1, a\*</sup>**

<sup>1</sup> Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Burdur, Turkey  
ORCID: 0000-0003-3286-130X<sup>a</sup>

### MAKALE BİLGİSİ:

#### ARTICLE

#### INFORMATION:

Geliş / Received:

18 Haziran 2019

18 June 2019

Kabul / Accepted:

03 Eylül 2019

03 September 2019

#### Anahtar Sözcükler:

E-kadherin

Embryo gelişimi

Fare

Hücre adezyonu

Preimplantasyon

#### Keywords:

Cell adhesion

E-cadherin

Embryo development

Mouse

Preimplantation

### ABSTRACT:

E-cadherin is a member of the cadherin superfamily of calcium-dependent cell adhesion molecules, and has critical roles in cell adhesion during early embryo development. To determine the expression and distribution of E-cadherin, we applied immunofluorescent staining on late 8 cell, morula and blastocyst stage embryos during the experiments. Firstly, we superovulated the female mice and sacrificed them to isolate oviducts. We flushed 2 cell embryos by using FHM HEPES-buffered medium from the CD1 female mouse oviducts and cultured them in KSOM medium until the blastocyst stage. Embryos were fixed and immunostained with E-cadherin, then images were assessed using a fluorescence microscope. We demonstrate that E-cadherin is expressed throughout the late 8 cell to fully expanded blastocysts. We observed that E-cadherin is present only in the cell-cell contact sites and not in the apical sites of the membrane of late 8 cell stage embryo. In morula, E-cadherin localized on the surface of blastomeres and cell-cell junctions. In blastocyst stage, embryos showed membrane staining in cell-cell contact regions in trophectoderm cells while localized on the surface of inner cell mass. Our results indicate that E-cadherin mediated cell adhesion has important roles on compaction, trophectoderm epithelial differentiation and implantation.

## Farelerde erken embriyo gelişiminde e-kadherin ekspresyonu

### ÖZET:

Kalsiyum bağımlı hücre adezyon moleküllerinden kadherin üst ailesinin bir üyesi olan E-kadherin'in erken embriyonik gelişim sırasında hücre adezyonunda kritik rolleri vardır. E-kadherin ekspresyonunu ve dağılımını belirlemek için, geç 8 hücre, morula ve blastosit aşamalarında bulunan embriyolarla immünofloresan boyama uygulandı. İlk olarak dişi farelere superovulasyon uyguladıktan sonra sakrifiye edilerek oviduktar izole edildi. CD1 dişi farelerin oviduktlarında FHM HEPES-tamponlu medyum ile yıkandıktan sonra 2 hücreli embriyo elde edildi ve istenilen embriyo aşamalarında kullanılmak üzere KSOM medyumu içerisinde blastosit aşamasına kadar kültüre edildi. Embriyoların tespit edildiği ve E-kadherin ile immun boyama yapıldıktan sonra, floresan mikroskopu kullanılarak görüntüler çekildi ve değerlendirildi. E-kadherinin geç 8 hücreli aşamadan tamamen genişletilmiş blastosit aşamaları boyunca eksprese edildiği gösterildi. Geç 8 hücreli embriyoda E-kadherin, membranın apikal bölgelerinde yer almazken sadece hücre-hücre temas bölgelerinde var olduğu gözlemlendi. Morulada E-kadherin, blastomerlerin yüzeyinde ve hücre-hücre bireşim alanlarında lokalize olduğu görüldü. Blastosit aşamasındaki embriyolarda, ICM'nin yüzeyinde lokalize olurken, TE hücrelerinde hücre-hücre temas bölgelerinde membran boyaması olduğu da gösterilmiştir. Sonuçlarımız, E-cadherin kaynaklı hücre adezyonunun, kompaksiyon, trofektoderm epitelyal farklılaşması ve implantasyon sürecinde önemli rollere sahip olduğunu göstermektedir.

## 1. Introduction

Cell adhesion molecules have a fundamental importance in early mouse embryo because of their roles in mediating cell-cell interactions during subsequent development (Fleming TP, 2001). E-cadherin is the first identified cell adhesion molecule of the catenin family. These calcium dependent cell adhesion molecules play a central role in generation and maintenance of epithelial cell polarity adhesion. E-cadherin is distributed in the adherens junctions, especially lateral side of the epithelial plasma membrane, and extracellular domain of E-cadherin allows it to be expressed on neighboring cells (14).

E-cadherin has a major role on the adhesion of blastomeres during preimplantation mammalian embryo development (14). Preimplantation embryonic development of mouse extends from fertilization to implantation of the embryo and its attachment to the uterine wall. Following the fusion of sperm with oocyte, the zygote undergoes mitotic cell divisions, resulting in the formation of 2 cell, 4 cell, 8 cell, morula and blastocyst stage embryos, respectively. In the 8-cell stage, embryo has morphologically identical blastomeres until compaction. During compaction, blastomeres become closely apposed like a ball of cells whose cell borders are not distinguishable anymore (6). Compaction process is mediated primarily by E-cadherin molecules while vezatin and nectin-2 adhesion also exist at that time (2). Blastomeres also undergo apical-basal polarization with compaction. As a result of compaction, adherens junctions form at the cell-to-cell contact sites, forming the embryo called morula. After the generation of morula, small cavities form and expand to create one big cavity, from now on the embryo is called blastocyst. The blastocyst consists of two cell lineages called trophectoderm (TE) and the inner cell mass (ICM). The TE is a single outer layer of polarized epithelial cells which mediates the implantation of the embryo and contributes to placentation, while ICM is composed of pluripotent unpolarized cells that give rise to the fetus (13). E-cadherin is necessary for the formation of trophectoderm epithelium that is critical for implantation and attachment of the embryo to endometrium. By the E4.5 (embryonic day 4.5) blastocyst (fully expanded blastocyst) stage, ICM cells are segregated into two distinct cell layers called primitive endoderm (PrE) and pluripotent epiblast (Epi) that gives rise to visceral and parietal endoderm and most of the cells of the embryo proper respectively (7).

In the current study, we aimed to determine the expression and distribution of E-cadherin molecule in mouse early embryo development. Understanding the expressions and functions of these molecules during early development is essential for people and animals to maintain a successful pregnancy.

## 2. Material and Methods

### Animals:

Female (n=10) and male (n=10) CD1 mice were purchased from Mehmet Akif Ersoy University Experimental Animal Breeding Unit. Animals were kept in 12h light:12h dark cycle with unlimited access to water and food. This research was approved by the Veterinary Faculty Experimentation Ethics Committee of Mehmet Akif Ersoy University (Ethics Committee Certificate no: 511/2019).

### Collection of embryos:

CD1 female mice 8-10 weeks of age were induced to superovulate by intraperitoneally injections of 5 IU of equine chorionic gonadotropin (PMSG) and human chorionic gonadotropin (hCG) at 48 hours (h) apart. Female mice were mated overnight with fertile males. Following morning, inseminated females were selected by the presence of vaginal plug. Selected females were sacrificed by cervical dislocation and two cell stage embryos (n=60) were flushed from the dissected oviducts with FHM HEPES-buffered medium (Millipore-Sigma) at 44-46 h after hCG injection. After that, embryos were cultured in 20 $\mu$ l drops of KSOM medium (Millipore-Sigma) under mineral oil at 37°C in a 5% CO<sub>2</sub> humidified air incubator until 8 cell, morula, E 3.5 and E4.5 cell stage for the following experiments (8).

## Fixation and Immunofluorescent Staining

Embryos were fixed in 4% paraformaldehyde solution in phosphate-buffered saline (PBS) for 25 min at room temperature. Embryos were subsequently permeabilized in PBS containing 0.5% Triton X-100 for 15 min and blocked with 5% bovine serum albumin in PBS containing 0.1% Tween-20. After blocking, samples were incubated in the primary antibody overnight at 4°C and were incubated in secondary antibody for 2-3 h at 25°C. The primary antibody provided was, rabbit anti-E-cadherin (Santa Cruz) and secondary antibodies used were conjugated with Alexa Fluor 546 (Life Technologies) namely goat anti-rabbit and conjugated with Alexa Fluor 488 (Life Technologies), namely donkey anti-rabbit. Actin filaments were visualized by adding phalloidin conjugated with Alexa 546 in the secondary antibody solution to visualize cell membranes. Stained samples were mounted in ProLong Gold antifade reagent containing 4',6'-diamidino-2-phenylindole (DAPI; Thermo Fisher Scientific) on a slide (8). Negative and positive control staining on different stage of embryos were done and the specificity of the E-cadherin secondary antibody was determined that no E-cadherin staining was observed in negative control groups.

## Microscopy and Image Analysis

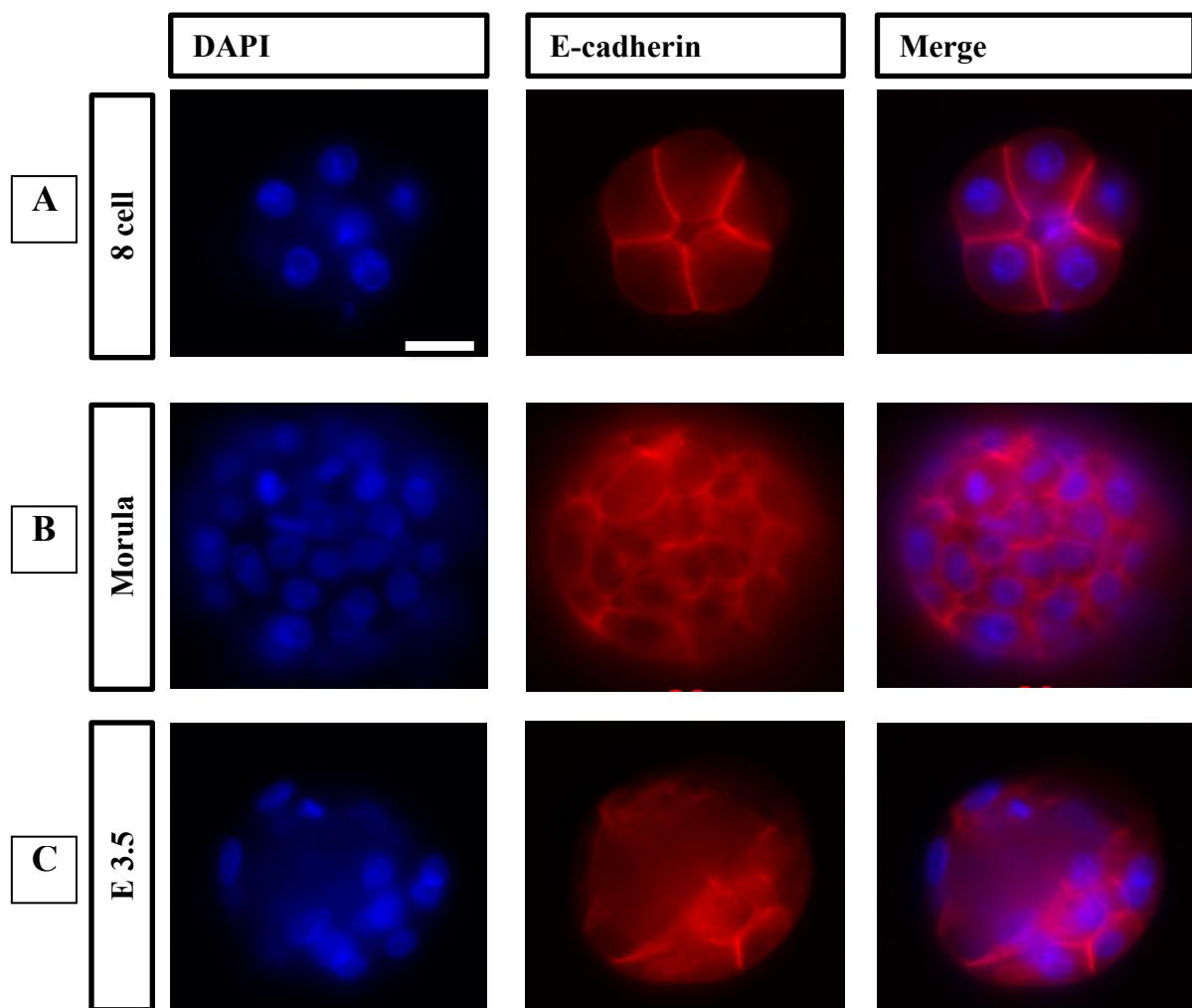
Different stages of embryos were assessed and imaged using BX51 (Olympus) fluorescence microscope.

## 3. Results

The expression of E-cadherin was determined during preimplantation embryo development by immunofluorescence staining from late 8 cell stage to the blastocyst stage. The E-cadherin expression was detected in all embryo stages that were examined (Figure 1-2). It has been known that E-cadherin is expressed and is present in the entire plasma membrane of 8 cell stage embryo until compaction (16). However, E-cadherin expression is restricted in basolateral cell-to-cell contact sites in late 8 cell stage, morula, E 3.5 and E 4.5 blastocyst stages (Figure 1-2). In late 8 cell stage embryo, there is no E-cadherin staining at the apical membrane of the peripheral blastomeres (Figure 1A).

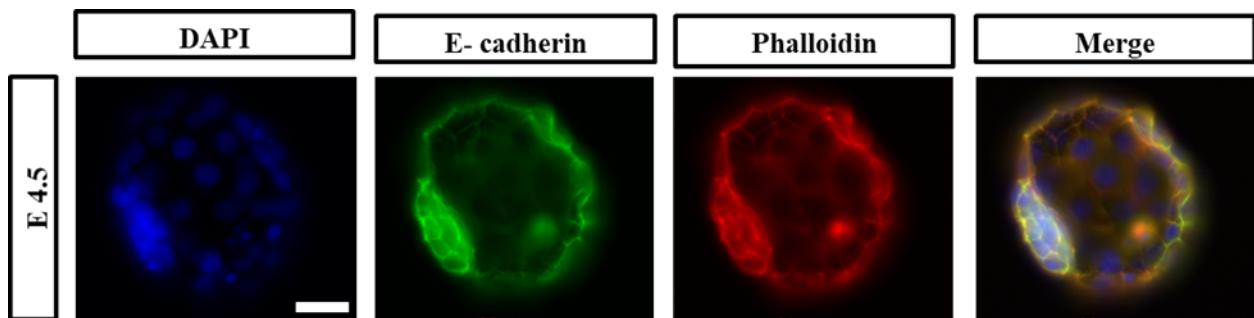
We observed clear membrane staining on contact sites between blastomeres in morula stage embryos. Morula stage embryo consists of external (will generate TE cells) and internal (will generate ICM) cells. External blastomeres are positioned on the surface of the embryo, while internal blastomeres are completely surrounded by neighboring cells (17). We showed that E-cadherin protein is entirely localized around the internal blastomeres membrane and is also present in cell-cell contact sites of adjacent external blastomeres in morula (Figure 1B).

E-cadherin was detected at E 3.5 (expanding blastocyst) blastocysts as a membrane staining in cell-cell contact regions in TE cells while localized on the surface of ICM (Figure 1C). We analyzed the E-cadherin expression and distribution in E 4.5 blastocysts by applying double immunofluorescence staining using E-cadherin and actin proteins to visualize the cell borders. We observed membrane staining in cell-cell contacts of TE cells and intense membrane staining on the surface of PrE and Epi cells (Figure 2).



**Figure 1:** E-cadherin expression and distribution during preimplantation embryo development. [E-cadherin is expressed late 8 cell stage to blastocyst stage. E-cadherin is distributed in cell-cell junctions at late 8 cell (A), morula (B) and E3.5 (C) embryo stages. Fluorescence microscope images of the embryos which were stained with E-cadherin positive (red) and nuclei were stained with DAPI (blue). Scale bar represents 20 $\mu$ m.]

**Sekil 1:** Preimplantasyon embriyo gelişimi sırasında E-kadherin ekspresyonu ve dağılımı. [E-kadherin geç 8 hücre aşamasından blastosist aşamasına kadar eksprese edilmektedir. E-kadherin geç 8 hücre (A), morula (B) and E3.5 (C) embriyo aşamalarında hücre-hücre bağlantı alanlarında dağılım göstermektedir. Embriyoların floresan mikroskop görüntüleri E-kadherin pozitif (kırmızı) ve nukleus DAPI (mavi) ile boyanmış olan embriyoların floresan mikroskop görüntüleri. Ölçüm bari 20 $\mu$ m'yi göstermektedir.]



**Figure 2:** Double immunofluorescent staining of E-cadherin protein on E 4.5 blastocysts. [E-cadherin is localized at the cell-cell contacts of TE cells and on the surface of PrE and Epi cells. Fluorescence microscope images were stained with E-cadherin positive (green), F-actin-positive (red), and nuclei were stained with DAPI (blue). Scale bar represents 20 $\mu$ m.]

**Sekil 2:** E 4.5 blastosistler üzerinde E-kadherin proteininin immunfloresan boyaması. [E-kadherin, TE hücrelerinin hücre-hücre temas alanlarında, PrE ve Epi hücrelerinin yüzeyinde lokalizedir. Floresans mikroskop görüntüleri, E-kaderin pozitif (yeşil), aktin-pozitif (kirmızı) ile ve çekirdekler, DAPI (mavi) ile boyandı. Ölçüm bari 20 $\mu$ m'yi göstermektedir.]

#### 4. Discussion and Conclusion

Cell adhesion is a critical process for early embryo development and implantation. We have investigated the expression and distribution of E-cadherin adhesion molecule, which is the major protein involved in the process of compaction and formation of adherens junctions during early embryo development (16). We have shown that E-cadherin protein is expressed throughout late 8 cell stage to fully expanded blastocyst. Indeed, it has been demonstrated that E-cadherin adhesion occurs during the 8 cell stage, and is present on the entire surface of the blastomeres plasma membrane. During compaction, E-cadherin mediated adhesion is redistributed and this molecule's presence is removed from apical membrane sites of the peripheral blastomeres (10, 16). Compatible with this study, we observed E-cadherin is localized at membrane domains between adjacent cells but not apical sites of the peripheral blastomeres. After compaction, we could not detect any staining on the outer surface of the embryo while E-cadherin became concentrated in cell-cell contact membrane regions. This shows us that E-cadherin plays a role on compaction process. It has been known that E-cadherin null embryos compact normally cause of the maternal E-cadherin provided stores but fail to form trophectoderm cell layer. E cadherin -/- embryos show morphological defects, which indicates that TE formation is affected by the absence of this protein. (5, 11, 14). Studies also revealed that embryos lacking both maternal and zygotic E-cadherin fail to compact. Stephenson et al., determined lack of E-cadherin effect normal segregation of apical and basolateral region fail to form an organized outer polar epithelium which it will effects to form organized blastocyst afterwards (1, 15). In addition, E-cadherin null embryos could not hatch from zona pellucida, but hatching is an essential process for implantation of the embryo (14). We also observed membrane staining on cell-cell contact regions in E 3.5 and E 4.5 blastocyst stage, suggesting that this molecule has important roles on blastocyst formation. Studies also revealed that lack of E-cadherin expression causes defective adherens junctions which has essential roles on TE formation (9). E-cadherin adhesion contributes to trophectoderm epithelial differentiation and implantation process (4, 12).

Our results demonstrate and support the knowledge on expression and distribution of E-cadherin, which is the most important cell adhesion protein in preimplantation embryo development. We have shown that E-cadherin is expressed throughout the late 8 cell to fully expanded blastocysts. Our data suggested that E-cadherin has critical

roles on morphogenetic events, including compaction and trophectoderm epithelium formation in early embryo development.

## References

1. De Vries, WN, Evsikov AV, Haac BE, Fancher KS, Holbrook AE, Kemler R, Solter D, Knowles BB (2004): *Maternal beta-catenin and Ecadherin in mouse development*. Development, **131**, 4435-4445.
2. Eckert JJ, Fleming TP (2008): Tight junction biogenesis during early development. Biochim Biophys Acta, **1778(3)**, 717-28.
3. Fleming TP, Sheth B, Fesenko I (2001): *Cell adhesion in the preimplantation mammalian embryo and its role in trophectoderm differentiation and blastocyst morphogenesis*. Front Biosci, **6**, D1000-7.
4. Johnson MH, Maro B, Takeichi M (1986): *The role of cell adhesion in the synchronisation and orientation of polarization in 8-cell mouse blastomeres*. J Embryol Exp Morphol, **93**, 239-255.
5. Larue L, Ohsugi M, Hirchenhain J, Kemler R (1994): *Ecadherin null mutant embryos fail to form a trophectoderm epithelium*. Proc. Natl Acad. Sci. USA, **91**, 8263-8267.
6. Mihajlović AI, Bruce AW (2017): *The first cell-fate decision of mouse preimplantation embryo development: integrating cell position and polarity*. Open Biol, **7(11)**, pii: 170210. 70210.
7. Mutluay D (2016): *Distribution of primitive endoderm and epiblast lineage specific factors in late stage blastocysts*. Slov Vet Res, **53 (4)**, 211-7
8. Mutluay D, Oner H (2017): *The Abelson tyrosine kinase (c-Abl) localization in preimplantation mouse development*. Rom J Morphol Embryol, **58**, 1385-1391.
9. Niessen CM, Gottardi CJ (2008): *Molecular components of the adherens junction*. Biochim Biophys Acta, **1778(3)**, 562-71.
10. Ohsugi M, Hwang SY, Butz S, Knowles BB, Solter D, Kemler R (1996): *Expression and cell membrane localization of catenins during mouse preimplantation development*. Dev Dyn, **206(4)**, 391-402.
11. Ohsugi M, Larue L, Schwarz H, Kemler R (1997): *Cell-junctional and cytoskeletal organization in mouse blastocysts lacking E-cadherin*. Dev Biol, **185(2)**, 261-71.
12. Paria BC, Zhao X, Das SK, Dey SK, Yoshinaga K (1999): *Zonula occludens-1 and E-cadherin are coordinately expressed in the mouse uterus with the initiation of implantation and decidualization*. Dev Biol, **208(2)**, 488-501.
13. Piliszek A, Grabarek JB, Frankenberg SR, Plusa B (2016): *Cell fate in animal and human blastocysts and the determination of viability*. Mol Hum Reprod, **22(10)**, 681-690.
14. Riethmacher D, Brinkmann V, Birchmeier C (1995): *A targeted mutation in the mouse E-cadherin gene results in defective preimplantation development*. Proc. Natl Acad. Sci. USA, **92**, 855-859.
15. Stephenson RO, Yamanaka Y, Rossant J (2010): *Disorganized epithelial polarity and excess trophectoderm cell fate in preimplantation embryos lacking E-cadherin*. Development, **137(20)**, 3383-91.
16. Vestweber D, Gossler A, Boller K, Kemler R (1987): *Expression and distribution of cell adhesion molecule uvomorulin in mouse preimplantation embryos*. Dev Biol, **124(2)**, 451-6.
17. Yamanaka Y, Ralston A, Stephenson RO, Rossant J (2006): *Cell and molecular regulation of the mouse blastocyst*. Dev Dyn, **235(9)**, 2301-14.



DOI: 10.33188/vetheder.554162

Araştırma Makalesi / Research Article

## The validity and reliability study for evaluation of factors affecting workplace satisfaction of academic staff: faculty of veterinary medicine

**Mustafa Agah TEKİNDAL<sup>1, a\*</sup>, Mehmet Emin TEKİN<sup>1, b</sup>, Mustafa Bahadır ÇEVİRİMLİ<sup>2, c</sup>, Gökhan ASLİM<sup>3, d</sup>, Burak MAT<sup>2, e</sup>, Aytekin GÜNLÜ<sup>2, f</sup>, Aşkın YAŞAR<sup>3, g</sup>**

<sup>1</sup> Selcuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Biostatistics Konya, Turkey

<sup>2</sup> Selcuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Livestock Economics and Management Konya, Turkey

<sup>3</sup> Selcuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of History of Veterinary Medicine and Deontology Konya, Turkey

ORCID: 0000-0002-4060-7048<sup>a</sup>; 0000-0002-3449-9984<sup>b</sup>; 0000-0001-5888-242X<sup>c</sup>; 0000-0001-5976-8186<sup>d</sup>; 0000-0002-0455-8736<sup>e</sup>; 0000-0002-1989-8119<sup>f</sup>; 0000-0001-8641-6207<sup>g</sup>

### MAKALE BİLGİSİ:

#### ARTICLE

#### INFORMATION:

#### Geliş / Received:

15 Nisan 2019

15 April 2019

#### Kabul / Accepted:

08 Ekim 2019

08 October 2019

#### Anahtar Sözcükler:

Akademisyen

Geçerlilik

Güvenirlik

Medonalds  $\omega$

memnuniyet ölçeği

#### Keywords:

McDonalds  $\omega$

Reliability

satisfaction

Scale for academic

Validity

### ABSTRACT:

The present study is intended to identify the factors affecting the workplace satisfaction of the academic staff at a faculty of veterinary medicine. Additionally, it aims to develop a scale for evaluating the workplace satisfaction of the faculty members at the veterinary faculty (Job Satisfaction Evaluation Scale for Academic Staff). Eighty-eight members of the academic staff serving at Selçuk University Faculty of veterinary medicine participated in the study. For construct validity, Cronbach's alpha ( $\alpha$ ) and McDonald's omega ( $\omega$ ) tests were conducted in the reliability analyses. Factor analysis was conducted for analysis of validity. A scale was developed, consisting of 4 factors and 26 items in total. The socio-demographic variables affecting the factors and the total scores that can be obtained from a form for which a reliability and validity study has been conducted may vary even among the departments/faculties in the same university. As a recommendation, similar studies can be conducted annually in several universities across the country using scales whose validity and reliability have been confirmed, as a result of which the universities can identify their strengths and weaknesses according to some factors, and administrators of the universities can consider such results when making decisions for improvement and development of the universities. Implementation of improvement measures will directly or indirectly contribute to the development of countries and the welfare of society.

## ***Akademik personelin işyerinde memnuniyetini etkileyen faktörleri ölçüği geçerlik ve güvenirlik çalışması: veteriner fakültesi örneği***

### ÖZET:

Bu çalışma ile veteriner fakültesinde görev yapan akademik personelin iş ortamında memnuniyetine etkili faktörlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. Buna ilaveten veteriner fakültesi öğretim elemanlarının iş ortamından memnuniyetini değerlendirmesini mümkün kıلان bir ölçegin (Akademik Personel İş Memnuniyeti Değerlendirme Ölçeği) geliştirilmesi hedeflenmiştir. Çalışmaya Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi bünyesinde görev yapan 88 akademik personel katılmıştır. Yapı geçerliliği için; güvenirlik analizlerinde Cronbach alfa ( $\alpha$ ) ve McDonald's  $\omega$  katsayıları kullanılmıştır. Geçerlik analizi için faktör analizi uygulanmıştır. Çalışmadan faktör analizi sonucunda 26 maddeden oluşan 4 alt faktörlü bir ölçek geliştirilmiştir. Güvenirlik ve geçerlik çalışması yapılmış bir formdan elde edilecek toplam puanlamalar ve alt faktörleri etkileyen sosyo-demografik değişkenler aynı üniversitesi bünyesinde bile birimler itibarıyle farklılık gösteremektedir. Öneri olarak geçerlik ve güvenirliği sağlanmış fakülte özellinden geliştirilmiş ölçeklerle ülke çapında üniversiteler bünyesinde yıllık benzer çalışmalar yaptırılması neticesinde üniversiteler kendi içinde bir takım alt faktörler itibarıyle güçlü ve zayıf yönlerini tespit edebilecek, elde edilecek sonuçlar üniversitelerde bir takım iyileşme ve gelişmeye yönünde alınacak kararlarda yöneticilere fikir verici nitelikte olabilecektir. İyileştirici tedbirlerin hayatı geçirilmesi dolaylı veya direk olarak ülkemlerin gelişmesine ve toplumun refahının iyileşmesine de katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**How to cite this article:** Tekindal MA, Tekin ME, Çevrimli MB, Aslim G, Mat B, Günlü A, Yaşar A: The validity and reliability study for evaluation of factors affecting workplace satisfaction of academic staff: faculty of veterinary medicine. *Veteriner Hekimler Dergisi*, 91(1): 15-24, 2020, DOI: 10.33188/vetheder.554162

\* Sorumlu yazar eposta adresi /Corresponding author e-mail address: matekindal@gmail.com

## 1. Introduction

Employee satisfaction should be addressed as a crucial issue that affects employees and employers in both the public and the private sectors (21). Additionally, if employees are satisfied with their job at an expected level, their quality of life is improved, which contributes to the enhancement of their organisation's performance (21, 24). There is abundant research on the factors affecting job satisfaction. While such studies have some common factors affecting job satisfaction, there is no standardised factor classification. Factors affecting job satisfaction that are addressed in various studies include wage, promotion status, benefit from the job, workplace conditions, relationships with colleagues, management's attitude, mode of supervision, rewarding, and development opportunities (13, 19, 22, 24, 25).

Specifically for academic staff, the factors that may affect workplace satisfaction differ from those in other workplaces. The differences include an academic incentive, cooperation/solidarity between employees, job satisfaction, satisfaction from administrative activities, positive attitude and behaviour of the management, and communication with other units (2).

As employees' workplace environment and the quality and quantity of the tasks carried out by them differ from each other, the conducting of such type of studies at the level of workplace environment of relevant organisations will allow study results to be more reliable and valid. Similar measurements carried out on different samples may give different results. Considering the abovementioned reasons, the present study was conducted on academic staff, with a focus on evaluating/identifying the factors affecting their level of workplace satisfaction.

## 2. Material and Methods

Delphi method was employed during the development of the data collection form. Delphi Technique: It is the process of obtaining the common opinions of a selected expert group on a subject with a rational approach. The evaluation forms that had been regularly distributed to academic staff every year were compiled, and a 52-question form was developed for evaluation of academic staff's workplace satisfaction in collaboration with the academic staff serving in such evaluation commissions in Selçuk University Faculty of veterinary medicine.

Eighty-eight members serving in the veterinary faculty in the academic year 2017-2018 participated in the study.

Internal consistency method was used for reliability and criterion validity methods were used for validity.

For construct validity, Cronbach's alpha ( $\alpha$ ) and McDonald's omega ( $\omega$ ) tests were conducted in the reliability analyses. Factor analysis was conducted for analysis of validity. Fitness for factor analysis was checked by Bartlett's sphericity test and adequacy of the sample size by Kaiser-Meyer-Olkin test. The scale items were determined in a construct composed of four factors by Quartimax rotation method. Quartimax rotation is an orthogonal alternative that minimizes the number of factors needed to explain each variable. Such rotation is often a general factor in which most of the variables are loaded high or medium. The additivity of the scales was checked by Tukey's test of additivity. The data were evaluated via SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.).  $p<0.05$  and  $p<0.01$  were taken as significance levels.

## 3. Results

Validity and reliability are indicators of usability of the measurement tool. Validity is the degree to which the measurement tool accurately measures what it is intended to measure and serves the purpose for which it was developed. The validity of scales is usually composed of two types of validity evidence: construct validity and content validity (9). For the content validity of the Turkish version of the scale, the opinions of experts specialised in this field need to be considered as well as reviewing the statement of the items, content details and fitness of the scale for the area of research. Upon such reviews, the content validity of the scale should be high enough to represent all facets of the construct. In order to measure content validity, the scale is submitted to experts specialised in the relevant field for evaluation and, as appropriate, revised according to the results of the evaluation (20). The agreement of the experts in relation to the applicability and intelligibility of the items is a criterion for the content validity of the scale (15).

**Tablo 1.** Faktör Yüklerinin Kareler Toplami**Table 1.** Sum of Squared Factor Loadings

Factor	Rotation Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %
1	4.73	18.21	18.21
2	3.54	13.61	31.82
3	3.15	12.11	43.93
4	2.55	9.79	53.73

Kaiser-Meyer-Olkin Sample Adequacy=0.774

Bartlett's sphericity test chi-square statistic=1012.414

Degree of freedom 325 p=0.0001

Considering the total explained variance in Table 1, there are four factors for 26 out of 52 items that have an item-total correlation below 0.20, and 53.73% of what is measured by this 4-factor measurement tool is measured. The construct validity measured by the factor analysis method is defined as the degree of accuracy of the evidence for the theoretical construct that is intended to be measured (3, 11). Before the factor analysis, a KMO value below indicates the sample size is not adequate, while a KMO value between 0.60 and 0.69 indicates the sample size is fine. Additionally, the result of Bartlett's sphericity test should be statistically significant to check for the adequacy of the sample size (16, 17). In the present study, the KMO value was found to be 0.70 and Bartlett's test sphericity chi-square statistic was found to be  $\chi^2 = 1012.414$ . This result was found to be statistically significant ( $p < 0.01$ ). Therefore, it can be said that these data are suitable for factor analysis ( $p < 0.05$ ). Overall, the measurement tool has construct validity according to the results of the factor analysis. The values obtained in the study indicate that the sample is adequate for factor analysis. In order to measure the validity of the scale, factor analysis was conducted on the data collected by the items in the questionnaire using the Quartimax method, the results of which are given in Tables 2 and 3.

**Tablo 2:** Tukey Toplanabilirlik Testi**Table 2:** Tukey's Test of Additivity

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Between People		264.831	85	3.116		
Within People	Between Items	244.240	51	4.789	11.540	.001
	Residual	Nonadditivity	6.176	1	6.176	14.931
		Balance	1792.795	4334	.414	
		Total	1798.971	4335	.415	
	Total		2043.212	4386	.466	
Total		2308.043	4471		.516	

Tukey's test of additivity was conducted to obtain a total score for the scale by adding the scores for the items, as shown in Table 2. The results of the test of additivity indicate that the scale is suitable for obtaining a total score by adding the scores for the items, as the level of significance is  $p < 0.05$ .

**Table 3:** Faktörlere göre belirlenmiş faktör yükleri**Table 3: Factor loadings**

Item No.	Job Satisfaction Evaluation Scale for Academic Staff	Adequacy of School Infrastructure	Management	Social Opportunities	Courses/Education
1	The number of courses in our school is adequate for veterinary education.	0.515			
2	The laboratories in our school are adequate for veterinary education.	0.510			
3	The classrooms at our school are adequate for veterinary education.	0.484			
4	The internship programme for our students is satisfactory.	0.557			
7	Senior students in our school are sufficiently qualified.	0.598			
10	The number of academic staff in your department is adequate.	0.732			
11	The infrastructure of your department is satisfactory.	0.707			
12	The number of publications at the national level in your department is sufficient.	0.588			
13	The number of publications at international level in your department is sufficient.	0.693			
14	The communication between the members of the academic staff in your department is satisfactory.	0.636			
15	The cooperation between your department and other units is satisfactory.	0.703			
23	The level of communication between the school and the local community (residents of Konya) is satisfactory.			0.690	
24	The communication between the school and professional bodies (chambers, associations, societies, foundations) is satisfactory.			0.580	
26	The social activities carried out are satisfactory.			0.518	
28	Green and landscaped spaces and parks are satisfactory.			0.722	
29	The school's car parks are satisfactory.			0.784	
32	The webpage of our school is satisfactory.			0.586	
37	The curriculum of our school is intensive.				0.572
38	The number of elective courses in our school should be increased.				0.794
39	It is appropriate if the students evaluate the academic staff and the courses.				0.510
41	The management has taken the necessary action to attain the objectives regarding accreditation.		0.605		
42	The management does not discriminate between academic staff and/or units.		0.662		
43	The management is sufficient deals with the problems of the academic staff.		0.776		
44	Academic tenures are granted objectively.		0.638		
46	Infrastructure allocations and budget allowances are granted to the units objectively and/or realistically.		0.751		
48	The rate of development of our school has been good in recent years.		0.618		

The items no. 5, 6, 8, 9, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 25, 27, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 40, 45, 47, 49, 50, 51 and 52 were removed from the scale, as their factor loadings were low.

Factors shown in Table 3 are as follows:

Factor 1 (Adequacy of School Infrastructure): Items no. 1, 2, 4, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15

Factor 2 (Management): Items no. 23, 24, 26, 28, 29, 32

Factor 3 (Social Opportunities): Items no. 37, 38, 39

Factor 4 (Courses/Education): Items no. 41, 42, 43, 44, 46, 48 Each factor was named taking into account the items gathered under the factors.

**Table 4:** Faktör analizi uyum iyiliği tablosu

*Table 4: Goodness of fit in item factor analysis*

RMSEA 90% CI							
CFI	TLI	RMSEA	Lower	Upper	$\chi^2$	df	p
0.268	0.238	0.122	0.116	0.127	2.894	1274	<.001

Table 4 illustrates the goodness of fit indices of the model developed for the sample. A  $\chi^2/df$  value below 3, a TLI value of 0.238, a CFI value of 0.268 and a RMSEA value of 0.112 indicate that the model's fit is good.

The second important feature that a measurement tool is supposed to have is reliability. A reliable measurement tool gives approximately the same numerical results in the measurements carried out successively about the same property. When a group takes a reliable test two or three times, each person in the group should get roughly the same score in all of them (14).

In a sense, reliability is a part of validity. A test needs to measure a property consistently so that it can measure it accurately. However, reliability does not guarantee validity. An exceptionally reliable test may have a very low level of validity for the purpose for which it is used (14).

To measure the reliability of Likert-type scales, Cronbach's alpha and McDonald's omega tests are recommended. Cronbach's alpha and McDonald's omega are a measure of internal consistency of the items in the measurement tool (10). For a measurement tool to be considered sufficient, it needs to have a reliability coefficient that is close to 1. If the Cronbach's alpha coefficient is below 0.40, the measurement tool is considered unreliable. If the coefficient is between 0.40 and 0.59, the tool has low reliability. A Cronbach's alpha coefficient between 0.60 and 0.79 indicates that the measurement tool is quite reliable. If the coefficient is between 0.80 and 1.00, the tool is considered highly reliable (14). In order to test internal consistency, Cronbach's alpha coefficient of the Job Satisfaction Evaluation Scale for Academic Staff was calculated. Cronbach's alpha coefficient was found to be 0.882, and McDonald's omega coefficient was calculated to be 0.883. Accordingly, Table 5 shows that the internal consistency/reliability of the scale is high.

**Table 5:** Ölçeğin toplam güvenilirlik katsayısı Akademik Personel İş Memnuniyeti Değerlendirme Ölçeği

*Table 5: The total reliability coefficient of the Job Satisfaction Evaluation Scale for Academic Staff*

	Cronbach's $\alpha$	McDonald's $\omega$
Job Satisfaction Evaluation Scale for Academic Staff	0.806	0.842

**Tablo 6:** Ölçeğin soru bazlı güvenilirlik katsayıları ve madde toplam korelasyonları**Table 6:** Item-based reliability coefficients and item-total correlations of the scale

		item-rest correlation	Cronbach's $\alpha$	McDonald's $\omega$	if item dropped
1		0.32638	0.880	0.881	
2		0.48762	0.878	0.879	
3		0.21412	0.883	0.884	
4		0.30685	0.881	0.881	
7		0.23876	0.882	0.882	
10		0.47721	0.878	0.879	
11		0.31373	0.881	0.881	
12		0.49006	0.878	0.879	
13		0.64556	0.875	0.876	
14		0.57295	0.876	0.877	
15		0.36636	0.880	0.880	
23		0.69807	0.874	0.875	
24		0.61188	0.876	0.877	
26		0.71651	0.875	0.875	
28		0.29808	0.881	0.881	
29		0.52722	0.878	0.878	
32		0.30635	0.881	0.881	
37		0.39963	0.882	0.883	
38		0.28745	0.881	0.881	
39		0.29264	0.882	0.883	
41		0.38878	0.879	0.880	
42		0.33498	0.880	0.881	
43		0.45899	0.878	0.879	
44		0.21712	0.882	0.882	
46		0.29591	0.881	0.881	
48		0.25240	0.885	0.885	

The reliability coefficient is calculated as an analysis method that establishes the extent to which the items constituting the measurement tool are related to the entire measurement tool and is commonly used for selecting items (1, 4, 5, 6, 7, 10). Item-total score analysis is conducted to measure the construct validity and construct reliability of scales. Item-total score correlation coefficients explain the relationship between the scores for the test items and the total score of the test. A positive and high item-total score correlation implies that the items sample similar behaviour and that the test's internal consistency is high. In a test where Likert-type rating scales are used, the item-total score correlation is calculated using the correlation coefficient (10). A high correlation coefficient for an item suggests that the connection of that item to the theoretical construct is high, meaning that the item can effectively and sufficiently measure the behaviour that is intended to be measured (23). For item selection, it is recommended that the correlation coefficient be higher than 0.20 or even 0.25. It is noted that items with a correlation coefficient between 0.20 and 0.30 can be included in the test if deemed necessary, probably after making some revisions to those items, but items with a correlation coefficient below 0.20 should never be included in the test. Generally speaking, items with an item-total score correlation coefficient of 0.30 and above distinguish individuals well (5).

According to the literature, items with a factor loading below 0.20 should be removed from the scale (23). Twenty-six items were found to have a factor loading below 0.20 and thus were removed from the scale.

In this case, the scale can be used to determine the satisfaction of academic staff in other faculties on the basis of the selected factors and the reverse-scoring items.

#### 4. Discussion and Conclusion

The findings of the study suggest that the Job Satisfaction Evaluation Scale for Academic Staff is reliable and valid for academics serving in Faculty of veterinary medicine and can be used to evaluate their satisfaction regarding their workplace environment. The four factors in the scale contain a total of 26 items. In another study, a scale named Academic Environment Evaluation Scale was developed to determine the level of job satisfaction of academics from various faculties of Pamukkale University, and a reliability and validity study was conducted for this purpose. Three factors containing a total of 27 items were included in the scale, and it was found that the academics had the highest satisfaction from communication with students and the lowest satisfaction from their working conditions (8). Additionally, in a study conducted regarding job satisfaction of lecturers from various faculties of Mehmet Akif Ersoy University, an 18-item scale containing four factors was developed. The factors were named perceived organisational support, job satisfaction, extra-role behaviour and cooperation environment. Based on the findings, it was recommended that lecturers socialise more and have good relationships with the management to increase their job satisfaction. The explained variance and KMO value of the scale developed for that study are 74.632 and 0.926, respectively., which are higher than the values in our study (2). The large sample size and the fact that the study was conducted across all faculties must be the underlying reasons why the factor loadings and the explained variance are high.

Another study conducted across eight public universities in Turkey found that the most important factor for job satisfaction of academics was their opportunity to make decisions freely (18). A wide range of studies conducted to identify the factors affecting job satisfaction of academics are available in the literature. The factors affecting job satisfaction vary even among different faculties in the same university where such studies were conducted. The socio-demographic variables affecting the factors and the total scores that can be obtained from a form for which a reliability and validity study has been conducted may vary even among the departments/faculties in the same university. For such reasons, more reliable information can be obtained if such type of studies are applied as a common measurement tool across all veterinary faculties in Turkey.

The mission of the European Association of Establishments for Veterinary Education (EAEVE) is to evaluate, promote and further develop the quality and standard of veterinary medical establishments and their teaching within, but not limited to, the member states of the European Union (12). Established in 2010 in Turkey, "*the Association for the Evaluation and Accreditation of Veterinary Institutes and Programmes (VEDEK) is a non-governmental organisation committed to contributing to raising the quality of veterinary training in Turkey by carrying out accreditation, evaluation and informing activities for veterinary training institutions and programmes*". Similar studies can be conducted annually in all veterinary faculties across the country using scales whose validity and reliability have been confirmed, as a result of which the universities can identify their strengths and weaknesses according to the factor scores of academics, and thus administrators of the universities can consider such results when making decisions for improvement and development of the faculties and universities in line with the missions of the EAEVE and VEDEK. Mainly, this will enable common assessments to be made in the meetings of VEDEK and similar commission in Turkey as well as allowing common decisions to be made to take measures in an effort to make collective improvements.

In conclusion, the measurement of the level of job satisfaction of academics in universities, the major institutions that generate knowledge, and the implementation of measures for improving their satisfaction will directly or indirectly contribute to the development of countries and enhancement of social welfare.

## References

1. Allen MJ, Yen WM (2002): *Introduction to measurement theory*. Long Grove, IL: Waveland Press.
2. Alparslan AM (2014): The antecedent of Job Satisfaction, Satisfaction From The University And Extra-Role Behavior: A Survey. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, **6(11)**, 82-101.
3. Balci A (1995): *Sosyal Bilimlerde Araştırma Yöntem, Teknik ve İlkeler*. Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Fakültesi, Ankara, Türkiye.
4. Bland JM, Altman DG (1997): Statistics notes: Cronbach's alpha. *BMJ*, **314 (7080)**, 572.
5. Bonett DG (2002): Sample size requirements for testing and estimating coefficient alpha. *Journal of Educational and Behavioral Statistics*, **27**, 335–340. doi:10.3102/10769986027004335.
6. Bonett DG (2003): Sample size requirements for comparing two alpha reliability coefficients. *Applied Psychological Measurement*, **27**, 72–74. doi:10.1177/0146621602239477.
7. Bonett DG (2010): Varying coefficient meta-analytic methods for alpha reliability. *Psychological Methods*, **15**, 368–385. doi:10.1037/a0020142. PMID 20853952.
8. Buluş M (2004): Pamukkale Üniversitesi öğretim elemanlarında akademik ortam düzeyi. *Pamukkale Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, **16 (16)**, 1-7.
9. Büyüköztürk Ş (2007): *Sosyal Bilimler İçin Veri El Kitabı, İstatistik, Araştırma Deseni, SPSS Uygulamaları ve Yorum*. Pegem Yayıncılık, Ankara, Türkiye.
10. Cronbach LJ, Shavelson RJ (2004): My current thoughts on coefficient alpha and successor procedures. *Educational and Psychological Measurement*, **64 (3)**, 391–418. doi:10.1177/0013164404266386.
11. Dempsey PA, Dempsey AD (2000): *Using nursing research process, critical evaluation and utilization*. 5th Edition, Lippincott, Philadelphia-New York.
12. EAEVE (2019): *European Association of Establishments for Veterinary Education*. Erişim: <https://www.eaeve.org/> Erişim tarihi: 18.02.2019
13. Erdoğan İ (1996): *İşletme Yönetiminde ÖrgütSEL Davranış*. Avcıoğlu Basım Yayımları, İstanbul, Türkiye.
14. Field A (2005). *Discovering statistics using SPSS*. 2nd ed. London Sage.
15. Gözüm S, Aksayan S (2003): Kültürler arası ölçek uyarlaması için rehber II: psikometrik özellikler ve kültürlerarası karşılaştırma. *Hemşirelikte Araştırma Geliştirme Dergisi*, **4**, 9-14.
16. Kaiser H (1974): An index of factor simplicity. *Psychometrika*, **39**, 31–36.
17. Kaiser HF (1958): The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. *Psychometrika*, **23**, 187.
18. Karaman F, Altunoğlu AE (2007): Kamu üniversiteleri öğretim elemanlarının iş tatmini düzeyini etkileyen faktörler. *Yönetim ve Ekonomi: Celal Bayar Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, **14**, 109-120.
19. Locke EA, Latham GP (1990): Work motivation and satisfaction: Light at the end of the tunnel. *Psychological science*, **1(4)**, 240-246.
20. Özgüven İE (1999): *Psikolojik testler*. 3. baskı, PDREM yayınları, Ankara, Türkiye.
21. Paksoy HM (2007): Üniversitelerde akademik personelin iş memnuniyeti: Harran üniversitesi örneği. *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Sosyal ve Ekonomik Araştırmalar Dergisi*, **2007(1)**, 138-151.
22. Tengilimoğlu D (2005): Hizmet işletmelerinde liderlik davranışları ile iş doyumu arasındaki ilişkinin belirlenmesine yönelik bir araştırma. *Ticaret ve Turizm Fakültesi Dergisi*, **1**, 23-45.
23. Tezbaşaran A (1997): *Likert tipi ölçek geliştirme klavuzu*. 2. Baskı. Türk Psikologlar Derneği Yayınları, Ankara, Türkiye.
24. Tuzcu MA (2016): Ankara Üniversitesi Tömer'de çalışan akademik ve idari personelin iş tatmin düzeyinin ve iş tatminine etki eden faktörlerin belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi SBF Dergisi*, **71(1)**, 161-197.
25. Ulusoy T (1993): *İşletmelerde İş Tatmini ve Karşılaştırmalı Bir Uygulama Araştırması*. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, İstanbul, 15-29.
26. VEDEK (2019): *Veteriner Hekimleri Eğitim Kurumları ve Programları Değerlendirme ve Akreditasyon Derneği*. Erişim: [http://www.vedek.org.tr/index.php?option=com\\_content&view=article&id=49&Itemid=56&lang=tr](http://www.vedek.org.tr/index.php?option=com_content&view=article&id=49&Itemid=56&lang=tr) Erişim tarihi: 18.02.2019

**Annex:**

The questionnaire form is containing all questions:

No.		Strongly disagree	Disagree	Not sure	Agree	Strongly agree
1	The number of courses in our school is adequate for veterinary education.					
2	The laboratories in our school are adequate for veterinary education.					
3	The classrooms at our school are adequate for veterinary education.					
4	The internship programme for our students is satisfactory.					
5	Your communication with your students is satisfactory.					
6	Students in our school have a satisfactory level.					
7	Senior students in our school are sufficiently qualified.					
8	The quality of education delivered in our school is satisfactory.					
9	The number of technical and/or administrative staff in your department is adequate.					
10	The number of academic staff in your department is adequate.					
11	The infrastructure of your department is satisfactory.					
12	The number of publications at the national level in your department is sufficient.					
13	The number of publications at international level in your department is sufficient.					
14	The communication between the members of the academic staff in your department is satisfactory.					
15	The cooperation between your department and other units is satisfactory.					
16	The quality of education delivered to your department is satisfactory.					
17	The academic cooperation between the units in our school is satisfactory.					
18	The communication between the members of the academic staff in our school is satisfactory.					
19	The quality of education delivered in our school is satisfactory.					
20	The quantity and quality of scientific publications by our school are satisfactory.					
21	Our school's relations at the international level are satisfactory.					
22	Your communication with your administrators in our school is satisfactory.					
23	The level of communication between the school and the local community (residents of Konya) is satisfactory.					
24	The communication between the school and professional bodies (chambers, associations, societies, foundations) is satisfactory.					
25	The educational infrastructure of our school is satisfactory.					
26	The social activities carried out are satisfactory.					
27	The scientific activities carried out are satisfactory.					
28	Green and landscaped spaces and parks are satisfactory.					
29	The school's car parks are satisfactory.					
30	The security of our school is satisfactory.					
31	The Internet service in our school is satisfactory.					
32	The webpage of our school is satisfactory.					

No.		Strongly disagree	Disagree	Not sure	Agree	Strongly agree
33	The automation service in our school is satisfactory.					
34	The health services provided by the clinics in our school are satisfactory.					
35	In general, the management's performance is satisfactory.					
36	The number of courses in our school should be reduced.					
37	The curriculum of our school is intensive.					
38	The number of elective courses in our school should be increased.					
39	It is appropriate if the students evaluate the academic staff and the courses.					
40	Accreditation efforts contribute to the development of our school.					
41	The management has taken the necessary action to attain the objectives regarding accreditation.					
42	The management does not discriminate between academic staff and/or units.					
43	The management is sufficiently dealing with the problems of the academic staff.					
44	Academic tenures are granted objectively.					
45	I think the administrative staff is satisfactory.					
46	Infrastructure allocations and budget allowances are granted to the units objectively and/or realistically.					
47	In general, I am satisfied with the services by the administrative staff.					
48	The rate of development of our school has been good in recent years.					
49	A preparatory class for teaching a foreign language is useful in the medium- and/or long-term.					
50	I am in favour of teaching a certain portion of courses in English.					
51	I am in favour of offering the internship programme for two semesters.					
52	I am in favour of conducting distributing questionnaires to academics, administrative staff, students and graduates.					



DOI: 10.33188/vetheder.557918

**Araştırma Makalesi / Research Article**

## **Investigation of boron effect on trace elements and antioxidant capacity in paracetamol-induced nephrotoxicity model\*\***

**Ecem ÖZKAN<sup>1, a\*</sup>, Funda KARABAĞ ÇOBAN<sup>2, b</sup>**

<sup>1</sup> The Graduate School of Natural and Applied Sciences, Usak University, Department of Molecular Biology and Genetics, Usak, Turkey

<sup>2</sup> Uşak University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Molecular Biology and Genetics, Biotechnology, Usak, Turkey

ORCID: 0000-0002-1565-3210<sup>a</sup>; 0000-0001-6048-9002<sup>b</sup>

### MAKALE BİLGİSİ:

#### ARTICLE

#### INFORMATION:

#### Geliş / Received:

25 Nisan 19

25 April 19

#### Kabul / Accepted:

08 Ekim 19

08 October 19

### ABSTRACT:

In this study, the effect of boron on the trace element and antioxidant capacity in paracetamol induced nephrotoxicity model was investigated. The main hypothesis on which the study is based has a unique value in terms of showing whether the antioxidant activity of boron has an effect on the trace elements and antioxidant capacity in our body. In the study, 56 albino Wistar rats were divided into 7 groups: Group 1 (Control); Group 2 (Paracetamol); Group 3 (Paracetamol + 50 mg/kg boron); Group 4 (Paracetamol + 100 mg/kg boron); Group 5 (Paracetamol + 200 mg/kg boron); Group 6 (Paracetamol + 140 mg/kg NAC); Group 7 (200 mg/kg boron). At the end of the research, tissue samples taken from rats were used for trace element analysis (Magnesium (Mg), Manganese (Mn), Cobalt (Co), Copper (Cu), Zinc (Zn), Selenium (Se), Malondialdehyde (MDA), total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), superoxide dismutase activity (SOD), catalase activity (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) analyses. Likewise, blood samples taken from the hearts of rats were examined for creatinine blood urea nitrogen (BUN) analyses. As a result of the findings, this study suggests that the boron may have antioxidant properties and may have a protective effect on trace elements and antioxidant capacity in paracetamol-induced nephrotoxicity.

#### Keywords:

Boron

Nephrotoxicity

Paracetamol

Rat

Trace element

#### Anahtar Sözcükler:

Bor

Eser element

Nefrotoksitesi

Parasetamol

Sığan

## **Ratlarda parasetamol ile indüklenen nefrotoksitesi modelinde eser elementler ve antioksidan kapasite üzerinde borun etkisinin araştırılması**

### Özet

Bu çalışmada, parasetamol ile indüklenen nefrotoksitesi modelinde borun eser element ve antioksidan kapasiteye etkisi araştırıldı. Çalışmanın amacı, borun antioksidan aktivitesinin, eser elementler ve vücutumuzdaki antioksidan kapasiteye etkisi olup olmadığını gösterme açısından benzersiz bir değere sahiptir. Çalışmada 56 albino Wistar rat 7 gruba ayrıldı: Grup 1 (Kontrol); Grup 2 (Parasetamol); Grup 3 (Parasetamol + 50 mg / kg bor); Grup 4 (Parasetamol + 100 mg / kg bor); Grup 5 (Parasetamol + 200 mg / kg bor); Grup 6 (Parasetamol + 140 mg / kg N-Asetilsistein (NAC)); Grup 7 (200 mg / kg bor). Araştırma sonunda, sığanlardan alınan doku örnekleri iz element analizi için kullanılmıştır (Magnezyum (Mg), Manganez (Mn), Kobalt (Co), Bakır (Cu), Cinko (Zn), Selenyum (Se), Malondialdehit (MDA), toplam antioksidan durumu (TAS), toplam oksidan durumu (TOS), süperoksit dismutaz aktivitesi (SOD), katalaz aktivitesi (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) analizleri). Aynı şekilde, sığanların kalbinden alınan kan örnekleri de kreatininin kan üre azotu (BUN) analizleri için incelendi. Bulgular sonucunda bu çalışma, borun antioksidan özelliklere sahip olabileceğini ve parasetamol ile indüklenen nefrotoksiteside iz elementler ve antioksidan kapasite üzerinde koruyucu bir etkisi olabileceğini göstermektedir.

**How to cite this article:** Özkan E, Çoban FK: Investigation of boron effect on trace elements and antioxidant capacity in paracetamol-induced nephrotoxicity model. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 91(1): 25-35, 2020, DOI: 10.33188/vetheder.557918

\* Sorumlu yazar eposta adresi / Corresponding author e-mail address: ecem.ozkan@gmail.com

\*\* This project (Project No: 2017/TP034) was supported by Usak University Scientific Research Projects Coordination Unit.

## 1. Introduction

Paracetamol, one of the family of phenacetin, has been used widely since 1950 as analgesic and antipyretic agents (1). Paracetamol is considered to be a safe drug when taken in therapeutic doses, but overdose causes toxicity. Poisoning with paracetamol may cause liver and kidney toxicity (2). Paracetamol is mainly metabolized to sulphate and glucuronide metabolites. It is normally transformed into the highly reactive N-acetyl-p-benzoquinonimine (NAPQI) metabolite via CYP450. This metabolite is usually stabilized by glutathione (GSH) conjugation and is eliminated via kidney. However, in overdose paracetamol uptake, this mechanism becomes saturated and exceeds the capacity to detoxify NAPQI production. Excess NAPQI causes oxidative stress-related toxicity (3).

Boron is an important nutrient that needs to be taken from outside by the human body because it is needed in small amounts and can not be synthesized in cells. Until 1981, it was thought that boron had no effect on people. Later studies showed that boron is an indispensable element for many treatments and it is effective in oxidant antioxidant balance in the body. Boron increases the amount of glutathione and its derivatives in the body or induces antioxidants against reactive oxygen species and shows protective effect against oxidative damage (4).

This study suggests that the boron may have a protective effect on the trace elements and antioxidant capacity in paracetamol-induced nephrotoxicity and if the data are supported by further research, it is thought that boron will provide a positive contribution to the literature in terms of showing that it may be a new antioxidant agent that can be used in the paracetamol toxicity.

## 2. Material and Methods

### Experimental animals:

56 male, albino, Wistar rats weighing 180 grams to 200 grams rats which were used grown in Afyon Kocatepe University Experimental Animal Research and Application Center were used. One week before starting the experiment, the animals were adapted to the laboratory to prevent them from being affected negatively by stress. The animals were fed with water and feed (ad libitum) for the duration of the experiment and they were housed in normal laboratory temperature (22-24 °C) for 12 h light / dark lighting. All interventions during the study were performed in accordance with the rules declared by Uşak University Local Animal Ethics Committee and with the approval of 2017 / 02-01. Animals were cared for at the Afyon Kocatepe University Experimental Animal Research and Application Center.

### Chemicals used in the experiment:

*Paracetamol:* In the study, a dose of 2 g / kg per paracetamol was prepared in a 1% Carboxy Methyl Cellulose (CMC) solution of Phosphate buffer saline (PBS), corresponding to 2 ml. The prepared suspension was administered orally via the gastric catheter. Paracetamol doses were determined according to the related literature (5,6).

*N-Acetyl Cysteine (NAC):* In the study, 600 mg single tablet NAC (Mentopin, Hermesarzneimittel GmbH, Munich-Germany) prepared in 0.9% NaCl solution was given orally with gavage. NAC is an antidote to paracetamol poisoning due to its ability to increase glutathione available for NAPQI conjugation, and NAC is usually given to patients for the treatment of paracetamol toxicity. NAC group was used as a positive control group.

*Boron application:* Boric acid ( $H_3BO_3$ ) as a boron source was obtained from Tocris (cat no. 3177). Boric acid dissolved in serum physiological was administered to experimental animals by gavage at doses of 50, 100 and 200 mg / kg. Boron doses were determined according to the related literature (7).

*Ketamine and Xylazine:* In the study, animals were given 65 mg / kg ketamine and 7 mg / kg xylazine intraperitoneally for euthanasia.

## **Experimental plan:**

Rats were divided into 7 groups (n=8, for each group) and were subjected to the following experimental protocols.

**Group 1 (Control):** Control group.

**Group 2 (Paracetamol):** 2 g / kg paracetamol was administered orally via gavage.

**Group 3 (Paracetamol + 50 boron):** 2 g / kg of paracetamol and then 50 mg / kg of boric acid were administered orally via gavage.

**Group 4 (Paracetamol + 100 boron):** After administration of 2 g / kg oral paracetamol, 100 mg / kg boric acid was administered orally by gavage.

**Group 5 (Paracetamol + 200 boron):** After administration of 2 g / kg oral paracetamol, 200 mg / kg boric acid was administered orally by gavage.

**Group 6 (Paracetamol + NAC):** After administration of 140 mg / kg oral NAC, 2 g / kg oral paracetamol was administered. NAC application was repeated one hour and 12 hours after paracetamol administration (2 g/kg paracetamol + 140 mg/kg NAC + 2 g/kg paracetamol)

**Group 7 (200 boron):** 200 mg / kg boric acid was administered orally via gavage.

## **Collecting tissue and blood samples:**

The animals were given water and feed until they were saturated during the experiment. After applications, the animals were sacrificed under anesthesia with ketamine (65 mg / kg, i.p) and xylazine (7 mg / kg, i.p) and blood samples were taken from their hearts. At the same time, one of the kidneys of the animals in the whole groups was stored in phosphate buffer at -80°C until analysis time.

Trace element, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), malondialdehyde (MDA), dismutase activity (SOD), catalase activity (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) analyses were performed with tissue samples taken from animals. Blood samples were used for creatinine and blood urea nitrogen (BUN) analyses.

## **Biochemical analyses:**

*Trace element analysis:* Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) (Neslab Thermoflex 2500, Thermoscientific) was used for trace element analysis. The analyzes were carried out at Uşak University Scientific Analysis Technological Application and Research Center. The results were expressed in ppm unit.

*Analysis of total antioxidant status (TAS):* For the TAS analysis, the Rel Assay Diagnostics Total Antioxidant Status Assay Kit (Lot #: DR16069A) was used and the results were obtained by colorimetric method.

*Analysis of total oxidant status (TOS):* The Rel Assay Kit (Lot #: DR16080O) was used for the TOS analysis and the results were obtained by colorimetric method.

*Analysis of malondialdehyde (MDA):* In the acidic medium, thiobarbituric acid (TBA) reacts with MDA at high temperature and pink chromogen is formed. The resulting pink color amounts were read spectrophotometrically at 532 nm. Results were given in nmol / mg protein units.

*Analysis of dismutase activity (SOD):* For the analysis of SOD, an ELISA kit was used using rat specific double antibody sandwich ELISA method. (SunRed Biotechnology Company, Rat (SOD) ELISA Kit, Lot #: 201802). Results were given in ng / ml.

*Analysis of catalase activity (CAT):* For the analysis of CAT, an ELISA kit was used using rat specific double antibody sandwich ELISA method (SunRed Biotechnology Company, Rat (CAT) ELISA Kit, Lot #:201802). Results were given in ng / ml.

*Analysis of glutathione peroxidase (gpX):* For the analysis of GPx, an ELISA kit was used using rat specific double antibody sandwich ELISA method (SunRed Biotechnology Company, Rat (GPx) ELISA Kit, Lot #:201802). Results were given in ng / ml.

*Analysis of creatinine and blood urea nitrogen (BUN):* Bloods taken to the anticoagulant tube were centrifuged at 4000 rpm for 10 minutes. Serum physiological (Isotonic Sodium chloride solution, Mediflex, Eczacıbaşı, 1000 ml) was washed and centrifuged. The samples were placed in auto analyzer (Abbott Architect ci4100) and urea and creatinine analysis were automatically calculated by the instrument. This analysis was performed at Medical Park Uşak Hospital.

### Statistical Analysis

Data were statistically analyzed by using SPSS-18 ANOVA and stated as means and standard deviation. P <0.05 was considered to be significant. The significance of the difference between the groups was made by Post Hoc Multiple Comparative Tests using Duncan technique in One-Way ANOVA test.

### 3. Results

#### Biochemical analysis for kidney tissue

The results of MDA, SOD, CAT, GPx, TAS, TOS in kidney tissue are shown in Table 1. According to results, MDA levels and TOS levels were significantly higher in the paracetamol group than the control group (p <0.05) and boron groups were significantly lower compared to paracetamol groups (p <0.05). The levels of SOD, CAT, GPx and TAS were significantly lower in the paracetamol group compared to the control group (p <0.05) and boron groups were significantly higher compared to paracetamol groups (p <0.05).

**Table 1:** MDA, TAS, TOS, CAT, SOD and GPx levels of groups.

**Table 1:** Grupların MDA, TAS, TOS, CAT, SOD ve GPx seviyeleri.

	MDA (nmol/mg protein)	SOD (ng/ml protein)	CAT (ng/ml protein)	GPx (ng/ml protein)	TAS (mmol Trolox Equivalent/L)	TOS (μmol H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> Equivalent/L)
<b>Control</b>	0,30 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,80 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,67 ± 0,17 <sup>a</sup>	1,53 ± 0,41 <sup>a</sup>	0,52 ± 0,11 <sup>a</sup>	18,87 ± 4,32 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol</b>	0,87 ± 0,10 <sup>c</sup>	1,17 ± 0,31 <sup>c</sup>	1,18 ± 0,07 <sup>d</sup>	0,67 ± 0,41 <sup>c</sup>	0,03 ± 0,01 <sup>b</sup>	70,0 ± 4,95 <sup>d</sup>
<b>Paracetamol + 50 boron</b>	0,44 ± 0,12 <sup>a,b</sup>	1,26 ± 0,17 <sup>d,e</sup>	1,27 ± 0,25 <sup>c,d</sup>	0,90 ± 0,31 <sup>b,c</sup>	0,06 ± 0,02 <sup>b</sup>	29,62 ± 6,47 <sup>c</sup>
<b>Paracetamol + 100 boron</b>	0,46 ± 0,24 <sup>a,b</sup>	1,71 ± 0,14 <sup>a,b</sup>	1,46 ± 0,15 <sup>b,c</sup>	1,08 ± 0,37 <sup>b</sup>	0,16 ± 0,08 <sup>b</sup>	25,25 ± 6,40 <sup>b,c</sup>
<b>Paracetamol + 200 boron</b>	0,42 ± 0,26 <sup>a,b</sup>	1,42 ± 0,17 <sup>c,d</sup>	1,37 ± 0,26 <sup>c,d</sup>	0,81 ± 0,34 <sup>b,c</sup>	0,48 ± 0,05 <sup>a</sup>	19,25 ± 4,52 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol + NAC</b>	0,55 ± 0,38 <sup>b</sup>	1,57 ± 0,25 <sup>b,c</sup>	1,31 ± 0,24 <sup>c,d</sup>	1,09 ± 0,20 <sup>b</sup>	0,40 ± 0,02 <sup>a</sup>	27,87 ± 6,08 <sup>c</sup>
<b>200 Boron</b>	0,28 ± 0,09 <sup>a</sup>	1,89 ± 0,24 <sup>a</sup>	1,60 ± 0,18 <sup>a,b,d</sup>	1,11 ± 0,10 <sup>b</sup>	0,50 ± 0,12 <sup>a</sup>	22,75 ± 3,84 <sup>a,b</sup>

<sup>a,b,c,d</sup> : In the same column values with different letters show statistically significant differences in MDA, TAS, TOS, CAT, SOD, GPx levels (p<0.05).

### Creatinine and blood urea nitrogen (BUN) analysis results:

Serum BUN and creatinine levels are given in table 2 and table 3, respectively. According to our results, the BUN and creatinine levels of the paracetamol group were significantly higher than the control group ( $p < 0.05$ ). These levels were found to be significantly lower at boron groups ( $p < 0.05$ ) than the paracetamol group.

**Table 2:** BUN levels of groups

*Tablo 2: Grupların BUN seviyeleri*

	BUN [ul/L]
<b>Control</b>	18,12 ± 1,95 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol</b>	29,62 ± 4,24 <sup>b</sup>
<b>Paracetamol + 50 boron</b>	20,62 ± 5,47 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol + 100 boron</b>	20,62 ± 3,15 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol + 200 boron</b>	20,37 ± 4,59 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol + NAC</b>	20,50 ± 5,92 <sup>a</sup>
<b>200 Boron</b>	18,37 ± 1,68 <sup>a</sup>

The difference between groups with different letters is statistically significant ( $p < 0.05$ ).

**Table 3:** Creatinine levels of groups

*Tablo 3: Grupların Kreatinin seviyeleri*

	Creatinine [ul/L]
<b>Control</b>	0,37 ± 0,05 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol</b>	0,84 ± 0,05 <sup>d</sup>
<b>Paracetamol + 50 boron</b>	0,82 ± 0,03 <sup>d</sup>
<b>Paracetamol + 100 boron</b>	0,64 ± 0,02 <sup>c</sup>
<b>Paracetamol + 200 boron</b>	0,50 ± 0,06 <sup>b</sup>
<b>Paracetamol + NAC</b>	0,47 ± 0,10 <sup>b</sup>
<b>200 Boron</b>	0,44 ± 0,05 <sup>b</sup>

The difference between groups with different letters is statistically significant ( $p < 0.05$ ).

### Trace element results:

The trace element results of kidney tissue are given in Table 4. According to the data obtained, it was noted that the trace element levels in the paracetamol group were significantly lower than the control group ( $p < 0.05$ ).

**Table 4:** Co, Cu, Se, Mg, Zn and Mn levels of groups**Tablo 4:** Grupların Co, Cu, Se, Mg, Zn ve Mn seviyeleri

	<b>Co</b>	<b>Cu</b>	<b>Se</b>	<b>Mg</b>	<b>Zn</b>	<b>Mn</b>
<b>Control</b>	0,010 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,42 ± 0,05 <sup>a,b</sup>	1,63 ± 0,39 <sup>b,c</sup>	21,96 ± 1,35 <sup>a</sup>	6,96 ± 2,33 <sup>a</sup>	0,10 ± 0,012 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol</b>	0,008 ± 0,001 <sup>c</sup>	0,29 ± 0,05 <sup>d</sup>	0,93 ± 0,27 <sup>d</sup>	17,02 ± 1,01 <sup>d</sup>	4,70 ± 0,64 <sup>d</sup>	0,07 ± 0,004 <sup>b</sup>
<b>Paracetamol + 50 boron</b>	0,008 ± 0,003 <sup>b,c</sup>	0,35 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,50 ± 0,14 <sup>c</sup>	18,13 ± 1,68 <sup>c,d</sup>	5,20 ± 0,14 <sup>c,d</sup>	0,09 ± 0,007 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol + 100 boron</b>	0,009 ± 0,003 <sup>d</sup>	0,41 ± 0,07 <sup>a,b</sup>	1,51 ± 0,47 <sup>c</sup>	18,01 ± 3,32 <sup>c,d</sup>	5,27 ± 0,75 <sup>c,d</sup>	0,09 ± 0,018 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol + 200 boron</b>	0,009 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,47 ± 0,06 <sup>a</sup>	1,94 ± 0,42 <sup>a,b</sup>	20,5 ± 2,31 <sup>a,b</sup>	5,12 ± 0,30 <sup>a,b</sup>	0,09 ± 0,015 <sup>a</sup>
<b>Paracetamol + NAC</b>	0,011 ± 0,002 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,04 <sup>b</sup>	2,03 ± 0,29 <sup>a</sup>	19,92 ± 1,61 <sup>b,c</sup>	4,96 ± 0,10 <sup>b,c</sup>	0,09 ± 0,025 <sup>a</sup>
<b>Boron</b>	0,010 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,43 ± 0,05 <sup>a,b</sup>	2,01 ± 0,19 <sup>a</sup>	19,46 ± 0,70 <sup>b,c</sup>	5,89 ± 0,38 <sup>b,c</sup>	0,09 ± 0,016 <sup>a</sup>

The difference between groups with different letters is statistically significant ( $p<0,05$ ).

#### 4. Discussion and Conclusion

In this study, the effects of boron on trace elements and antioxidant capacity in paracetamol-induced nephrotoxicity model in rats were investigated. Paracetamol is a non-steroidal anti-inflammatory drug with a strong analgesic and antipyretic properties. Paracetamol is a drug that is very reliable in therapeutic doses and has little side effects and is therefore widely used throughout the world. Because of its widespread use, high safety profile and ease of access without over-the-counter access, the risk of toxicity is high. It has been reported that overdose of paracetamol may cause severe hepatotoxicity and nephrotoxicity (8). Paracetamol toxicity begins with symptoms of nausea and vomiting 12-24 hours after taking the drug. 24-48 hours later, the patient feels better but in 48-72 hours, biochemical changes begin in the body.

When paracetamol is used in therapeutic doses, sixty percent is converted to glucuronic acid with the help of the transferase enzyme, while thirty-five percent is converted to sulfuric acid by the help of the sulfonyl transferase enzyme. Two percent is excreted in the urine. A small amount of paracetamol is converted to NAPQI by the cytochrome P-450 enzyme.

Since NAPQI is a reactive electrophilic molecule, it covalently binds to the cysteine moieties of intracellular proteins and forms chelates 3-(cysteine-S-yl). These chelates cause tissue damage (9). At therapeutic doses, NAPQI is reacted with glutathione and excreted via the bile. However, overdose intake increases the amount of NAPQI and depletes the glutathione depots in the liver. The released NAPQI is covalently bound to the cysteine moieties of intracellular proteins and this mechanism is considered the main pathway for paracetamol-induced hepatotoxicity (10). Overdose intake is known to cause damage to the kidney as paracetamol is excreted through the kidney after being metabolized in the liver. NAPQI and p-aminophenol formed by N-acetylation in the renal cortex may accumulate due to depletion of glutathione depots. Kidney damage can be caused by NAPQI binding to membranes and sulfhydryl proteins and covalent binding of p-aminophenol to renal macromolecules (11). The nephrotoxic effects of paracetamol may vary depending on the acute or chronic intake. Acute overdose paracetamol intake (10-15 g) may lead to acute

toxicity with proximal tubule damage and necrosis, while very low doses (5000-1000 mg) may cause renal damage resulting in analgesic nephropathy (12). Most studies conducted with paracetamol toxicity indicate that glutathione, which is a natural antioxidant in the body, decreases excessively due to toxic substances and causes weakening of the antioxidant defense system and consequently causing damage (13).

Since paracetamol is primarily metabolized in the liver, overdose intake first causes hepatotoxicity. The kidneys are affected in the advanced stages of liver damage or rarely alone without liver damage. Therefore, there are few studies investigating the association of paracetamol with hepatotoxicity, while there are few studies investigating the relationship between paracetamol and nephrotoxicity. Toxicity in the kidney occurs in the form of acute tubular necrosis. It has been observed that 1-2% of patients with overdose paracetamol intake develop renal failure (14). The mechanism of paracetamol-induced toxicity in the kidney is still not fully elucidated. In overdose paracetamol, glutathione and sulfation reactions reach saturation and this activates the cytochrome P-450 enzyme system. CYP2E1 isoenzyme is responsible for biotransformation in the kidney. Toxic metabolites such as NAPQI and p-aminophenol are formed by Prostaglandin synthetase, N-deacetylase enzymes and cytochrome P-450 enzyme systems (15). These toxic metabolites combine with sulphydryl and glutathione in cellular proteins to form conjugates. The depletion of glutathione is thought to lead to oxidative stress. As a result, it is thought that it causes the activation of lysosomal enzymes and caspases and causes damage to the hemostasis and damage to the kidney function by damaging the tissue (16).

In paracetamol-induced kidney damage, it is thought to be the key task of NAPQI which is formed with the help of CYP-450 enzyme systems. These metabolites combine with sulphydryl and glutathione in cellular proteins to form conjugates, and these conjugates increase oxidative stress and are thought to be one of the possible toxicity mechanisms (17). The increase in oxidative stress and therefore the weakening of the antioxidant defense system is also important in paracetamol-induced kidney toxicity. For this reason, CAT, SOD, GPx and TAS were investigated as antioxidant parameters and MDA, TOS, BUN and creatinine were investigated as oxidative parameters. In addition, the effect of boron on trace element levels was investigated.

Lipid peroxidation is one of the most important mechanisms that cause paracetamol-related toxicity. Lipid peroxidation is associated with free oxygen radicals. MDA is the final product of lipid peroxidation and is the most common marker. Therefore, in tissues exposed to oxidative stress due to increased free radicals, increase in MDA level is observed. For this reason, MDA level can be considered as a biomarker for oxidative stress (18). In many studies in the literature, it has been reported that paracetamol toxicity increases the MDA level and successful treatments reduce these elevated MDA levels and prevent paracetamol toxicity. In the study, Zhao et al. were investigated the protective effect of rhein in rats on paracetamol induced hepatic and renal toxicity. It was stated that the MDA level of the paracetamol group was higher than the control group and this increased value was decreased in the treated group (19). Cheng-chin et al. were studied the protective effect of S-allyl and S-propyl in paracetamol-induced hepatotoxicity and they indicated that MDA level of paracetamol group is higher than the control group and this increased value was decreased in the treated group (20). Yapar et al. were investigated the protective effect of L-Carnitine in paracetamol-induced hepatotoxicity and stated that MDA level of paracetamol group is higher than the control group and this increased value was decreased in the treated group (21,22). In this study, it was observed that MDA levels were increased statistically significant in the paracetamol group due to nephrotoxicity, and boron application has significantly decreased these levels to a level close to the control group. This result supports the fact that the boron reduces the level of MDA in paracetamol-induced nephrotoxicity and has protective properties.

SOD is an antioxidant enzyme that catalyzes superoxide radical to hydrogen peroxide and dioxygen (23). It is an important antioxidant defense mechanism because it forms the first defense line against reactive oxygen species. Since antioxidant enzymes such as SOD and CAT are easily inactive in the case of oxidative stress, a decrease at enzyme levels in paracetamol toxicity may occur (24). In a study by Xin et al., SOD levels of paracetamol-induced toxicity group were decreased compared to control group (25). Hua et al. were investigated the mitochondrial protective effects of Picroside II in paracetamol induced hepatotoxicity in rats and indicated that the SOD level of the paracetamol group was decreased compared to the control group and the decreasing SOD values were increased in the groups given Picroside II. In this study, it was observed that SOD levels were decreased statistically significant in the paracetamol

group and boron application was increased these decreasing levels statistically close to the control group. This result supports the fact that the boron was increased the level of decreased SOD in paracetamol-induced nephrotoxicity and has protective properties.

GSH, one of the most common tripeptides in the liver, prevents the formation of free radicals such as hydrogen peroxide and superoxide radicals and protects against oxidative damage. Abdul Hamid et al. were studied the effect of Zingiber zerumbet extract on paracetamol-induced nephrotoxicity and indicated the oxidative damage with the reduction of GSH and GPx levels (27). Marc et al. were investigated the protective effect of L-Carnitine in paracetamol-induced toxicity in rats and reported that the GSH level of the paracetamol group was lower than the control group and this decreasing value was increased in the treated group (22). Fallah et al. were indicated that the GSH level of the toxicity group was lower than that of the control group, but the GSH level was increased in the treatment group with Taraxacum officinale roots. GPx inhibits the formation of hydrogen peroxide by converting oxidized glutathione to reduced glutathione. GPx uses GSH as a substrate and GPx is found partly in the cell membrane and contains selenium-containing metalloenzymes (29). In the study of Balasubramaniyan et al., it was reported that the GPx level of the group with ethanolic toxicity was lower than the control group (30). In the study of Sumanth and Rana, it was observed that the GPx level of the toxicity group was much lower compared to the control group, while the GPx level of the group of alcohol extracts from Taraxacum officinale roots increased significantly compared to the toxicity group (31). In this study, it was observed that GPx levels were decreased statistically significant in the paracetamol treated group and boron application was increased these decreasing levels statistically significant close to the control group. This result supports the protective effect of boron in the paracetamol-induced nephrotoxicity.

CAT is an enzymatic antioxidant with high activity in the liver. It prevents the formation of highly reactive hydroxyl radicals by decomposing hydrogen peroxide into water and oxygen (32). Sumanth and Rana were indicated that the CAT level of the group given Taraxacum officinale was increased significantly compared to the toxicity group, while the toxicity group has been reported to show a significant reduction in CAT level compared to the control group (31). In a study conducted by Parmar et al., it was shown that CAT levels of hepatotoxicity groups were significantly decreased compared to the control group (33). In this study, it was observed that CAT levels were decreased statistically significant in the paracetamol group, and boron application was increased these levels to a level close to the control group statistically significant. This result supports the improvement in paracetamol-induced nephrotoxicity of the borate, which leads to a decrease in CAT level, which decreases as a result of increased oxidative stress in paracetamol-induced nephrotoxicity. This result supports the protective effect of boron, which provides an improvement in CAT level with decreasing oxidative stress.

Trace elements are inorganic molecules that are important for life and require a milligram amount per day for humans. Seven trace elements of vital importance in the human body; iron, selenium, zinc, molybdenum, copper, iodine and cobalt. Although the activity of boron and chrome has been defined for human life, its chemical functions have not been fully explained. Magnesium is the fourth most common cation in the human body, and the second most common cation in the cell after potassium is required for the functionality of many enzymes important for the body. It is involved in energy production and DNA synthesis in cells. Zinc is involved in the formation of DNA from the developmental stages of the mother's womb and is of great importance for body development. Manganese is more present in mitochondria as it is involved in cellular energy production. Cobalt is one of the parts of vitamin B12 and its deficiency can cause anemia. Copper is involved in the structure of many enzymes and cofactors and is involved in muscle, vein and tendon development. Selenium is also involved in the structure of the glutathione peroxidase enzyme (34). In chronic renal failure or dialysis treatment, abnormal changes in trace element levels may occur and may lead to clinical abnormalities. Fluctuations in the trace element level may be due to malnutrition, changes in gastrointestinal absorption or drug treatment (35). Cobalt, strontium, arsenic, silicon, cesium, molybdenum, chromium and mercury levels tend to increase in the reduction of renal functions, while elements such as selenium, bromine, zinc and rubidium tend to decrease. However, many data in different studies are not completely consistent with each other. It has been shown that there is a connection between renal failure and some trace elements (36). In this study, trace element levels (Magnesium, Zinc, Manganese, Cobalt, Copper and Selenium) were significantly decreased in the paracetamol group, and boron application increased these decreasing levels statistically significant to the level close to the control group. This result

supports the improvement of boron in the paracetamol-induced nephrotoxicity in the paracetamol-induced nephrotoxicity.

While TAS is a marker of antioxidant defense mechanism, TOS is a parameter that indicates the total number of oxidants. In this study, TAS and TOS levels were investigated as oxidative damage markers. The level of TAS showing antioxidant activity in the paracetamol group was found to be significantly lower than the control group, whereas the level of TOS indicating oxidative activity was found to be significantly higher than the control group, suggesting that oxidative damage may be responsible for paracetamol-induced nephrotoxicity. However, further studies are needed to fully understand the mechanism of development of oxidative damage. In the paracetamol group, TAS levels were decreased statistically significant and boron application was statistically significant increased these levels to a level close to the control group. It was observed that the TAS levels of the paracetamol + 200 boron group were found to be close to the control group statistically significant. This result supports the protective effect of boron in paracetamol-induced nephrotoxicity, which provides improvement in the level of TAS. It was observed that TOS levels were increased statistically significant in the paracetamol group and boron application was decreased statistically significant these levels to a level close to the control group. While the TOS levels of the paracetamol + 50 boron group and the TOS values of the Paracetamol + NAC group were close to each other, it was observed that the TOS level of the paracetamol + 200 boron group was found to be closest to the control group statistically. This result supports the protective effect of boron in paracetamol-induced nephrotoxicity, which provides improvement in the level of TOS.

Recent research has shown that boron is probably a necessary element for human and animal health and that boron plays an important role in the synthesis and metabolism of various reactions. Karabağ Coban et al. were indicated that organophosphate (OP) compounds cause oxidative stress and changes in the antioxidant status of the organism and animals. They were also stated that with the sufficient amount of boron, animals are protected against OP insects. They were indicated that boron application of OP-induced oxidative stress and its effects on enzyme activity provide correction in negative changes and develop antioxidant defense mechanism (37). In another study, it was reported that boron application had the same effect on endotoxin-induced oxidative stress (38). In a study of rodent model, it was shown that 40 mg / L of boron could increase the antioxidant capacity of the spleens and improve splenic tissue structure (39). In a recent study, it was reported that boron application leads to low oxidative stress in subjects exposed to chronic alcohol consumption (42). Boron application is thought to decrease oxidative stress by increasing glutathione reserves neutralizing oxidants (40). Karabağ Coban et al. were stated that boron application increases the GSH levels and protects against the toxic effects of malathion (43). In a study on a neonatal necrotizing enterocolitis rat model, it has been shown that boron application increases the antioxidant level (41). It is also thought that the boron increases the level of antioxidant capacity by reducing intracellular ROS and  $\text{Ca}^{+2}$  ion levels (16) (18). In this study, paracetamol induced nephrotoxicity was composed and the level of free radicals was increased and oxidative stress was induced. Accordingly, trace elements, TAS, CAT, SOD and GPx levels were decreased statistically significant, while MDA, TOS, BUN and creatinine levels were increased. Compared to the control group, a significant decrease in free radical levels and a marked increase in decreased antioxidant capacity were observed in paracetamol + boron groups.

In conclusion, this study suggests that the antioxidant properties of the boron may support the protective effect of paracetamol-induced nephrotoxicity on trace elements and antioxidant capacity. This study has contributed positively to the literature in terms of showing that the boron may be a new antioxidant agent that can be used in paracetamol toxicity if the data is supported by further research.

## References

- Dogrue C, Duran L, Sisman B, Yardan T, Baydin A, Yavuz Y** (2011): *Use of Intravenous N-Acetyl Systein in Paracetamol Intoxication*. J Acad Emerg Med, **10**, 145–147.
- Bessems Jgm, Vermeulen Npe** (2001): *Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: Molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches*. Crit Rev Toxicol, **31**, 55-138.

3. **Abdelmegid LA, El-Guendi MI, Omar SA, Yousef MI**, (2010): *Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat*. Food Chem Toxicol, **48**, 3246-6.
4. **Yilmaz S** (2014): *Borik asitin antioksidan aktivitesinin hücre kültüründe araştırılması*. MSc, Ankara University, Ankara, Turkey.,
5. **Albayrak A, Bayir Y, Halici Z, Karakus E, Karcioğlu SS, Mercantepe T, Palabiyik SS** (2016): *The role of raas inhibition by aliskiren on paracetamol-induced hepatotoxicity model in rats*. Journal of Cellular Biochemistry, **117**, 638–646.
6. **Albayrak A, Bayir Y, Cadirci E, Halici, Z., Karadeniz A, Karakus E, Kiki İ, Uzkeser M, Unal D** (2012): *Protective effect of Panax ginseng against N-acetyl-p-amino-phenol-induced hepatotoxicity in rats*. African Journal of Pharmacy, **11**, 25-36.
7. **Erdogan M, Ince S, Keles H** (2012): *Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice*. Drug Chem Toxicol, **35**, 285–292.
8. **Lewis RK, Paloucek FP** (1991): *Assessment and treatment of acetaminophen overdose*. Clinical pharmacy, **10**, 765-774.
9. **Corcoran GB, Horning EC, Mitchell JR, Vaishnav YN** (1980): *Evidence that acetaminophen and N-hydroxyacetaminophen form a common arylating intermediate, N-acetyl-p-benzoquinoneimine*. Molecular Pharmacology, **18**, 536-542.
10. **Bessems JG, Vermeulen NP** (2001): *Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches*. Critical Reviews in Toxicology, **31**, 55-138.
11. **Mugford CA, Tarloff JB** (1997): *The contribution of oxidation and deacetylation to acetaminophen nephrotoxicity in female Sprague-Dawley rats*. Toxicology Letters, **93**, 15-22.
12. **Blantz RC** (1996): *Acetaminophen: acute and chronic effects on renal function*. Am J Kidney Dis, **28**, 3-6.
13. **Manso CF, Mira L, Silva M** (1994): *Scavenging of reactive oxygen species by silibinin Dihemisuccinate*. Biochem Pharmacol, **48**, 753-759.
14. **Bessems JG, Vermeulen NP** (2001): *Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches*. Crit Rev Toxicol, **31**, 55-138.
15. **Mazer M, Perrone J** (2008): *Acetaminophen-induced nephrotoxicity: pathophysiology, clinical manifestations, and management*. J Med Toxicol, **4**, 2-6.
16. **Clissold SP** (1986): *Paracetamol and phenacetin*. Drugs, **32(4)**, 46-59.
17. **Özaltın S** (2015): *Bosentanın Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması*. MSc, Atatürk University, Erzurum, Turkey.
18. **Andersen HR, Grandjean P, Mikkelsen BB, Nielsen F, Nielsen JB** (1997): *Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life- style factors*. Clinical Chemistry, **43**, 1209-1214.
19. **Li RS, Shan LM, Wang JB, Xiao XH, Yang HB, Zhao YL, Zhou GD** (2011): *Rhein protects against acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity*. Food&Chemical Toxicology, **49**, 1705-1710.
20. **Hsu CC, Liao TS, Lin CC, Yin MC** (2006): *Protective effect of s-allyl cysteine and s- propyl cysteine on acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice*. Food&Chemical Toxicology, **44**, 393-397.
21. **Kartal NT** (2013): *Agomelatin'in Parasetamolle İndüklenen Akut Böbrek Toksisitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması*. MSc, Atatürk University, Erzurum, Turkey.
22. **Atakisi O, Cilti M, Erginsoy S, Karapehlivan M, Kart A, Tunca R, Yapar K** (2007): *Hepatoprotective effect of L-carnitine against acute acetaminophen toxicity in mice*. Experimental and Toxicologic Pathology, **59**, 121-128.
23. **Arabulut H, Gülay MS** (2016): *Antioksidanlar*. MAE Vet Fak Derg, **1 (1)**
24. **Charuchongkolwongse S, Chularojmontri L, Herunsalee A, Niumsakul S, Srichairat S, Wattanapitayakul SK** (2005): *Antioxidative and cardioprotective effects of Phyllanthus urinaria L. on doxorubicin-induced cardiotoxicity*. Biological&Pharmaceutical Bulletin, **28**, 1165-1171.

25. Aregullin M, Lei XG, McClung JP, Roneker CA, Zhu JH (2006): *Mice deficient in Cu,Zn-superoxide dismutase are resistant to acetaminophen toxicity*. Biochemical Journal **399**, 455-461.
26. Gao H, Zhou YW (2005): *Anti-lipid peroxidation and protection of liver mitochondria against injuries by picroside II*. World Journal of Gastroenterology, **11**, 3671- 3674.
27. Abdul Hamid Z, Budin SB, Wen Jie N, Hamid A, Husain K, Mohamed J (2012): *Nephroprotective effects of Zingiber zerumbet Smith ethyl acetate extract against paracetamol-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats*. J Zhejiang Univ Sci B, **13**, 176-185.
28. Alavian SM, Fallah HH, Mohammadi SR, Naghdi BH, Zaree MA (2012): *The protective effect of medicinal herbs extracts including cynara scolymus, cichorium intybus, taraxacum officinal and berberis vulgaris in single and in combination form in CCl4 induced rat liver toxicity*. Journal Of Medicinal Plants, **41**, 78-85.
29. Pathak DN, Sising R (1990): *Lipid peroxidation and glutathione peroxidase, and glutathione reductase, superoxide dismutase, catalase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in FeCl3-induced epileptogenic foci in the rat brain*. Epilepsia, **31**, 15–26.
30. Balasubramaniyan V, Nalini N, Sailaja JK (2003): *Role of leptin on alcohol-induced oxidative stress in swiss mice*. Pharmacological Research. **47**, 211–216.
31. Rana AC, Sumanth M (2006). *In vivo antioxidant activity of hydroalcoholic extract of Taraxacum officinale roots in rats*. Indian Journal Of Pharmacology, **38**, 54.
32. Ektur E (2012): *Silymarin'in Asetamidon (Parasetamol) kaynaklı karaciğer ve böbrek toksisitesi üzerine iyileştirici etkisi*. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi. Yüksek lisans tezi.
33. Kalia K, Parmar SR, Vashrambhai PH (2010): *Hepatoprotective activity of some plants extract against paracetamol induced hepatotoxicity in rats*. Journal of Herbal Medicine and Toxicology, **4**, 101-106,
34. Milne BD (2005): *Eser Elementler(1.baskı)*. In: Burtis C.A., Ashwood E.R. Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler Palme Yayıncılık, Ankara.
35. Arık N (1997): *Kronik Böbrek Yetmezliği. Nefroloji Seminerleri-4*. Sanofi Yayınları, 1-118.
36. Cornelis R, Dhondt A, Lamerie N, Vanholder R (2002): *The role of trace elements in ureamic toxicity*. Nephrol. Dial. Transplant, **17**, 2-8.
37. Coban FK, Demirel HH, Hazman O, Ince S, Kucukkurt I (2015): *Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetyl- cholinesterase inhibition in rats*. Drug Chem Toxicol, **38(4)**, 391–399.
38. Balaban T, Balabanli B (2015): *Investigation into the effects of boron on liver tissue protein carbonyl, MDA, and glutathione levels in endotoxemia*. Biol Trace Elem Res, **167(2)**, 259–263.
39. Gu Y, Hu Q, Jin E, Jin G, Li S, Tang Z (2014): *Effects of boron on structure and antioxidative activities of spleen in rats*. Biol Trace Elem Res, **158(1)**, 73–80.,
40. Cao J, Geng C, Jiang L, Xue X, Yao X, Zhang X, Zhong L (2008): *Boric acid inhibits LPS induced TNF-alpha formation through a thiol-dependent mechanism in THP-1 cells*. J Trace Elem Med Biol, **22(3)**, 189–195.
41. Aksit H, Celik T, Korkut O, Sunay B, Yazici S (2014): *Effects of boric acid and 2- aminoethoxydiphenyl borate on necrotizing enterocolitis*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, **58(1)**, 61–67.
42. Ersoz M, Hurdag C, Paltun SO, Sogut I, Tunçdemir M (2017): *The antioxidant and anti-apoptotic effect of boric acid on hepatotoxicity in chronic alcohol-fed rats*. Can J Physiol Pharmacol, **15**, 55-63.
43. Bassler BL, Chen X, Hughson FM, Pelezer I, Potier N, Schauder S, Van Dorsselaer A (2002): *Structural identification of a bacterial quorum-sensing signal containing boron*. Nature, **415**, 545–549.



DOI: 10.33188/vetheder.598043

Araştırma Makalesi / Research Article

## Köpeklerde femur ve tibia kırıklarının sağaltımında kilitli intramedullar pin yönteminin klinik ve radyolojik değerlendirilmesi

**Kismet Salan ANAÇ<sup>1,a</sup>, Ümit KAYA<sup>1,b\*</sup>, İlker ŞEN<sup>2,c</sup>**

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup> Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Sivas, Türkiye

ORCID: 0000-0002-5617-0434<sup>a</sup>; 0000-0001-9869-9072<sup>b</sup>; 0000-0001-8288-4871<sup>c</sup>

### MAKALE BİLGİSİ:

#### ARTICLE

#### INFORMATION:

#### Geliş / Received:

29 Temmuz 19

29 July 19

#### Kabul / Accepted:

28 Kasım 19

28 November 19

#### Anahtar Sözcükler:

Femur

Interlocking pin

Kırık

Köpek

Tibia

#### Keywords:

Dog

Femur

Fracture

Interlocking nail

Tibia

### ÖZET:

Bu çalışmanın amacı veteriner ortopedide sıkça kullanılan intramedullar pin uygulamalarına bir alternatif getirmek ve kilitli intramedullar pin yöntemiyle ilgili deneyimler kazanmaktır. Çalışma materyalini, femur ya da tibiasında kırık tespit edilen 10 köpek oluşturdu. Çalışmada rutin yumuşak doku ve ortopedi setlerinin yanında farklı uzunluk ve çaplarında kilitli intramedullar pinler ve kilitli intramedullar pin uygulama seti kullanıldı. Çalışma materyalini oluşturan 10 olgudan belirlenen 11 kırığın 5'i (%46) transversal kırık, 3'ü (%27) oblik kırık, 3'ü de (%27) parçalı kırık olarak sınıflandırılmıştır. Olu no 9 ve 10 haricinde hiçbir olguda komplikasyona rastlanmadı. Komplikasyonun gözlenmediği olgularda kırık iyileşmesinden sonra interlocking pin, ilgili kemikin medullasında bırakıldı ve klinik olarak bir probleme neden olmadığı gözlandı. Interlocking pinler köpeklerin femur ve tibia gibi uzun kemiklerinde meydana gelen diyafizere kırıklarında kullanılabilir. Stabil olmayan kırıklar da dahil, fonksiyonel iyileşme sonuçları ve düşük komplikasyon oranlarıyla ilişkilendirildiğinde, uzun kemiklerin diyafizere kırıklarında interlocking pinlerin kullanımı desteklenmektedir. Sonuç olarak interlocking pin ile sağlamış metod, femur ve tibianın diyafizere kırıklarında alternatif bir sağlamış metod olarak düşünülebilir.

### **Clinical and radiological evaluation of the treatment of femoral and tibial fractures with the use of interlocking nails in dogs**

#### ABSTRACT:

The aim of this study was to introduce an alternative method to intramedullar pinning which are used frequently in veterinary orthopedics and improve the experience of treatment with the use of interlocking nailing method. The study material involved 10 dogs with femoral and tibial fractures. Interlocking nailing application set, routine surgical and orthopedical sets were used in this study. Within 11 fractures in 10 cases were classified as transversal fracture in 5 cases (46%), oblique fracture in 3 cases (27%), communitied fracture in 3 cases (27%). No complication was observed in all cases but case no 2, 9 and 10. Interlocking nails were left in the bones in all cases except one case. Interlocking nails can be used in diaphyseal femoral and tibial fractures in dogs. It is supported to use of interlocking nailing even in unstable diaphyseal fractures in dogs when considered functional healing results and low complication rates. As a result, using of interlocking nailing can be considered as an alternative treatment method to other intramedullary treatments in femoral and tibial fractures in dogs.

**How to cite this article:** Anaç KS, Kaya Ü, Şen İ: Köpeklerde femur ve tibia kırıklarının sağaltımında kilitli intramedullar pin yönteminin klinik ve radyolojik değerlendirilmesi. *Veteriner Hekimler Dergisi*, 91(1): 36-43, 2020, DOI: 10.33188/vetheder.598043

\* Sorumlu yazar eposta adresi / Corresponding author e-mail address: vet.dr.umit@gmail.com

## 1. Giriş

Interlocking Pin; kırıkların sağaltımında, medullar kanal içerisine, üzerinde bulunan vida deliklerinden korteks-pin-korteks geçişli vidalarla sabitlenen, intramedullar bir pin çeşididir (1, 7).

Medullar kanala uygulanan intramedullar pin, bükülme kuvvetlerini, pinin vidalarla sabitlenmesi ise makaslama, kompresyon, torsiyon ve gerilme kuvvetlerini engeller (2, 5, 9).

Interlocking pinler humerus, femur veya tibianın özellikle diyafizinde meydana gelen kırıklarında kullanılır (5, 6, 9). Kısa ve orta dönem iyileşme beklenen ve postoperatif bakının önemli olduğu köpeklerde endike, Radius için ise kontrendikedir (5, 6).

Interlocking pinler uzun kemiklerin distal ve proksimal bölümleri haricindeki bütün kırık tiplerinde uygulanabilir. Özellikle çok parçalı, maddi kayıplı kırıklar ve nonunionlarda başarıyla kullanıldığı rapor edilmiştir (7, 8).

Pinler statik ve dinamik olmak üzere iki şekilde uygulanabilir. Kemiğin distal ve proksimal fragmentlerinin her ikisine de pin üzerinde bulunan vida deliklerinden ikişer vida uygulanırsa statik, her iki kırık fragmentine de birer vida uygulanırsa, dinamik interlocking civileme olur. Parçalı, maddi kayıplı kırıklarda statik, transversal ve kısa oblik kırıklarda ise dinamik civileme önerilir (1, 7).

Pinin distal ucunu metafiz boyunca ilerletme zorunluluğu olmadığından, kırık uçlarında malpozisyon şekillenme riski, ekleme ve büyümeye plaklarına zarar verme riski azalır (4, 7).

Interlocking civilemede kullanılan pinler Steinmann pinlerden daha kalın olduğu için bükülme kuvvetini engellemekte daha başarılıdır (9).

Kemiğin kırık hattına yakın bölümünde, incelme ve buna bağlı olarak kırık oluşma riski varsa, interlocking pinler bölgeye plaktan daha başarılı şekilde uygulanırlar. İyileşme sürecinde kallus oluşumu daha azdır ve anatomik yapıyı korurken aksial hizalamayı da sağlayarak açılanmanın önüne geçer (4, 6).

Interlocking pinler uygulandıkları bölge gereği medullar kanal içerisine yerleştirildiklerinden, plak uygulamalarında karşılaşılan aseptik gevşeme gibi komplikasyonların önüne geçilmiş olur. Aynı zamanda genç hayvanların distal femur kırıklarında uygulama kaynaklı büyümeye plaqının erken dönemde kapanma riskinin de önüne geçer (1).

Kırık iyileşme süreci ilerledikçe uygulanan implant ve kemik arasındaki yük dağılımı kemik yönüne kayar. Bunun sebebi kallus oluşumu ile immobilizasyonun artmasıdır. Böylece implant üzerine binen stres azalır ve implantta bağlı olabilecek herhangi bir komplikasyon riski de en azı indirilmiş olur. Ayrıca interlocking pinleri kilitlemek için kullanılan vidalar kırık hattına uzak şekilde uygulanarak fragmentlerin maruz kalacağı aşırı stresten kaçınılmış olur (1).

Pinde bulunan vida delikleri, pinin direncini azaltır. Vida delikleri kırık hattına yakın olursa kemiğin ve implantın kırılma ihtimali ortaya çıkar, vidalar kırık hattına 2 cm'den daha yakına uygulanırsa stres oluşturur (9).

Interlocking pinin çapı, uygulanacak kemiğin çapına uygun olarak seçilmelidir. Uygun olmayan çapta pin kullanılması, pin üzerinde bulunan vida deliklerinin kırık hattı üzerine denk gelmesi pinde kırılmalara neden olur. Implantta kırık oluşumu daha çok distalde alt alta bulunan iki deliğin proksimalde yer alanından gerçekleşir (1).

Interlocking pin ve vidalarının özel ekipmanlarla uygulanabilir olması, sadece diyafiz kırıklarının sağaltımında kullanılabilmesi gibi dezavantajları vardır (1).

Interlocking pinlerin en zayıf noktaları vida delikleridir. Interlocking pinler, güçlendirilmek için daha küçük vida delikleri ile üretilmiştir, daha küçük vidalar kullanıldığında implant hatalarıyla daha az karşılaşmıştır (5).

Bu çalışmada, veteriner ortopedide sıkça kullanılan intramedullar pin uygulamalarına bir alternatif oluşturmak, interlocking pin ile sağaltım yöntemiyle ilgili deneyimler kazanmak ve kazanılan deneyimleri klinisyen veteriner hekimlerle paylaşmak amaçlanmıştır.

## 2. Gereç ve Yöntem

Çalışma materyalini, femur ya da tibiasında kırık tespit edilen 10 köpek oluşturdu. Çalışmada rutin yumuşak doku ve ortopedi setlerinin yanında farklı uzunluk ve çapta interlocking pinler (Tablo 1) ve interlocking pin uygulama

seti kullanıldı.

**Tablo 1:** Interlocking pin çap ve uzunlukları.

**Table 1:** Diameter and length of interlocking pins.

Çap (mm)	Uzunluk (mm)
4,5	130-160
6,0	130-190
8,0	150-230

### Preoperatif Klinik ve Radyografik Muayene:

Yapılan klinik muayene sonucunda arka ekstemitelerinde topallık, femur ve tibia bölgesinde ağrı, şişlik, anomal hareket, krepitasyon ve deformasyon tespit edilen köpeklerde hem tanı için ilgili bölgenin, hem de kullanılacak olan pin uzunluğu ve çapına karar vermek için kontralateral ekstremitenin mediolateral ve anterioposterior radyografları alındı.

Kullanılacak interlocking pinin boyunu tam belirleyebilmek için kontralateral taraftaki sağlam kemiğin radyografisinden ölçümler yapıldı. Kemiğin medullar kanalına uyabilecek en geniş çapta, kırık olan kemiğin normal uzunluğuna uygun olacak şekilde pin seçildi.

### Anestezi:

Sedasyon için intramuskuler yolla  $40 \mu\text{g}/\text{kg}$  medetomidin hidroklorür enjeksiyonunu takiben 10-15 dk sonra genel anestezi oluşturmak için yine intramuskuler yolla  $10 \text{ mg}/\text{kg}$  ketamin hidroklorür, analjezi için ise deri altı yolla  $0,2 \text{ mg}/\text{kg}$  meloksikam uygulandı. Preoperatif antibiyotik olarak kas içi yolla  $25 \text{ mg}/\text{kg}$  amoksisilin uygulandı.

### Uygulama Prosedürü:

Femura cerrahi yaklaşım; Femur diyafizine lateral yaklaşım uygulandı. Deri altı yağ doku ve süperfisiyal fascia deri ensizyonu ile aynı hatta ve uzunlukta kesildi ve ekarte edildi. Fascia lata geçildikten sonra, femur diafizinin kaudalinde yer alan M. biceps femoris ve kranialinde yer alan M. vastus lateralis arasındaki fasiyal aponeurotik septum ensize edildi. Kaslar ekarte edilerek femurun diafizine ulaşıldı.

Tibiaya cerrahi yaklaşım; Tibianın diyafizine kraniomedialden yaklaşıldı. Deriye kraniomedialden tibianın eksenine paralel bir deri ensizyonu yapıldı. Deri altı yağ doku ve superfisiyal fasia deri ensizyonu ile aynı hatta ve uzunlukta kesildi ve ekarte edildi. Vena safena ve safenöz sinire zarar vermekten kaçınarak tibianın diyafizine ulaşıldı.

Kırık hattına ulaşıldıkten sonra, medullar kanal, seçilen pin çapına ve uzunluğuna uygun şekilde reamer ile genişletildi. Pin, medullar kanala yerleştirilerek, proksimalde sistemin uzatma aparatı ile bağlantısı yapıldı. Distal fragmentin redüksiyonu yapıldıktan sonra pin, distale doğru ilerletildi. Yeteri kadar ilerletildikten sonra, sistemin klavuzu eklendi. Vida uygulama kılavuzu ile pin üzerindeki deliklere denk gelen noktalarından dril yardımıyla delikler açıldı.

Distal fragmente vidalar uygulandıktan sonra kemiğe rotasyon yaptırılarak pinin de aynı şekilde rotasyon hareketini gösterip göstermediği kontrol edildi. Rotasyonel ve aksiyel hizalanma kontrol edildikten sonra proksimal fragmente de vidalar uygulandı.

Kemiğin çatlaması ve pinin kemiği kırması gibi komplikasyonları önlemek için vidalar mümkün olduğunda kırık hattından uzağa uygulandı. Bütün vidalar uygulandıktan sonra Interlocking civileme sisteminin aparatları pinden ayrıldı. Deri altı dokular ve deri rutin şekilde kapatıldı.

## Post Operatif Bakım:

Kırığın redüksiyonu ve uygulanan implantın konumunu değerlendirmek için post operatif radyografiler alındı. Postoperatif muayene ve kontroller operasyondan sonra 0. gün 10. gün, 30. gün ve 45. günde yapıldı.

Post operatif antibiyoterapi 1 hafta süreyle uygulandı. Yara hattı 10 gün süreyle, yumuşak bandaj uygulamasıyla korundu. Hareket kısıtlaması önerildi. Postoperatif 10. günün sonunda dikişler alındı ve kontrollü yürüyüşlere izin verildi.

Interlocking pin kırık iyileşmesi sonrasında da yerinde bırakıldı.

Kırık iyileşmesinin değerlendirmeleri, Modifiye Hannover Veteriner Yüksek Okulu Küçük Hayvan Kliniği kırık sağaltımı değerlendirme skalası, Aslanbey' in (2002) önerdiği kırık iyileşmesinin klinik değerlendirilmesi kriterlerine göre yapıldı (Tablo 2).

**Tablo 2:** Modifiye Hannover Veteriner Yüksek Okulu kırık sağaltımı değerlendirme skalası.

**Table 2:** Modified fracture treatment evaluation scale of Faculty of Veterinary Medicine Hannover.

Kırığın Radyografik Görünümü		Ekstremitenin Klinik Görünümü	Eklemlerin Radyografik Ve Klinik Görünümü
<b>Çok İyi</b>	Düzgün kemik kaynaması	Tam ekstremite foksiyonu, topallık yok	Artritik değişiklik yok (-), eklem hareketi çok iyi
<b>İyi</b>	Tam olmayan kaynama, yinede iyi bir bütünlük	Tam ekstremite foksiyonu, topallık yok	Artritik değişiklik çok az (+), eklem hareketi iyi
<b>Tatminkâr</b>	Kırık kaynaması iyi değil	Geçici topallık	Artritik değişiklik var (++) , eklem hareketi tatminkar
<b>Kötü</b>	Kırık kaynaması çok kötü	Kalıcı topallık	Artritik değişiklik fazla (+++), eklem hareketi kötü

## 3. Bulgular

Çalışma materyalini oluşturan 10 olgudan 6'sının (%60) dişi, 4'dünün (%40) erkek olduğu saptanmıştır.

On olgudan 1'inde bilateral femur kırığı olmak üzere 11 kırıktan 8'inin (%73) Femur, 3'ünün (%27) tibia kırığı olduğu belirlenmiştir.

Belirlenen 11 kırığın anatomik bölgelerine göre 1'i (%9) proksimal diyafizer femur, 4'ü (%37) orta diyafizer femur kırığı, 4'ü (%37) distal diyafizer femur kırığı, 2'si (%18) orta diyafizer tibia kırığı olduğu gözlemlenmiştir ve 5'i (%46) transversal kırık, 3'ü (%27) oblik kırık, 3'ü de (%27) parçalı kırık olarak sınıflandırılmıştır.

Karşı ekstermitelerdeki sağlıklı kemikten elde edilen radyografiler üzerinde yapılan ölçümler sonrası olgulara göre uygulanacak pinlerde 2'sinin (%18) 6,0mm\*130mm, 1'inin (%9) 6,0mm\*150mm, 1'inin (%9) 6,0mm\*160mm, 2'sinin (%18) 6,0mm\*170mm, 3'ünün (%28) 6,0mm\*190mm, 1'inin (%9) 8,0mm\*160mm, 1'inin (%9) 8,0mm\*180mm boyutlarında olduğu belirlenmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3:** Olguların cinsiyet, yaş, uygulanan pin boyutları ve opere edilen kemik.*Table 3: Sex, age, pin sizes and operated bone informations of the cases.*

Olgı no	Cinsiyet ve yaşı	Kullanılan pin boyutları	Kemik
1	Dişi, 10 aylık	6,0mm x170mm	Femur
2	Dişi, 3 yaş	6,0mm x170mm	Tibia
3	Erkek, 6 aylık	6,0mm x160mm	Femur
4	Dişi, 6 aylık	6,0mm x130mm	Femur
		6,0mm x130mm	Femur
5	Erkek, 4 yaş	6,0mm x170mm	Femur
6	Erkek, 5 yaş	6,0mm x190mm	Femur
7	Dişi, 9 aylık	8,0mm x160mm	Femur
8	Erkek, 2 yaş	8,0mm x180mm	Tibia
9	Dişi, 1 yaş	6,0mm x190mm	Tibia
10	Dişi, 8 aylık	6,0mm x150mm	Femur

Olgu 2, 9 ve 10 haricinde hiçbir olguda komplikasyona rastlanmadı. Olgu 2'de açık, enfekte ve maddi kayıplı kırık tespit edildi. Redüksiyon sonrasında fragmentler arasında meydana gelen boşluğa, reamer ile genişletme aşamasında elde edilen kompakt ve kansellöz kemik doku parçalarından oluşan kemik otogrefi uygulandı. Dikiş hattını korumak için postoperatif yumuşak bandaj uygulandı. Yara hattında herhangi bir enfeksiyon oluşmaması için günlük olarak bandaj değiştirildi ve yara bakımı yapıldı. 1 hafta sonunda yaradaki akıntı ve enfeksiyonun sonlandığı görüldü.

Olgu 10 haricindeki olgularda kırık iyileşmesinden sonra interlocking pinler, ilgili kemiğin medullasında bırakıldı ve postoperatif takip süresince komplikasyona neden olmadığı gözlandı.

Olgu 1'de düzenli yapılan postoperatif klinik ve radyografik muayeneler boyunca herhangi bir komplikasyon varlığına rastlanmadı ve 45 günün sonunda ilgili ekstremitede yürüyüşün ve ilgili ekstremiteye ağırlık vermenin oldukça iyi oldu gözlemlendi.

Olgu 3 (Şekil 1) 5 ve 7'de (Şekil 2) diyafizer femur kırığı tespit edildi. Postoperatif 45. günde yapılan radyografik muayenede kırık bölgesinde taşkın kallus oluştuğu belirlendi. Klinik muayenede ilgili ekstremitede ağrı ve hassasiyet olmadığı gözlemlendi.

Olgu 4'te bilateral orta diyafizer femur kırığı tespit edildi. Operasyon sonrasında sadece dikiş hattını korumaya yönelik pansuman uygulandığı için postoperatif dönemdeki konforun oldukça iyi olduğu tespit edildi.

Olgu 8'de 45 günün sonunda radyografik olarak kırık fragmentleri arasında kallus oluşumunun sorunsuz şekillendiği gözlemlendi. Ekstremitede klinik muayenelerde ağrı ve hassasiyet gözlenmedi.

Olgu 9'da distal ve proksimal vida deliklerinin sadece birer tanesine vida uygulandı. Böylece dinamik bir fiksasyon elde edildi. Postoperatif 45. gün alınan radyografilerde kırık bölgesinde enfeksiyon bulgusuna rastlandı. Buna yönelik antibiyotik tedavisine başlandı ancak sonraki süreçte olgunun takibi yapılamadı (Şekil 3).

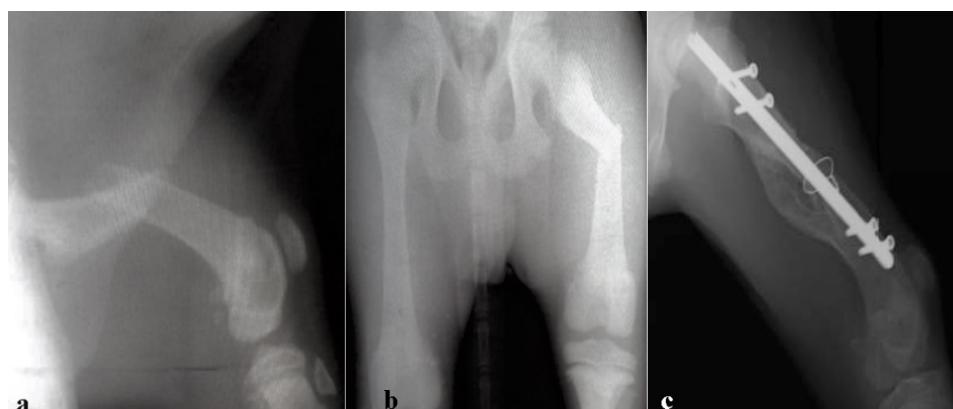
Olgu 10'da distal diyafizer femur kırığı tespit edildi. 10. gün radyografisinde interlocking pinin Femur'un distal fragmentinin kranial duvarını kırıp kraniale doğru migre olduğu olduğu gözlemlendi. Bu olguda interlocking pin çıkartıldı ve kırığın tekrar sağaltımında Rush pini kullanıldı.

Modifiye Hannover Veteriner Yüksek Okulu küçük hayvan kliniği kırık sağaltımı değerlendirme skalasına göre olguların 6'sının çok iyi, 1'inin iyi, 1'inin tatminkâr, 1'inin ise kötü olduğu tespit edildi, bir olgunun (olgı no 9) takibi yapılamadı (Tablo 4).

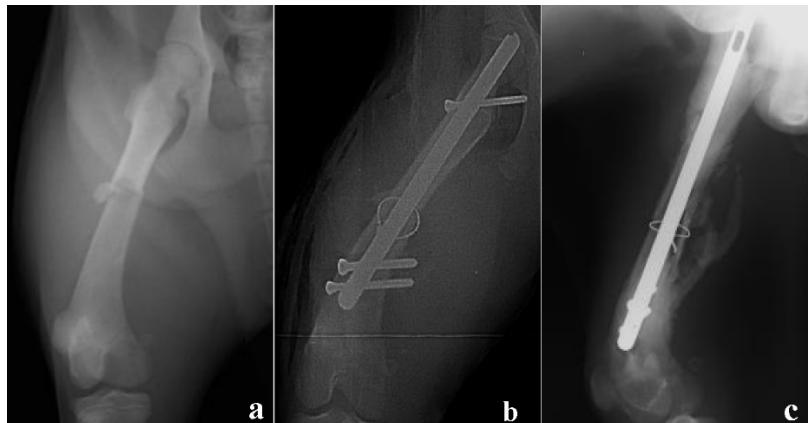
**Tablo 4:** Kırık iyileşmesinin modifiye Hannover Veteriner Yüksek Okulu küçük hayvan kliniği kırık sağaltımı değerlendirme skalasına göre değerlendirilmesi.

*Table 4: Evaluation of fracture healing according to Modified fracture treatment evaluation scale of Faculty of Veterinary Medicine Hannover.*

Olgı no	Modifiye Hannover Veteriner Yüksek Okulu küçük hayvan kliniği kırık sağaltım değerlendirme skarası
1	Çok iyi
2	Çok iyi
3	Tatminkâr
4	Çok iyi
5	İyi
6	Çok iyi
7	Çok iyi
8	Çok iyi
9	Takibi yapılamadı
10	Kötü

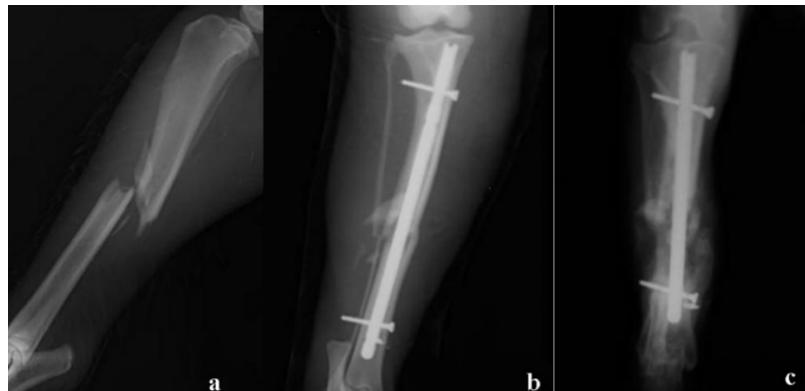


**Şekil 1:** Olgu 3' e ait radyografler. a ve b) preoperatif, c) postoperatif 45. gün radyografları.  
*Figure 1: radiographs of case 3. a and b) preoperative, c) postoperative 45<sup>th</sup> day radiographs of case 3.*



**Şekil 2:** Olgu 7'ye ait radyografler. a) preoperatif, b) postoperatif 0, c) postoperatif 45. gün radyografları.

**Figure 2:** Radiographs of case no 7. a) Preoperative, b) postoperative 0, c) postoperative 45th day radiographs of case no 7.



**Şekil 3:** Olgu 9'a ait radyografler. a) preoperatif, b) postoperatif 0, c) postoperatif 45. gün radyografları.

**Figure 3:** Radiographs of case no 9. a) Preoperative, b) postoperative 0, c) postoperative 45<sup>th</sup> day radiographies of case no 9.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Veteriner ortopedide özellikle uzun kemik kırıklarının intramedullar olarak sağaltımında sıkılıkla Steinmann pinler kullanılır. Steinmann pinlerinin uygulanması ve kırık iyileştiğinden sonra çıkarılması kolaydır. Kırık hattında oluşan bükülme kuvvetlerini belli ölçüde nötralize ederler, ancak makaslama, kompresyon, rotasyon gibi kuvvetlere karşı etkisizdirler. Interlocking pinle sağaltım tekniğinin dairesel kesitli konvansiyonel pinlerden en önemli farkı, statik bir kitleme yapıldığında, kırık hattında oluşabilecek tüm yıkıcı kuvvetleri nötralize etmesidir (2).

Bu klinik çalışmada interlocking pinler kullanılmış ve genellikle statik pozisyonda yerleştirilmiştir (8 olguda gelişen 9 kırıkta). Dinamik pozisyonda yerleştirilen olgular içinde ise bir olguda komplikasyon gözlenmiştir. Statik pozisyonda yerleştirilen interlocking pinlerin daha stabil bir fiksasyon sağladığı, kırık hattında oluşabilecek güçleri normal bir intramedullar pin ve dinamik fiksasyona göre oldukça etkili şekilde önlediği ve komplikasyon riskini düşürdüğü gözlemlenmiştir.

Plak ve interlocking pin gibi materyallerde iyileşme sürecinde kallus oluşumu daha azdır (4). Interlocking pinin avantajları arasında bu bilgi verilmiştir. Bu klinik çalışma sonuçları genel olarak kallus oluşumu yönünden değerlendirildiğinde, elde edilen veriler, literatür bilgi ile uyuymaktadır. Sadece olgu no 3, 5 ve olgu no 7'de taşın kallus oluşumuna rastlanmıştır.

Interlocking pinler, kemik medullasının merkezinde olduğu için, plak gibi merkez dışında olan diğer materyallere oranla daha az komplikasyon (aseptik gevşeme vs.) oluşturmaktadır (1). Bu klinik çalışma verileri değerlendirildiğinde literatür bilgiyle uyumlu olarak olgularda vida gevşemesine bağlı herhangi bir komplikasyona

rastlanmadı. Postoperatif takip süresince radyografik muayenelerde, olguların tamamında herhangi bir vida gevşemesi gözlenmemiştir.

Interlocking pinler aksial hizalamayı başarılı şekilde sağlarlar (6). Ayrıca uzun kemiklerde açılma oluşmasına engel olurlar (1, 6). Intramedullar pinlerle gerçekleştirilen klinik çalışmada izlenen olgularda aksial hizanın bozulması ve sonrasında gelişebilecek açılı kaynamaya bağlı bir komplikasyon bulgusuna rastlanmamıştır.

Interlocking pin uygulamalarında eğer açık reduksiyon tercih edilecekse plaklar ile karşılaşıldığında, daha küçük bir operasyon yarası ve daha az diseksiyona ihtiyaç duyulur (3). Çalışma materyalini oluşturan olgulara uygulanan cerrahi yaklaşımlar baz alındığında çalışma verileri ile literatür örtüşmektedir.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda interlocking pin yönteminin, diğer intramedullar civileme yöntemlerine göre temel olarak, kırık hattına etki eden tüm kuvvetleri nötralize etmesi, kırık iyileşmesi tamamlanıncaya kadar daha riyit bir fiksasyon sağlama, postoperatif konfor arttırması gibi avantajları tespit edilmiştir.

Interlocking pin ile sağlamış yönteminin kullanılması, özellikle postoperatif bakımın önemli olduğu ve riyit bir fiksasyonun hedeflendiği olgularda önerilir. Uygulamada uygun boy ve çapta pin seçiminin dikkatle yapılması ve uygulanan vida ile kırık hattı arasındaki mesafenin özenle ayarlanması önemlidir. Çünkü komplikasyonların birçoğunun bunlara benzer teknik nedenlerden kaynaklandığı bilinmektedir.

Interlocking pinler köpeklerin femur ve tibia gibi uzun kemiklerin meydana gelen diyafizer kırıklarında kullanılabilir. Stabil olmayan kırıklar da dahil, fonksiyonel iyileşme sonuçları ve düşük komplikasyon oranlarıyla ilişkilendirildiğinde, uzun kemiklerin diyafizer kırıklarında interlocking pinlerin kullanımı desteklenmektedir.

Sonuç olarak interlocking pin ile sağlamış metodu, femur ve tibianın diyafizer kırıklarında alternatif bir sağlamış metodu olarak düşünülebilir.

## Kaynaklar

- Altunalmaz K** (2003): *Kırık sağlamışında interlocking pin kullanımı*. İstanbul Üniv Vet Fak Derg, **29(2)**, 295-301.
- Coughlan AR, Miller A** (1998): *Manual of Small Animal Fracture Repair and Management* .17-45. In: S Roe (Ed), Biomechanical Basis of Bone Fracture and Fracture Repair, British Small Animal Veterinart Association, Cheltenham, United Kingdom.
- Duhautois B** (2003): *Use of interlocking nails for diaphyseal fractures in dogs and cats: 121 cases*. Vet Surg, **32**, 8-20.
- Durall I, Diaz MC** (1996): *Early Experience With The Use Of An Interlocking Nail For The Repair Of Canine Femoral Shaft Fractures*. Vet Surg, **25**, 397-406.
- Fossum TW** (2013): *Small Animal Surgery*. 1033-1105. In: Fundamentals of Orthopedic Surgery and Fracture Management, Mosby Inc., St. Louis.
- Johnson AL, Dunning D** (2005): *Atlas of Orthopedic Surgical Procedures of the Dog and Cat*. 132-133. In: Stabilizing a Comminuted Diaphyseal Fracture with an Interlocking Nail, Elsevier Inc., St. Louis, Missouri.
- Kürüm B** (2012): *Interlocking nail stabilization of canine femoral fractures; clinical experience and results of the nineteen cases*. Kafkas Univ Vet Fak Derg, **18(6)**, 1027-1034.
- Nabholz K, Pozzi A, Schmierer PA, Smolders LA, Knell SC** (2019): *Safety and Accuracy of Minimally Invasive Long Bone Fracture Repair Using a 2.5-mm Interlocking Nail: A Cadaveric Feline Study*. Vet Comp Orthop Traumatol, **32(5)**:351-361.
- Stiffler KS** (2004): *Internal Fracture Fixation*. Clin Tech Small Anim Pract, **19**,105-113.



DOI: 10.33188/vetheder.555442

Araştırma Makalesi / Research Article

## Evaluation of relation with pet food and first record of *Necrobia rufipes* (De Geer, 1775) (Coleoptera: Cleridae) associated with pet clinic in Turkey

**NafİYE KOÇ<sup>1, a\*</sup>, MERT ARSLANBAŞ<sup>1, b</sup>, CANBERK TİFTİKÇİOĞLU<sup>1, c</sup>, AYŞE ÇAKMAK<sup>1, d</sup>, A. SERPİL NALBANTOĞLU<sup>1, e</sup>**

<sup>1</sup> Ankara University Faculty of Veterinary Medicine Department of Parasitology, 06110 TURKEY

ORCID: 0000-0003-2944-9402<sup>a</sup>, 0000-0002-9307-4441<sup>b</sup>, 0000-0003-1828-1122<sup>c</sup>, 0000-0003-2606-2413<sup>d</sup>, 0000-0002-9670-7566<sup>e</sup>

### MAKALE BİLGİSİ:

#### ARTICLE INFORMATION:

Geliş / Received:

18 Nisan 2019

18 April 2019

Kabul / Accepted:

06 Aralık 2019

06 December 2019

#### Anahtar Sözcükler:

Adli entomoloji

Depo gıda ürünler

*Necrobia rufipes*

Pet klinik

Pet mamaları

#### Keywords:

Forensic entomology

*Necrobia rufipes*

Pet clinic

Pet food

Stored product

### ABSTRACT:

The purpose of this study is to report clinical infestations caused by *Necrobia rufipes* (*N. rufipes*), mainly related to forensic entomology, in pet food. As a result of the evaluation of the infested materials which came to our laboratory within the scope of the study, clinical observations were made to understand the intensity of infestations in the region and to learn their origins. As a result, dry cat and dog foods were determined to be responsible for infestation. During the observations, intense insect populations were found, especially in pet food bowl and bags. The related insects have caused considerable loss of product and significant economic damage in infested pouches. Reports on clinical infestations from *N. rufipes* are quite rare. However, considering the high protein content of cat and dog food present in clinic and the nutritional habits of these insects, the possibility of having clinic infestations from *N. rufipes* should not be ignored. Many factors, such as lack of sanitation, can play an important role in infesting foods with insects. With the early detection and control of the invasions, it is possible to prevent the spread of pests throughout the clinic and to maintain the wholeness and quality of food products.

### ***Necrobia rufipes*'in pet mamallarıyla ilişkisinin değerlendirilmesi ve Türkiye'deki kliniklerden ilk bildirimi**

#### ÖZET:

Bu çalışmanın amacı, esas olarak adli entomoloji ile ilgili olan *Necrobia rufipes*'in evcil hayvan mamaları aracılığıyla neden olduğu klinik enfestasyonları bildirmektir. Çalışma kapsamında laboratuvarımıza gelen enfeste materyallerin değerlendirilmesi sonucunda, enfestasyonların bölgedeki yoğunluğunun anlaşılması ve kökenlerinin öğrenilmesi için klinik gözlemleri yapılmıştır. Bunun sonucunda kuru kedi ve köpek mamalarının enfestasyondan sorumlu olduğu belirlenmiştir. Gözlemler sırasında, özellikle evcil hayvan mama tabaklarında ve poşetlerinde yoğun böcek popülasyonu tespit edilmiştir. İlgili böcekler enfeste poşetlerde ciddi miktarda ürün kaybına ve önemli ekonomik hasara yol açmıştır. *N. rufipes* kaynaklı klinik enfestasyonlara dair raporlar oldukça azdır. Fakat klinik içerisinde mevcut olan yüksek protein içeriğine sahip kedi ve köpek mamaları ve bu böceklerin beslenme alışkanlıklarını değerlendirildiğinde, *N. rufipes* kaynaklı klinik enfestasyonları olma olasılığı gözardı edilmemelidir. Sanitasyon eksikliği gibi birçok faktör yiyeceklerin böcekler ile enfeste olmasında önemli bir rol oynayabilir. İstilaların erken tespiti ve mücadeleşi ile hastelerin tüm kliniğe yayılmasını önlemek, gıda ürünlerinin bütünlüğü ve kalitesini korumak mümkündür.

**How to cite this article:** Koç N, Arslanbaş M, Tiftikçioğlu C, Çakmak A, Nalbantoglu AS: Evaluation of relation with pet food and first record of *Necrobia rufipes* (De Geer, 1775) (Coleoptera: Cleridae) associated with pet clinic in Turkey. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 91(1): 44-48, 2020, DOI: 10.33188/vetheder.555442

\* Sorumlu yazar eposta adresi / Corresponding author e-mail address: nafiyekocc@gmail.com

## 1. Introduction

The species *Necrobia rufipes* (De Geer, 1775) is a beetle of the family Cleridae and is commonly called as red-legged ham beetle as well as the copra beetle. The red-legged ham beetle is a cosmopolitan pest, causing significant damage to stored products such as copra (dried coconut), ham, cheese, dried fish and other high protein foods (11, 16). It was also reported on animal carriions and human corpses in various countries such as Brazil (2), Hawaii (14), Turkey (13) and Angola (12). In addition, *N. rufipes* are known as predators of larvae (*Lasioderma serricorne*, *Oryzaephilus mercator*, *Carpophilus dimidiatus*), parasites and scavengers (3). Due to this feeding habits, *N. rufipes* has an importance in both stored product and forensic entomology.

The body of adult insect is metallic greenish blue and have prolonged ovalize shape with three body part and 11 segmented antennae. The length of the body is varying from 3.5 to 7 mm. Legs' color could be shiny reddish-brown or orange which give this insect its name. Antennae mostly seem as reddish-brown but with a black club or dark brown at the end. Especially lateral parts of thorax and elytra has stiff bristle-like hairs. Females' elytra are more evident and oriented toward the head. Males have more uniform and oblique elytra (8, 10, 15).

Full-grown form of larvae is approximately 10 mm long; somewhat hairy. Most of body parts are creamish-grey with dappled violet-grey markings on the top. Hardened brown plates are available on first thoracic and last (the ninth) abdominal segment and head; small brownish plates can also be found on 2nd and 3rd thoracic segments. Last abdominal plate has two protuberances seems like horn which extremely curve upwards (10, 15).

The life cycle is completed between 35-150 days depending on existence of the food and temperature. An adult insect could lay approximately 2000 transparent eggs. The eggs are laid generally in cluster on the surface of the food. After 4 or 5 days, they hatch in optimal condition and the life cycle proceeds with succession of 4 larval stages. Pupal chambers are built after 13 days. 7th day of the pupation, emergence of the imago occurs. (4, 8, 15, 16). *N. rufipes* could use variety of ingredients for build their chambers. For *N. rufipes*, optimum development temperature is about 30-34 °C, it needs minimum 22°C to continue their life cycle. The maximum temperature boundary is unknown, however if it reaches above 40-42 °C; this may prevent beetles' development. Also this pest needs 50% or above equilibrium relative humidity (1, 5, 10).

The physical methods such as polythene and thick brown paper for sacks line of food bags, fitting doors and fly screens around or over drying racks can be used for the prevention and control for this pest. In addition, quality of the processing and bags are important. Freezing or the exact opposite high temperatures (45°C or higher) can be used for killing the pests. In addition, low oxygen (O<sub>2</sub>) obtained by low pressure under a vacuum, ozone (O<sub>3</sub>) and high carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) exposure up to 144 hours at 23°C for kill %100 of all stages of *N. rufipes* (5, 6, 7, 8, 10, 15).

Furthermore, we have to consider other stored food product pests especially fed with meat such as Larder Beetle, *Dermestes lardarius* L.; Black Larder Beetle, *Dermestes ater*; Hide Beetle, *Dermestes maculatus*; Cheese Skipper, *Piophila casei* (L.) (4). Since these pests' existence depends on the content of the food and also their habitat requirements are similar to the *N. rufipes*, there is a possibility of encounter these insects in the pet clinics.

In the present study, we would like to raise awareness about the occurrence of *N. rufipes* in pet clinics due to the food with rich protein content. In addition, this study has an importance to become first record for *N. rufipes* associate with pet food in Turkey.

## 2. Material and Methods

The owners of four pet clinics from Ankara province was applied to our laboratory at different time with the beetle infestation problem. As a result of the examination of the infested materials, clinical observations were needed to understand the intensity of infestations in the region and to learn their origins.

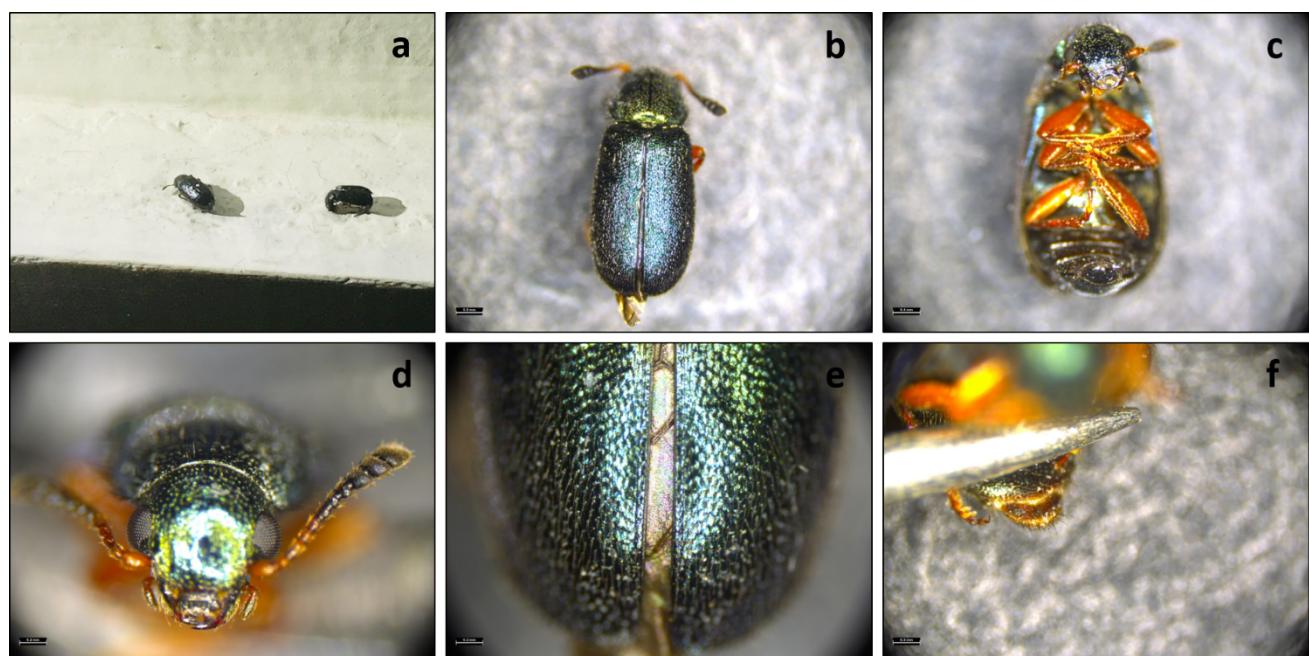
Pet food specimens and insects were collected from different parts of the clinics, were transferred in 70% ethanol to Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology. In parasitology laboratory,

the samples were analyzed under stereomicroscope (Leica S8AP0) and specific key factors were recorded to enable the identification of species (9, 10, 13).

### 3. Results

Physical observation of related clinics exhibited a large number of adult insect and larvae population, especially intense infestation occurred in the pet food bowls and bags. Besides, three of the clinics were heavily infested that the beetles were observed even on the wall edges of store area and rooms.

All samples found from different part of clinics were adults, however, eggs and larvae stages were detected on food samples. Totally, 350 adults and 180 larvae were collected from infested clinics. The result of stereomicroscopic examination of the insect body parts, all samples were identified as *Necrobia rufipes*. Main morphological features are shown in Figure 1.



**Figure 1:** The morphologic characteristics of *N. rufipes*. a: photo of wall edge from the clinic b: dorsal view of the body (bar: 0,6mm) c: ventral view of the body (red-legs and mouthparts) (bar: 0,4mm) d: antennae (bar: 0,2mm) e: elytra (bar: 0,2mm) f: last part of the abdomen (bar: 0,3mm).

**Sekil 1:** *N. rufipes*'e ait morfolojik özellikler. a: enfeste klinikten görüntüü b: dorsal vücut görünümü (bar: 0,6mm) c: ventral vücut görünümü (kırmızı bacaklar ve ağız organları) (bar: 0,4mm) d: anten (bar: 0,2mm) e: elytra (bar: 0,2mm) f: abdomenin son kısmı (bar: 0,3mm).

#### 4. Discussion and Conclusion

The results of the current study indicate that these insects threaten pet clinics via pet food and this is the first report of *Necrobia rufipes* in Turkey. They led to significant economic damage and loss of food products.

There is only two report about red-legged ham beetle infestation related with retail pet store (11) and pet food (8), but the origin of the insects' infestation is unknown.

Pet foods, especially dried carnivore food, are rich in animal protein content, which is suitable for *N. rufipes* life cycle and even completely packing of pet food is not often able to prevent to insect infestation. In some cases, it can come from raw material or from the place where dry pet food products are stored. Therefore, *N. rufipes* infestation may have been associated with stored pet foods (8, 11). In addition, some authors indicate that due to their predator properties, the occurrence of *N. rufipes* mostly link to this (9, 11).

In present two cases, the infestation of *N. rufipes* could be detected accidentally while changing the food plate. Several adult and larvae *N. rufipes* were also seen on crevices of the doors and some carton material that exist in clinics. As a matter of fact, the main infested food bags material was also made from carton. It can be suggested that wood material and carton packaging are preferred by *N. rufipes* larvae for becoming pupae and this can be the way to spread infestation.

Early detection and management of infestation is important to avoid to spread of the beetles to the whole clinic and integrity and quality of food products. Because of difficulty about the monitoring of *N. rufipes* infestation, some trap can be kept in clinics for early detection and for prevention of spread of insect. Even though there is no specific trap for *N. rufipes*, the larvae and adult forms can be captured with commercial traps which contain some food oil and pheromone lures (11).

Another point to consider is the lack of specific information about control strategies. The sanitation is more important to prevent and control for *N. rufipes*. But, there is a report that using cleaning alone did not have an effect on adult form, but reduced larval presence (6, 11). However, sanitation followed by cyfluthrin spray greatly reduced both larvae and adults.

We conclude that *N. rufipes* can be available in pet clinics due to food with high protein content. It causes not only unpleasant images and economic losses but also decreases the quality of food. It is important to pay attention to the hygiene conditions and avoid creating environments that they can maintain their biology. Still, there is not enough information about the detection and prevention methods. Detailed researches are needed to better understanding for food preference, behavior and vector potential of this emerging pest associated with pet sector.

#### References

1. Ashman F (1963): Factors affecting the abundance of the copra beetle, *Necrobia rufipes* (Deg.) (Col, Cleridae). Bull Entomol Res, **53(4)**, 671-680.
2. Carvalho LML, Thyssen PJ, Linhares AX, Palhares FAB (2000): A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in Southeastern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, **95(1)**, 135-138.
3. De Souza AM, Linhares AX (1997): Diptera and Coleoptera of potential forensic importance in southeastern Brazil: relative abundance and seasonality. Med Vet Entomol, **11**, 8-12.
4. Ebeling W (1978): *Urban Entomology*. Division of Agricultural Sciences, California.
5. Haines CP, Rees DP (2019): *A Field Guide to the Types of Insects and Mites Infesting Cured Fish*. Access: <http://www.fao.org/3/t0146e/T0146E00.HTM#Contents>. Access date: 05.04.2019
6. Hasan MDM, Aikins MJ, Schilling W, Phillips TW (2016): Efficacy of Controlled Atmosphere Treatments to Manage Arthropod Pests of Dry-Cured Hams. Insects, **7(3)**, 44.
7. Gomes L, Gomes G, Desu'o C (2009): A preliminary study of insect fauna on pig carcasses located in sugarcane in winter in southeastern Brazil. Med Vet Entomol, **23**, 155-159.

8. Gredilha R, Lima AF (2007): *First record of Necrobia rufipes (De Geer, 1775) (Coleoptera; Cleridae) associated with pet food in Brazil.* Braz J Biol, **67(1)**, 187-2007.
9. Kulshrestha P, Satpathy DK (2001): *Use of beetles in forensic entomology.* Forensic Sci Int, **120(1-2)**, 15-17.
10. Robinson WH (2005): *Urban Insects and Arachnids: A Handbook of Urban Entomology.* Cambridge University Press, New York.
11. Roesli R, Subramanyam B, Campbell JF, Kemp K (2003): *Stored-Product Insects Associated with a Retail Pet Store Chain in Kansas.* J Econ Entomol, **96(6)**, 1958-1966.
12. Sebastião M, Castro CP (2019): *A Preliminary Study of Carrion Insects and Their Succession in Luanda, Angola.* J Med Entomol, **56(2)**, 378-383.
13. Sert O, Kabalak M, Şabanoglu B (2012): *Determination of Forensically Important Coleoptera and Calliphoridae (Diptera) Species on Decomposing Dog (Canis lupus familiaris L.) Carcass at Ankara Province.* Hacettepe J Biol Chem, **40(1)**, 99-103.
14. Shalaby OA, Carvalho LML, Goff ML (2000): *Comparison of patterns of decomposition in hanging carcass and a carcass in contact with soil in a xerophytic habitat on the island of Oahu, Hawaii.* J Forensic Sci, **45(6)**, 1267-1273.
15. Simmons P, Ellington GW (1925): *The ham beetle, necrobia rufipes de geer.* J Agricultural Research, **30(9)**, 845-863.
16. Zanetti NI, Visciarelli EC, Centeno ND (2015): *Marks caused by the scavenging activity of Necrobia rufipes (Coleoptera: Cleridae) under laboratory conditions.* J Forensic Leg Med, **33**, 116-120.



DOI 10.33188/vetheder.643824

Araştırma Makalesi / Research Article

## **Modelling of the milk supplied to the industry in Turkey through Box-Jenkins and Winters' Exponential Smoothing methods**

**Ahmet Cumhur AKIN <sup>1,a\*</sup>, Mustafa Agah TEKİNDAL <sup>2,b</sup>, Mehmet Saltuk ARIKAN <sup>3,c</sup>,  
Mustafa Bahadır ÇEVİRİMİLİ <sup>4,d</sup>**

<sup>1</sup> Department of Animal Health Economics and Management, Faculty of Veterinary Medicine, Mehmet Akif Ersoy University, Burdur, Turkey

<sup>2</sup> Department of Biostatistic, Faculty of Veterinary Medicine, Selcuk University, Konya, Turkey

<sup>3</sup> Department of Animal Health Economics and Management, Faculty of Veterinary Medicine, Firat University, Elazığ, Turkey

<sup>4</sup> Department of Livestock Economics and Management, Faculty of Veterinary Medicine, Selcuk University, Konya, Turkey

ORCID: 0000-0003-3732-0529 <sup>a</sup>; 0000-0002-4060-7048 <sup>b</sup>; 0000-0003-4862-1706 <sup>c</sup>; 0000-0001-5888-242X <sup>d</sup>

### MAKALE BİLGİSİ:

#### ARTICLE INFORMATION:

Geliş / Received:

06 Kasım 19

06 November 19

Kabul / Accepted:

12 Aralık 19

12 December 19

#### Anahtar Sözcükler:

Box-Jenkins yöntemi

Çiğ süt

Düzenleştirmeye

Yöntemi

Türkiye

Winter's Üstel

Zaman serisi

#### Keywords:

Box-Jenkins method

Raw milk

Smoothing method

Time series

Turkey

Winters' Exponential

### ABSTRACT:

Analysis of the quantity of cow milk supplied to the industry in Turkey is one of the methods that could provide stakeholders with the most accurate results from the perspective of raw milk projections and the interpretation of the sector. Therefore, it is important that the amount of milk supplied to the industry is used instead of the total amount of milk produced in the projections of the sector. The present study is intended to model the time series data of the amount of milk supplied to the dairy industry in Turkey between 2013/01 and 2018/03 using Box-Jenkins and Winters' Exponential Smoothing methods, and to analyse the production of milk and the future of the dairy industry in Turkey utilising the forecasts obtained from such models. The results of the analyses indicate that the Winters' Exponential Smoothing model gives more consistent results than the Box-Jenkins model with respect to the future forecast value and decision-making criterion of the amount of milk supplied to the industry.

## **Türkiye'de sanayiye aktarılan sütün Box-Jenkins ve Winter's Üstel Düzgünleştirme yöntemleri ile modellenmesi**

### ÖZET:

Türkiye'de sanayiye aktarılan inek sütü miktarı üzerinden gerçekleştirilecek analizler, geleceğe yönelik çiğ süt projeksiyonları ve sektörün yorumlanması noktasında paydaşlara en doğru sonucu verebilecek yöntemlerden birisidir. Bu nedenle üretilen toplam çiğ süt miktarı yerine sanayiye aktarılan çiğ süt miktarının kullanımı ve bunun üzerinden bir takım projeksiyonların yapılması önem arz etmektedir. Yapılan bu çalışmaya, 2013/01-2018/03 dönemleri arası Türkiye'de süt sanayiye aktarılan çiğ süt miktarı zaman serisinin Box-Jenkins ve Winter's Üstel Düzgünleştirme yöntemleri ile modellenmesi ve bu modellerin öngörülerileyile Türkiye'de çiğ süt üretimi ve süt sektörünün geleceği açısından analizi amaçlanmıştır. Yapılan analizler sonucunda Winter's Üstel Düzgünleştirme modelinin sanayiye aktarılan süt miktarının karar verme kriteri ve geleceğe yönelik kestirim değeri bakımından Box-Jenkins modelinden daha tutarlı sonuç vereceği belirlenmiştir.

**How to cite this article:** Akın AC, Tekindal MA, Arıkan MS, Çevrimli MB: Modelling of the milk supplied to the industry in Turkey through Box-Jenkins and Winters' Exponential Smoothing methods. *Veteriner Hekimler Dergisi*, 91(1): 49-60, 2020, DOI: 10.33188/vetheder.643824

\* Sorumlu yazar eposta adresi / Corresponding author e-mail address: acumhurakin@mehmetakif.edu.tr

## 1. Introduction

In Turkey, the dairy industry is one of the most dynamic branches of production among the sub-sectors of the farming industry (1). A total of 20,699,894 tons of milk was produced in 2017. 90.64% of the milk produced is cow milk, 6.49% sheep milk, 2.53% goat milk and 0.34% water buffalo milk (2). A significant portion of the milk produced in Turkey is cow milk. Research has shown that 52.2% of the cow milk produced in Turkey is subjected to industrial processes, 21.5% is used by individuals to produce dairy products, 10.5% is directly sold to non-industrial buyers, 8.2% is consumed as milk by individuals, 5.0% is used to feed animals, 2.2% is delivered free of charge and 0.4% is used for other purposes (3).

The amount of milk supplied to the industry in developed countries is high, as the informal economy is low and production has a more sustainable pattern, unlike the case in Turkey (1).

In this context, various market intervention methods were resorted to in an attempt to keep the milk supply and prices at the desired level in the developed countries. For instance, quota system was used to reduce the milk supply to a level sufficient to meet the demand in the EU, and was employed to increase the income of raw milk producers that did not have a sufficient level of income to the desired level in Canada (4).

The dairy industry in Turkey has some problems due to the fact that the milk supply varies by regions and seasons and that the dairy industry and cattle breeding enterprises have a distributed structure (5).

Furthermore, the marketing network in Turkey is quite different and is generally based on intermediaries. While this marketing chain results in increases in the price of final products, it also leads to decreased efficiency in the procurement of milk by industrialists. Particularly, a sustainable production requires a dairy industry integrated with an effectively functioning production sector (6).

Milk-processing companies face an uncertain production pattern in planning their production processes. This uncertainty results in huge economic losses if it is not taken into account when planning the production (7).

The quantity of milk supplied to the industry is as important as the quantity of raw milk produced for the production planning of such enterprises. Therefore, the projections based on the number of livestock, the quantity of milk as well as the recorded quantity of raw milk supplied to the industry will allow us to make clearer inferences and predictions for the future of the dairy industry. For this purpose, there is need for creation of a proper database and time series analysis methods that enable modelling of such data (8).

While the studies conducted in recent years have focused on prediction of milk production, time series analyses have found wide use in predicting the procurement of milk by milk cooperatives and the production of milk in the future (9, 10, 11), the milk production by the dairy industry in the future (12, 13), the procurement of milk by milk-processing companies (14), analysis of market prices of milk and forecast for the future (15).

The purpose of the present research is to model the time series data of the quantity of raw milk supplied to the dairy industry in Turkey between 2013/01 and 2018/03 using Box-Jenkins and Winters' Exponential Smoothing methods, and to appraise the models in terms of the production of raw milk and the future of the dairy industry in Turkey.

## 2. Material and Methods

### Data set:

The data of the research are the monthly quantities of raw milk supplied to the dairy industry between 2013/01 and 2018/03. The data on raw milk supplied to the dairy industry were obtained from relevant industrial organisations. Table 1 shows the time series data on the quantity of cow milk supplied to the dairy industry.

**Table 1:** Quantity of milk supplied to the dairy industry (tons)**Tablo 1:** Süt sanayine aktarılan süt miktarı (Ton)

	<b>2013</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>	<b>2018</b>
<b>January</b>	610.403,56	675.713,86	683.819,45	714.131,76	734.834,39	803.544,05
<b>February</b>	593.031,43	654.907,21	664.967,96	722.488,61	711.651,39	775.895,14
<b>March</b>	691.122,72	761.814,20	776.788,47	818.214,00	835.971,63	889.907,97
<b>April</b>	717.892,77	782.557,32	798.960,40	818.148,07	834.345,08	
<b>May</b>	756.972,33	814.708,71	861.918,48	849.338,25	868.350,38	
<b>June</b>	715.380,99	746.764,72	790.440,37	770.543,06	796.465,07	
<b>July</b>	653.514,61	715.180,42	743.506,00	725.436,34	777.953,52	
<b>August</b>	608.758,67	669.141,67	698.885,00	706.024,87	748.471,50	
<b>September</b>	573.025,57	618.715,92	648.267,00	653.904,24	700.513,19	
<b>October</b>	578.777,69	614.828,66	663.146,00	678.526,63	717.421,54	
<b>November</b>	581.183,37	603.411,09	648.520,00	660.111,99	701.531,53	
<b>December</b>	622.900,22	652.510,37	692.961,00	695.722,70	759.149,83	

**Analysis method:**

In this research appraise the estimate made employing the methods of "Autoregressive Integrated Moving Average" (ARIMA) and "Winters' Exponential Smoothing" in a time series analysis. SPSS 25.0 version was used for the analysis.

Developing an appropriate model by using statistical methods and making predictions for the future may be possible with time series. The time series is a series of observations made at periodic time intervals (16). The predictions for the success of these series are related to the fact that the past values are stable. The margin of error of the estimates of series showing descent-output values is very high compared to stationary series (17). The stagnation can be defined as the "probabilistic process whose mean and variance do not change over time and whose common variance between two periods depends on the distance between the two periods, not the period on which this common variance is calculated." (18, 19). The most common tests used to investigate stagnation are; series "Autoregressive Correlation Function" (ACF), "Partial Autocorrelation Function" (PACF) graphs and "augmented Dickey-Fuller" (ADF) unit root test (20).

**Box-Jenkins Method (ARIMA):**

This method is in two different processes (21). The autoregressive model (AR) and the the moving average (MA) model. Box-Jenkins method, which is a combination of two models, is expressed with ARMA model. However, Box-Jenkins method is required to be stationary series.

In order to perform the series constant, d difference of the cow milk supplied to the dairy industry series is taken. After, it is included in the ARMA model to acquire the ARIMA model. In time series estimate, this model is commonly used because of its statistical characteristics as well as its structure (22).

Depending on the nature of the data available, an ARIMA model with the most convenient but limited number of parameters is selected among the various model options. Such non-seasonal models are indicate by ARIMA ( $p,d,q$ ). In an ARIMA model;

$p$ : the degree of the autoregressive model (AR),

$q$ : the degree of the moving average model (MA),

$d$ : the degree of the non-seasonal differences taken. The ARMA model is as given in equation [1] (21).

$$Y_t = \sum_{i=1}^q \beta_i \varepsilon_{t-i} + \sum_{i=1}^p \alpha_i Y_{t-i} + \varepsilon_t \quad [1]$$

Equation [2] is acquire when the first difference of the non-stationary time series  $X_t$  is taken.

$$\nabla X_t = X_t - X_{t-1} = X'_t \quad [2]$$

If the time series  $X'_t$  is still not stationary, its second difference ( $d=2$ ) is taken.

$$\nabla^2 X_t = \nabla(X'_t) = X'_t - X'_{t-1} = X_t - 2X_{t-1} + X_{t-2} \quad [3]$$

If the series is still not stationary, the differencing is repeated until it becomes stationary. Thus, the ARIMA( $p,d,q$ ) model is obtained (23).

$$X_t = \nabla^d Y_t = (1 - B)^d Y_t \quad [4]$$

Seasonal Box-Jenkins models are usually denoted by ARIMA[ $p,d,q$ ] (P,D,Q)s.

P: the degree of the seasonal autoregression (SAR) model,

D: the number of seasonal differences taken,

Q: the degree of the seasonal moving average (SMA) model,

s: the period (18).

$$(1 - \phi_1 B - \phi_2 B^2 - \dots - \phi_p B^p)(1 - \phi_1 B^s - \phi_2 B^{2s} - \dots - \phi_p B^{ps})(1 - B)^d (1 - B^s)^D Z_t = (1 - \theta_1 B - \theta_2 B^2 - \dots - \theta_q B^q)(1 - \theta_1 B^s - \theta_2 B^{2s} - \dots - \theta_Q B^{qs}) \varepsilon_t \quad [5]$$

### **Winters' Exponential Smoothing Method**

This method is used where there is both trend and seasonality in the data series at hand. Seasonality is seen in real data and this method can be additive or multiplicative. The additive and multiplicative model equations are given in equality [6] and equality [10] (24).

Additive model

$$Y_{(t+h)} = \mu_{(t)} + b_{(t)} t + S_{(t-p+h)} + e_{(t)} \quad [6]$$

The updated average equation is given in equation [7].

$$\mu_{(t)} = \alpha(Y_{(t)} - S_{(t-p)}) + (1-\alpha)(\mu_{(t-1)} + b_{(t-1)}) \quad [7]$$

The equation of the updated trend component is given in equation [8].

$$b_{(t)} = \gamma(\mu_{(t)} - \mu_{(t-1)}) + (1-\gamma)b_{(t-1)} \quad [8]$$

The equation of the updated seasonality component is given in equation [9].

$$S_{(t)} = \delta(Y_{(t)} - \mu_{(t)}) + (1-\delta)S_{(t-p)} \quad [9]$$

Multiplicative Winters' model has a linear trend and seasonality with multiplicative parameters, and is as follows:

$$Y_{(t)} = (\mu_{(t)} + b_{(t)} t) S_{(t-p+h)} + e_{(t)} \quad [10]$$

The updated average equation is given in equation [11].

$$\mu_{(t)} = \alpha(Y_{(t)} / S_{(t-p)}) + (1-\alpha)(\mu_{(t-1)} + b_{(t-1)}) \quad [11]$$

The equation of the updated trend component is given in equation [12].

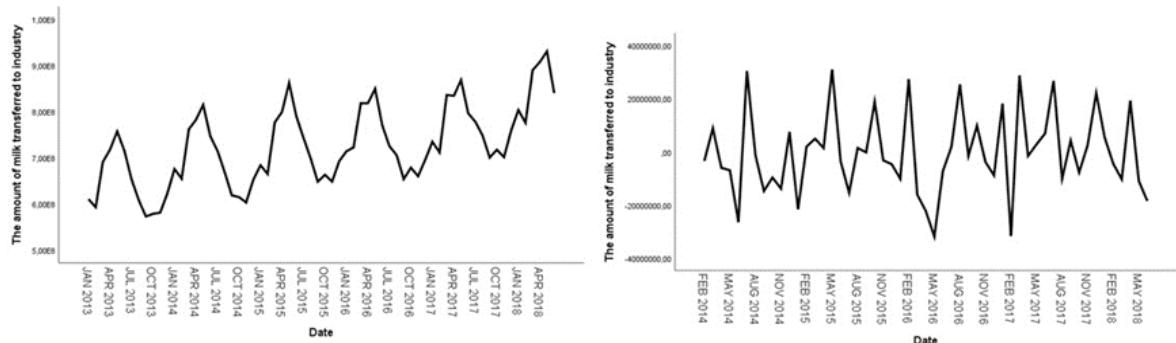
$$b_{(t)} = \gamma(\mu_{(t)} - \mu_{(t-1)}) + (1-\gamma)b_{(t-1)} \quad [12]$$

The equation of the updated seasonality component is given in equation [13].

$$S_{(t)} = \delta(Y_{(t)} / u_{(t)}) + (1-\delta)S_{(t-p)} \quad [13]$$

### 3. Results

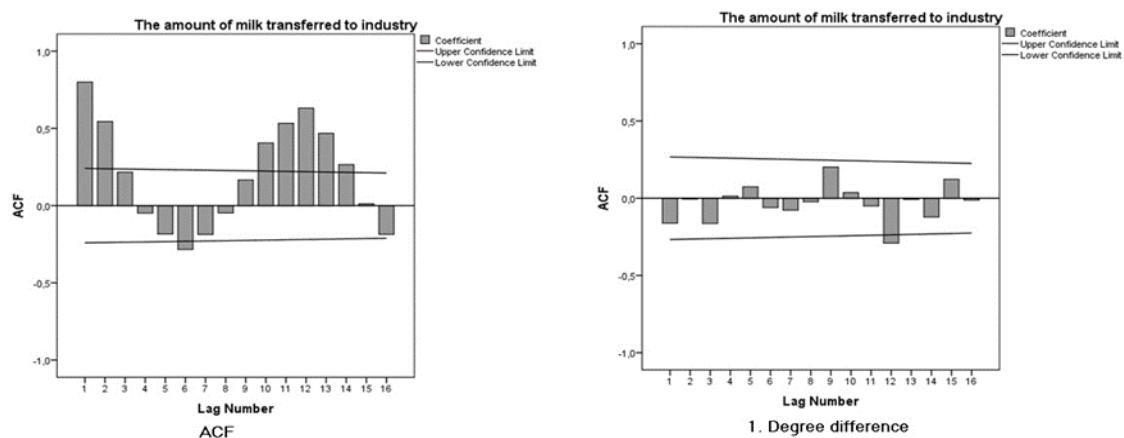
In order to forecast the amount of milk supplied to the dairy industry, time series analysis of the data on the amount of raw milk supplied to the dairy industry between 2013/01 and 2018/03 was conducted. The time series graph of the amount of raw milk supplied to the dairy industry and the graph of the differenced series are given in Fig1.



**Figure 1:** Quantity of milk supplied to the dairy industry (tons) and first differenced and seasonally differenced time series graph

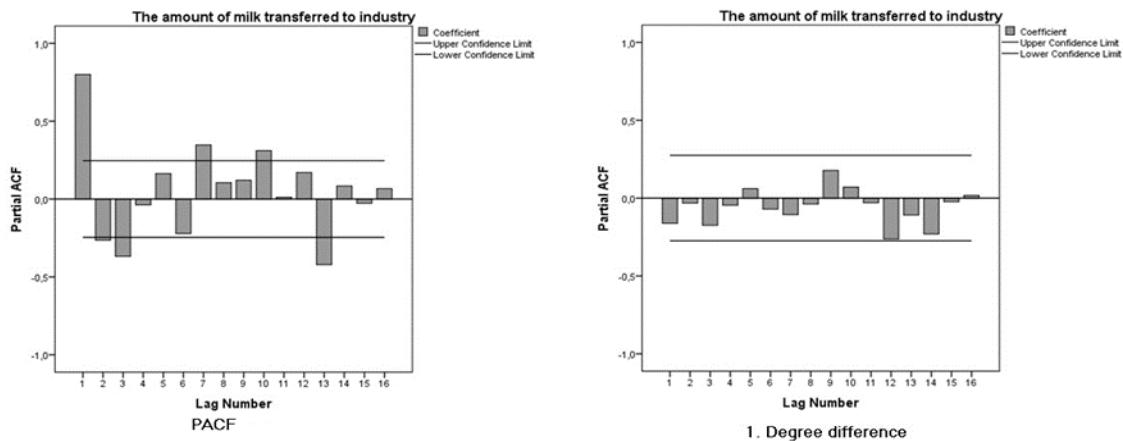
**Şekil 1:** Süt sanayine aktarılan süt miktarı (ton) ve 1. Derece fark ve sezonsal farkı alınmış serilere ait zaman serisi grafiği

When Fig1 is analysed, it can be said that there are fluctuations in the series and an upward trend with a trend. The main reasons that prevent the series from being stationary are the presence of seasonality and trend. The ACF and PACF graphs of the series are given in Fig2 and Fig3 for the study of stability. When the graphs are examined, it can be said that the series is not stable because more than one delay is outside the confidence limits. Since the series is not stationary, the logarithm was first taken and the differences between the values of the series were reduced and partially stabilized. However, this process was applied until the series was stationary. Once the difference was taken, it was concluded that the series stagnated for trend and seasonality. ACF and PACF graphs are shown in Fig2 and Fig3.



**Figure 2:** ACF and first differenced ACF graph of the time series data on the quantity of milk supplied to the dairy industry

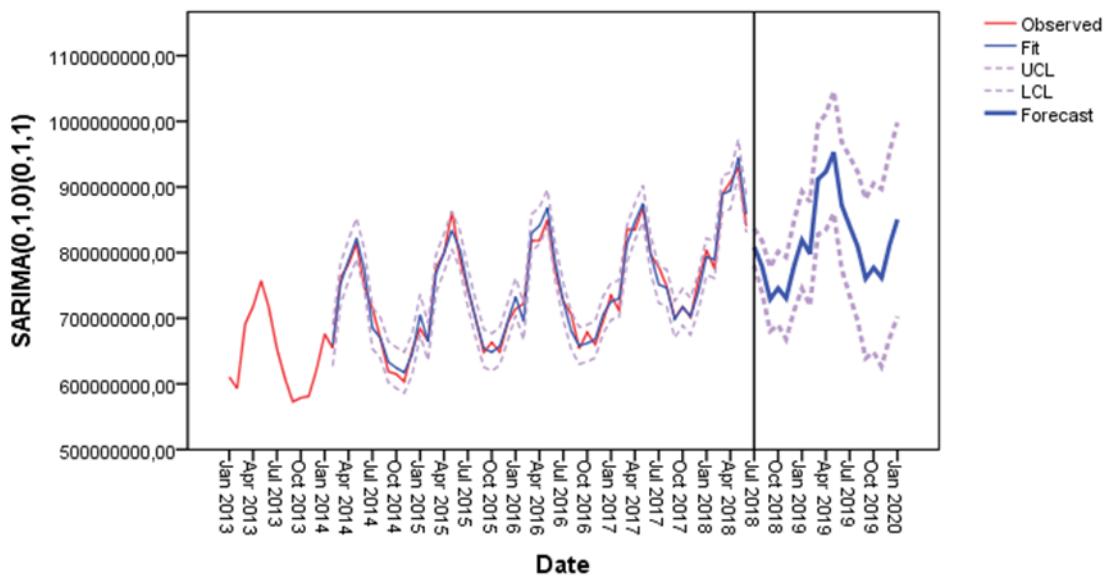
**Şekil 2:** Süt sanayine aktarılan süt miktarına ait serinin ACF ve 1. Derece farkı alınmış ACF grafiği



**Figure 3:** PACF and first differenced PACF graph of the time series data on the quantity of milk supplied to the dairy industry

*Şekil 3: Süt sanayine aktarılan süt miktarına ait serinin PACF ve 1. Derece farkı alınmış PACF grafiği*

It is seen in Fig2 and Fig3 that ACF and PACF graphs are observed when two delays exceed the confidence limit and the other two delays are close to the confidence limit. According to the results, these values can be neglected and it can be said that the series is still stationary. Stability analysis of the series was also performed using the extended ADF unit root test. According to the ADF test before the difference, the series is said to be non-stationary ( $t = -0.254$ ;  $p = 0.954$ ) and after the difference, the series is said to be stationary ( $t = -14.258$ ;  $p = 0.001$ ). While trying to form an appropriate model by making use of these processes, several different models have been tried and the most suitable model for the amount of raw milk transferred to the dairy industry is SARIMA (0,1,0) (0,1,1).



**Figure 4:** Forecast of the quantity of milk supplied to the dairy industry by the Box-Jenkins model

*Şekil 4: Yillara göre süt sanayine aktarılan süt miktarı Box Jenkins modeli öngörü grafiği*

**Table 2:** Forecast values of the quantity of milk supplied to the dairy industry in the Box-Jenkins models (tons)**Tablo 2:** Box Jenkins modellerine göre süt sanayine aktarılan süt miktarı öngörüü değerleri (ton)

	<b>Forecast</b>	<b>UCL</b>	<b>LCL</b>
<b>July_2018</b>	808.627,91	780.665,63	836.590,19
<b>August_2018</b>	777.991,90	738.447,26	817.536,54
<b>September_2018</b>	729.020,93	680.588,83	777.453,02
<b>October_2018</b>	745.730,25	689.805,68	801.654,81
<b>November_2018</b>	730.466,73	667.941,16	792.992,29
<b>December_2018</b>	779.613,15	711.119,82	848.106,47
<b>January_2019</b>	819.240,99	745.259,74	893.222,24
<b>February_2019</b>	798.139,60	719.052,60	877.226,60
<b>March_2019</b>	911.766,49	827.883,94	995.649,04
<b>April_2019</b>	922.917,65	834.499,27	1.011.336,04
<b>May_2019</b>	952.824,51	860.091,89	1.045.557,13
<b>June_2019</b>	871.503,06	774.648,18	968.357,94
<b>July_2019</b>	839.932,90	734.274,07	945.591,74
<b>August_2019</b>	809.296,89	695.513,27	923.080,51
<b>September_2019</b>	760.325,92	638.960,21	881.691,63
<b>October_2019</b>	777.035,24	648.534,04	905.536,44
<b>November_2019</b>	761.771,72	626.510,93	897.032,51
<b>December_2019</b>	810.918,14	669.219,86	952.616,42
<b>January_2020</b>	850.545,99	702.690,23	998.401,75

Table 2 and Table 4 show the forecast values of the amount of milk to be supplied to the dairy industry until 2020. The amount of milk supplied to the dairy industry has an increasing trend.

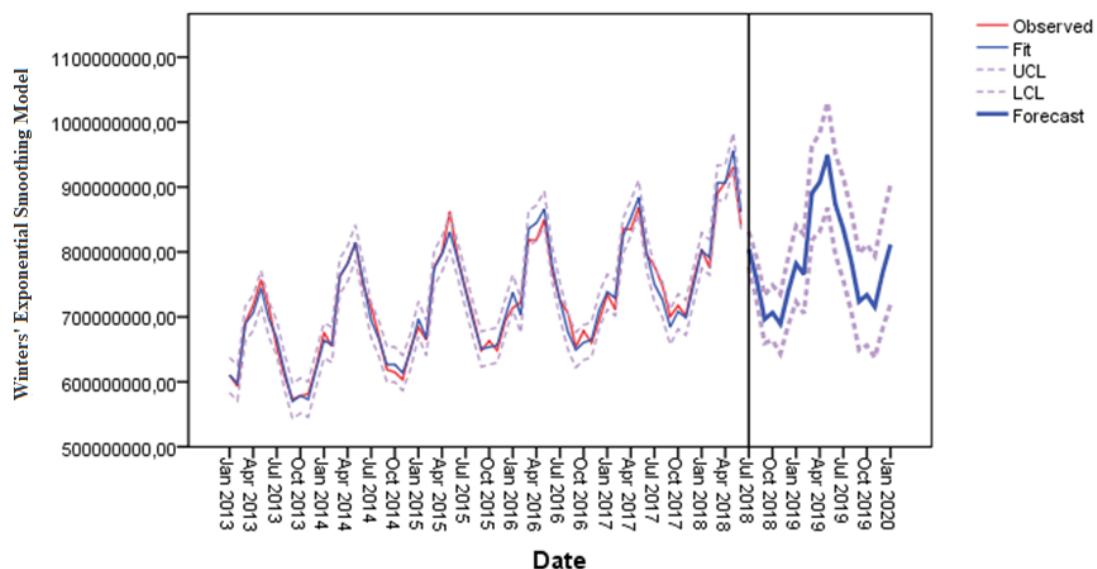
**Table 3:** Model fit criteria for the Box-Jenkins model**Tablo 3:** Box jenkins modeli model uyum kriterleri tablosu

<b>Model</b>	Model Fit statistics								Ljung-Box Q(18)		
	Stationary R-squared	R- squared	RMSE	MAPE	MAE	MaxAPE	MaxAE	Normalized BIC	Statistics	DF	Sig.
<b>Amount of milk transferred to dairy industry- model</b>	0,136      0,967      14379055,290      1,527      11398801,623      4,234      30282092,160      33,037										
									16,363	17	0,498

The goodness of fit criteria of the models are evaluated in a comparative manner.  $R^2$  is a well-known measure and a measure of goodness of fit for the linear model, frequently referred to as the coefficient of determination. It ranges from 0 - 1, and small values show that the model does not fit well into the data. The stationary  $R^2$  is a measure comparing the stationary part of the model with the basic model. It is preferred where there is a trend or a seasonal pattern. RMSE is the square root of the mean of the error squares. It is used to express how different the dependent series is from the level predicted by the model. Smaller values indicate better model estimates. MAPE shows the mean absolute percentage error and is independent of the units of the series, so it can be used to compare different series. The MAE represents the mean absolute error and is expressed in units of the series itself. MaxAPE is the highest absolute percent error measure. It represents the highest error that occurs among the estimated values, expressed as a percentage and is therefore unit independent. Estimates are a measure that can be used for worst-case applications. MaxAE indicates the highest absolute error and is expressed in the same unit as the slave series. The BIC, the normalized “Bayesian Information Criterion”, is a general measure of the total fit of the model. This measure is used to compare between different models in the same series, and lower values indicate a better model (25).

Looking at Table 3, it is clear that the quantity of raw milk supplied to the dairy industry is statistically significant is the Box-Jenkins model ( $p<0.05$ ). MAPE value indicates that the series have quite usable forecasts.

Then, the quantity of raw milk supplied to the dairy industry was predicted using Winters' Exponential Smoothing Method, one of the exponential smoothing methods. Table 4 and Table 5 illustrate the forecast values until 2020. It is clear that the quantity of milk supplied to the dairy industry has an increasing trend.



**Figure 5:** Forecast of the quantity of milk supplied to the dairy industry by the Winters' Exponential Smoothing model (tons)

*Sekil 5: Süt sanayine aktarılan süt miktarına ait Winter Üstel Düzgünleştirme modeli öngörü grafiği (ton)*

**Table 4:** Forecast values of the quantity of milk supplied to the dairy industry in the Winters' exponential smoothing models (tons)**Tablo 4:** Winter üstel düzgünleştirme modellerine göre süt sanayine aktarılan süt miktarı öngörüü değerleri (ton)

	<b>Forecast</b>	<b>UCL</b>	<b>LCL</b>
<b>July_2018</b>	804.225,56	777.161,16	831.289,97
<b>August_2018</b>	757.177,94	724.299,80	790.056,08
<b>September_2018</b>	696.474,87	659.622,69	733.327,04
<b>October_2018</b>	706.530,29	664.378,75	748.681,83
<b>November_2018</b>	689.127,27	643.370,92	734.883,62
<b>December_2018</b>	739.424,70	687.057,82	791.791,59
<b>January_2019</b>	781.704,49	723.361,53	840.047,44
<b>February_2019</b>	766.012,77	705.522,39	826.503,16
<b>March_2019</b>	890.549,36	818.475,92	962.622,79
<b>April_2019</b>	907.276,48	831.495,06	983.057,91
<b>May_2019</b>	948.971,71	867.670,96	1.030.272,46
<b>June_2019</b>	873.012,84	795.499,28	950.526,41
<b>July_2019</b>	835.532,87	756.589,90	914.475,84
<b>August_2019</b>	786.558,44	709.327,38	863.789,51
<b>September_2019</b>	723.412,82	649.134,76	797.690,88
<b>October_2019</b>	733.769,37	656.168,46	811.370,29
<b>November_2019</b>	715.610,32	637.348,50	793.872,14
<b>December_2019</b>	767.749,97	682.277,73	853.222,20
<b>January_2020</b>	811.554,08	719.715,49	903.392,68

**Table 5:** Model fit criteria for the Winters' exponential smoothing model**Tablo 5:** Winter üstel düzgünleştirme modeli model uyum kriterleri tablosu

<b>Model</b>	Model Fit Statistics							Ljung-Box Q (18)			
	Stationary R-squared	R-squared	RMSE	MAPE	MAE	MaxAPE	MaxAE	Normalized BIC	Statistics	DF	Sig.
<b>Amount of milk transferred to dairy industry-model</b>	0,164	0,976	13543438,852	1,399	10337905,872	4,105	31049802,192	33,033	26,487	15	0,033

Looking at Table 5, the MAPE value is 1.399. In this case, the MAPE value of 1.527 obtained from the Box-Jenkins model (SARIMA (0,1,0) (0,1,1)), as shown in Table 5, is higher than that acquire from the Winters' Exponential Smoothing model. The results of the analyses indicate that the Winters' Exponential Smoothing model gives more consistent results than the Box-Jenkins model with respect to the decision-making criterion.

#### 4. Discussion and Conclusion

In an assessment of the problems of the industrial production in Turkey, it was stated that the major problem of the dairy industry was related to the market structure and the lack of organisation (26). The current problems of the industry make it impossible to supply the entire amount of milk produced to the industry.

52.2% of the milk produced in accordance with the requirements issued by the Union of Chambers of Agriculture of Turkey is used in the industry (3). The present study has found that the ratio of the milk supplied to the industry to the total amount of raw milk produced was the lowest in 2013 (42.26%) and the highest in 2016 (47.66%). Incentives and policies aimed at ensuring the produced milk is registered need to be implemented so that this ratio can be increased. Furthermore, the present study has found that the seasonal supply of milk to the industry in Turkey peaks in May and bottoms out in February. The peaking of the milk supply in May in Turkey is also consistent with the results of other studies and reports (1, 27). The sustainability of the dairy industry in Turkey is only possible if proper planning, reasonable investments and revolutionary policies that the industry needs are implemented.

In this context, there is need for creation of a proper database and time series analysis methods that enable modelling of such data so that rational policies for the livestock sector can be prospectively formulated (28). In order to achieve it, production projections for the sub-sectors of the livestock industry should be carried out and appropriate models should be developed for each product.

Various methods such as artificial neural networks (29), stochastic programming (30) and different regression models (31) have been used in predicting the milk production in the future.

As milk production was addressed, the present study used the SARIMA (0,1,0) (0,1,1) model obtained from the Box-Jenkins method and the Winters' exponential smoothing model, which is dependent on both trend and seasonality. The Winters' exponential smoothing model explains the data better, as it has a higher  $R^2$  and lower RMSE, MAPE and MAE values than SARIMA (0,1,0) (0,1,1) model. Estimation with an MAPE rate below 10% are considered good forecasts, thus making it necessary to compare the two models in this scope (32, 33, 34, 35, 36).

The MAPE values of the SARIMA (0,1,0) (0,1,1) model and the Winters' Exponential Smoothing model were found to be 1.527 and 1.399, respectively. The MAPE values of both models suggest that their forecasting accuracy is sufficient. While both models are suitable for forecasting, Winters's exponential smoothing model can be preferred to the SARIMA model, as its MAPE value (1.399) suggests better forecasting performance.

Looking at the forecasts by both models, it is possible to say that there is an increasing trend. That is, it is predicted that the quantity of raw milk supplied to the industry in Turkey will increase within the scope of the seasonality relationship, and will reach a value between a minimum of 719,715.49 tons and a maximum of 903,392.68 tons in January 2020 according to the Winters' exponential smoothing model (Table 4). However, the recent cost-related problems and the decreasing number of dairy cows may lead to deviations in the time series data, and thus in the forecasts.

A study forecasting the future milk supply to the dairy cooperatives in the UK reports that Holt-Winters' (HW) seasonal model and seasonal autoregressive integrated moving average model (SARIMA) generate forecasts that contain less than 3% error (9).

The forecasts of the future milk supply to the milk-processing companies in Norway, based on the data between January 2001 and December 2010 were tested using HW and SARIMA models. The two time series models were compared with a model based on expert opinions and a model based on previous monthly quantities. The study underlines that the combination of the two time series models and the model based on expert opinions generates reliable forecasts for a period of two years (14).

A study conducted in India found that the optimum ARIMA model for milk production forecasts was ARIMA (1,1,0) and calculated the  $R^2$  value to be 0.96, RMSE value 227.534 and MAPE value 4.491 (37).

It is important to implement rational policies as described below so that the problems of the dairy industry in Turkey can be overcome. In this context, the production structure of the dairy industry, most notably the costs, should be given a sustainable character in terms of marketing and quality. To that end, policy makers and the industry need to regularly carry out projections for the quantity of milk to be produced in the future and determine beforehand the

quantity of milk to be produced and processed. If they do so, the dairy industry can have a sustainable structure with planned and organised production.

## References

1. **Akın AC** (2016): *Türkiye süt sanayi işletmelerinin analizi ve sektörre ilişkin sorunların tespiti*. PhD, Ankara Üniversitesi. Ankara. Türkiye.
2. **TURKSTAT** (2019): *Sağilan hayvan sayısı ve süt üretim miktarı*. Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim adresi: [http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1002](http://tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002) Erişim tarihi: 18 March 2019.
3. **TZOB** (2011): *Türkiye Ziraat Odaları Birliği Zirai ve İktisadi Rapor 2007-2010*. Aydoğdu Ofset. Ankara. Türkiye.
4. **Kaya Kuyululu ÇY** (2009): Süt üretiminde arz yönetimi. Aydin İli Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği Yayınları 2. Ankara.
5. **State Planning Organisation** (2001): *8. Beş Yıllık Kalkınma Planı Gıda Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu* Süt ve Süt Ürünleri Sanayii Alt Komisyon Raporu. Ankara. Türkiye.
6. **Günlü A** (2011): *Avrupa Birliği uyum sürecinde Türkiye süt sektöründe sorunlar ve çözüm önerileri*. AB Uyum Sürecinde Türkiye Hayvancılık Kongresi; Ankara, Türkiye.
7. **Guan Z, Philpott AB** (2011): *A multistage stochastic programming model for the New Zealand dairy industry*. International Journal of Production Economics, **134** (2), 289-299.
8. **Özen D** (2017): *Türkiye'de küçükbaş hayvan sayısının Box-Jenkins yöntemiyle modellenmesi ve ileriye yönelik projeksiyonu*, II. Ulusal Hayvancılık Ekonomisi Kongresi Bildiri Kitabı. Antalya, Türkiye, 170.
9. **Akter S, Rahman S** (2010): *Agribusiness forecasting with univariate time series modelling techniques: The case of a dairy cooperative in the UK*. Journal of Farm Management, **13**(11), 747-764.
10. **Arun Patil B** (2015): *A study of growth rates on milk and milk products of bijapur and bagalkoat co-operative milk union limited (BIMUL)*. PhD, Professor Jayashankar Telangana State Agricultural University. Hyderabad.
11. **Sankar TJ, Prabakaran R** (2012): *Forecasting milk production in Tamilnadu*. International Multidisciplinary Research Journal, (1), 10-15.
12. **Ahmed F, Shah H, Raza I, Saboor A** (2011). *Forecasting milk production in Pakistan*. Pakistan Journal of Agricultural Research, **24**(1-4), 82-85.
13. **Deshmukh SS, Paramasivam R** (2016): *Forecasting of milk production in India with ARIMA and VAR time series models*. Asian Journal of Dairy & Food Research, **35**(1), 17-22.
14. **Hansen BG** (2015): *Different methods to forecast milk delivery to dairy: a comparison for forecasting*. International Journal of Agricultural Management, **4**(3), 132-140.
15. **Hansen BG, Li Y** (2017): *An analysis of past world market prices of feed and milk and predictions for the future*. Agribusiness, **33**(2), 175-193.
16. **Tekindal MA, Güllü Ö, Yazıcı AC, Yavuz Y** (2016): *The modelling of time-series and the evaluation of forecasts for the future: the case of the number of persons per physician in Turkey between 1928 and 2010*. Biomedical Research, **27**(3), 965-971.
17. **Fischer B** (1995): *Decomposition of time series comparing different methods in theory and practice*. Eurostat Working Paper.
18. **Gujarati DN**. (2003): *Basic Econometrics*. (4th Edition). McGraw-Hill. New York. pp:797.
19. **Yenice S, Tekindal MA** (2015): *Forecasting the stock indexes of fragile five countries through Box-Jenkins methods*. International Journal of Business and Social Science, **6**(8), 180-191.
20. **Dickey DA, Fuller WA** (1981): *Likelihood ratio statistics for autoregressive time series with a unit root*. Econometrica, **49**(4), 1057-1072.
21. **Box GEP, Jenkins GM** (1976): *Time series analysis; Forecasting and Control*. Holden – Day Inc., USA.
22. **Wickramarachchi AR, Herath HMLK, Jayasinghe-Mudalige UK, Edirisinghe JC, Udugama MM, Lokuge**

- LDMN, Wijesuriya W** (2017): *An Analysis of price behavior of major poultry products in Sri Lanka*. The Journal of Agricultural Sciences, **12(2)**, 138-148.
23. **Brockwell P, Davis R** (2002): *Introduction to Time Series and Forecasting*. 2nd. Ed., Springer.
24. **Yaffee R, McGee M** (2002): *An Introduction to Time Series Analysis and Forecasting: With Applications of SAS and SPSS*. Academic Press, Inc, New York, pp 39-43.
25. **Akaike H** (1974): *A New Look at the Statistical Model Identification*. In: Parzen E., Tanabe K., Kitagawa G. (eds) Selected Papers of Hirotugu Akaike. Springer Series in Statistics (Perspectives in Statistics). Springer, New York, NY.
26. **Günlü A** (2011): *Çiğ süt pazarlanmasıında süt sanayi işletmelerinde firma yoğunlaşma oranlarının araştırılması Burdur ili örneği*. Kafkas Univ Vet Fak Derg, **17(1)**, 101-106.
27. **FAO** (2007): *AB giriş süreci çerçevesinde Türkiye'de süt ve süt ürünleri sektörüne genel bakış*. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü, Roma.
28. **Cenan N, Gürcan IS** (2011): *Türkiye çiftlik hayvan sayılarının ileriye dönük projeksiyonu: ARIMA modellemesi*, Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, **81(1)**, 35-42.
29. **Kaygısız F, Sezgin FH** (2017): *Forecasting goat milk production in Turkey using artificial neural networks and Box-Jenkins models*. Animal Review, **4(3)**, 45-52.
30. **Guan Z, Philpott AB** (2011): *A multistage stochastic programming model for the New Zealand dairy industry*. International Journal of Production Economics, **134(2)**, 289-299.
31. **Hossain MJ, Hassan MF** (2013): *Forecasting of milk, meat and egg production in Bangladesh*. Research Journal of Animal, Veterinary and Fishery Sciences, **1(9)**, 7-13.
32. **Kaymaz Ö** (2018): Forecasting of commercial egg production in Turkey with Box-Jenkins and Winter's Exponential Smoothing Methods. Eurasian J Vet Sci, **34(3)**, 142-149.
33. **Lewis CD** (1997): *Demand forecasting and inventory control*, Wiley, New York, USA.
34. **Temuçin T, Temiz İ** (2016): *Türkiye dış ticaret hacminin projeksiyonu: Holt- inters ve Box-Jenkins modellerinin bir kıyaslaması*. Süleyman Demirel Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi, **21(3)**, 937-960.
35. **Kam HJ, Sung JO, Park RW** (2010): *Prediction of Daily Patient Numbers for a Regional Emergency Medical Center using Time Series Analysis*. Healthc Inform Res, **16(3)**, 158-165.
36. **Özen D, Tekindal MA, Çevrimli MB** (2019): *Modeling and forecasting meat consumption per Capita in Turkey*. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, **16(2)**, 122-129.
37. **Sankar TJ, Prabakaran R** (2012): *Forecasting milk production in Tamilnadu*. International Multidisciplinary Research Journal, **2(1)**, 10-15.



DOI: 10.33188/vetheder.630969

Araştırma Makalesi / Research Article

## Türkiye'de Veteriner Fakülteleri'nde görev alan kadın akademisyenlerin hayvancılık sektörüne bakış açılarının değerlendirilmesi

**Pınar DEMİR AYVAZOĞLU<sup>1, a\*</sup>, Aysun KOÇ<sup>2, b</sup>**

<sup>1</sup> Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvancılık Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Paşaçayırı, Kars, Türkiye 2

<sup>2</sup> Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji Anabilim Dalı, Işıklı, Aydın

ORCID: 0000-0002-7010-0475<sup>a</sup>; 0000-0003-0856-9069<sup>b</sup>

### MAKALE BİLGİSİ:

#### ARTICLE INFORMATION:

##### Geliş / Received:

08 Ekim 2019

08 October 2019

##### Kabul / Accepted:

07 Ocak 2020

07 January 2020

#### Anahtar Sözcükler:

Akademisyen,

Görüşler

Hayvancılık

Kadın

Türkiye

#### Keywords:

Academicians

Livestock

Viewpoints

Turkey

Women

### ÖZET:

Gıda güvenliği ve gıda güvencesi gibi nedenlerden dolayı gıda arzının yeterli düzeyde sağlanabilmesi açısından hayvancılık sektörü stratejik öneme sahiptir. Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de Veteriner Fakültelerinde görev yapan kadın akademisyenlerin hayvancılık sektörünün sorunlarına ve bunlara yönelik çözüm önerilerine ilişkin görüşlerini sunmaktr. Ayrıca kadınların hayvancılığa katkıları belirlenmeye çalışılmıştır. Bu nedenle veteriner fakültesinde görev alan ve alışmaya katılmayı kabul eden 220 kadın akademisyenle ile bu çalışma yapılmıştır. Kadın akademisyenlere göre Türkiye'deki hayvancılık sektörünün en önemli sorunları arasında girdi maliyetlerinin (yem, mazot, gübre vb) yüksek olması, üretim ve pazarlama aşamasında yaşanan sorunlar ve ithalatın artarak devam etmesi gelmektedir. Katılımcıların %44,5'i veteriner fakültelerinin Türkiye'de mevcut hayvancılık politikalarına ilişkin durum tespiti ve çözümü noktalarında yeterince etkin olmadığını ifade etmiştir. Yapılan çalışmada; ayrıca katılımcıların %36,4'ü hayvancılık politikalarını yeterli bulmaz iken, %30'u revize edilmesi gerektiğini bildirmiştir. Sonuç olarak, mevcut kaynakların en etkin hayvancılık politikaları ile rasyonel bir şekilde kullanılması önem arz etmektedir.

### ***Evaluation of Female academicians' viewpoints concerning livestock sector in veterinary faculties in Turkey***

#### ABSTRACT:

The livestock sector is strategically important in terms of providing food supply adequately for reasons such as food safety and food security. The aim of this study is to offer contributions of female academicians who carry out studies in Veterinary Faculties in Turkey on livestock sector the problems encountered and solutions for these problems. In addition, it has been tried to determine what contribution they have made to animal husbandry. Therefore, this study was conducted with 220 female academicians in veterinary faculty who agreed to participate in the study. According to female academics are the most important problems in the livestock sector come high input costs (feed, fuel, fertilizer, etc.), challenges in the production and marketing stages and the continued importation. 44.5% of the participants of due diligence and solution point of the current livestock policies in Turkey stated that the ineffective of the veterinary faculty. In the study; furthermore, while 36.4% of the participants did not find livestock policies sufficient, 30% reported that they needed to be revised. As a result, the existing resources should be used in a rational manner with the most effective animal husbandry policies.

**How to cite this article:** Ayvazoğlu PD, Koç A: Türkiye'de Veteriner Fakülteleri'nde görev alan kadın akademisyenlerin hayvancılık sektörüne bakış açılarının değerlendirilmesi. *Veteriner Hekimler Dergisi*, 91(1): 61-69, 2020, DOI: 10.33188/vetheder.630969

\* Sorumlu yazar eposta adresi / Corresponding author e-mail address: pinardemir80@hotmail.com

## 1. Giriş

Tarihin her döneminde erkek işgücü kadar kadın işgücüne olan ihtiyaç duyulmakla birlikte, günümüzde kadının iş yaşamında önemi ve gerekliliği her geçen gün biraz daha artmaktadır. Özellikle tarım toplumundan bilgi toplumuna geçiş sürecinde, tarlalardan işyerlerine uzanan geniş yelpazede gereksinim duyulan kadın işgücü, ülkelerin gelişmişlik düzeylerine göre değişmektedir (13).

Türkiye, gerek coğrafi ve gerekse iklimsel koşullar bakımından önemli bir hayvancılık potansiyeline sahip olmasına rağmen sektördeki üretim artışı, yaşanan ekonomik darboğazlarla birlikte nüfus artış hızının gerisinde kaldığı için, hayvancılıkta ithalata bir yönelme söz konusudur (10). Bu bakımından sektörün etkin bir şekilde analiz edilmesi, sektörün sorun ve çözüm önerilerinin ortaya konup irdelenmesi gerekmektedir. Nitekim yapılan projeksiyonlarda gelecekte yıllarda özellikle gelişmiş ülkelerde hayvansal浑n'lere olan talepte önemli bir artış beklenmezken, Türkiye gibi gelişen ve büyüyen ülkelerde hayvansal浑n'lere (et, süt) olan talebin iki kat artacağı bildirilmektedir (8).

Bu araştırma ile Türkiye'deki veteriner fakültelerinde çalışan kadın akademisyenlerinin; hayvancılık sektöründe mevcut olan sorun kümelerine bakışlarının, bunlara ilişkin çözüm önerilerinin belirlenmesi ve analitik olarak değerlendirme ölçütleri ile ortaya konulması amaçlanmaktadır.

## 2. Gereç ve Yöntem

Araştırmanın hedef kitlesini, Türkiye'deki Veteriner Fakültelerinde çalışan kadın akademisyenler oluşturmuştur. Çalışmada; 2017 yılında Türkiye'de eğitim öğretim faaliyetinde bulunan 24 Veteriner Fakültesinde 544 kadın akademisyenin görev yaptığı tespit edilmiştir. Çalışmada tam sayım yöntemine göre mevcut kadın akademisyenlerle anket çalışması yapılmak istenmiş ancak bazlarının çalışmaya katılmak istememesi ve/veya kendilerine ulaşamaması gibi çalışmayı kısıtlayıcı etkenler olmuştur. Örneklem büyüklüğünün hesaplanmasıında ana kitlenin belli olduğu durumdaki formül kullanılmıştır (9):  $n = \frac{Nt^2pq}{d^2(N-1)} + t^2pq$

Bu formülde ana kitle için örneklem hatası 0,05 ve %95 güven aralığında t değeri 1,96 olup, incelenen olayın gerçekleşme olasılığı ile gerçekleşmemeye olasılığı olan p ve q değerleri sırasıyla 0,70-0,30 olarak alınmıştır. Çıkan sonuçta örneklem sayısı  $n=202,78$  kişi olarak belirlendi. Ancak araştırmanın güvenliğini artırmak ve geçersiz olan anketlerin olabileceği de göz önünde tutularak, Mart-Ekim 2017 tarihleri arasında 220 kişi ile doğrudan ve araçlar yardımıyla yüz yüze anket çalışması yapıldı.

Bu çalışmada, katılımcılara Türkiye'deki hayvancılık politikalarında veteriner fakültelerinin üstlendikleri rol ile ilgili sorular ile hayvancılık sektörünün sorunlarına ve alınması gereken tedbirlerine ilişkin sorular yönetilmiş olup verilen seçenekler arasında önem sırasına göre (1-10 arasında) sıralamaları istenmiştir. Her bir puana belli bir ağırlık verilerek (örn: 10 dan 1 kadar) her bir seçenek için toplam bir sıralama elde edilmiştir. Elde edilen veriler, tablolar halinde sunulmuş olup, kategorik verilerin değerlendirilmesinde Ki-kare analizi yapılmıştır (9).

## 3. Bulgular

Veteriner fakültelerinde görev alan kadın akademisyenlerle yapılan görüşmelerde, katılımcıların ortalama  $37,80 \pm 7,99$  (Min: 25, Max: 57) yaşında oldukları ve  $12,57 \pm 7,89$  (Min: 2, Max: 32) yıldır akademik faaliyetin içinde oldukları belirlenmiştir. Kadın akademisyenlerin hayvancılık politikalarının belirlenmesinde ve uygulanma alanı içerisinde veteriner hekimlerin rolüne ilişkin görüşlerine Tablo 1'de yer verilmiştir.

**Tablo 1:** Akademisyenlerin hayvancılık politikalarının belirlenmesine ilişkin görüşleri**Table 1:** Opinions of academicians about the determination of animal husbandry policies

Hayvancılık politikalarının belirlenmesinde veteriner hekimler etkin mi?*				
Ünvan	Etkin	Etkin değil	Kısmen	Toplam
Prof. Dr.	6 (%14,0)	19 (%44,2)	18 (%41,8)	43
Doç. Dr.	9 (%20,9)	21 (%48,8)	13 (%30,3)	43
Dr. Öğretim Üyesi	10 (%19,6)	19 (%37,3)	22 (%43,1)	51
Dr. Araş. Gör.	7 (%17,1)	18 (%43,9)	16 (%39,0)	41
Araş. Gör.	14 (%33,3)	1 (%2,4)	27 (%64,3)	42
Toplam	46 (%20,9)	78 (%35,5)	96 (%43,6)	220

Veteriner Fakülteleri hayvancılık politikalarına ilişkin durum tespit ve çözümünde etkin mi?**				
Ünvan	Etkin	Etkin değil	Kısmen	Toplam
Prof. Dr.	5 (%11,6)	23 (%53,5)	15 (%34,9)	43
Doç. Dr.	5 (%11,6)	21 (%48,8)	17 (%39,5)	43
Dr. Öğretim Üyesi	6 (%11,7)	19 (%37,3)	26 (%51,0)	51
Dr. Arş. Gör.	6 (%14,6)	20 (%48,8)	15 (%36,6)	41
Arş. Gör.	12 (%28,6)	15 (%35,7)	15 (%35,7)	42
Toplam	34 (%15,5)	98 (%44,5)	88 (%40,0)	220

\* $X^2 = 27,461 \ p < 0,01 \ p = 0,001$ \*\*  $X^2 = 10,550 \ p > 0,05 \ p = 0,229$ 

Tablo 1 incelendiğinde katılımcıların %35,5'inin veteriner hekimlerin hayvancılık politikalarının belirlenmesinde etkili olmadıklarını düşündükleri görülmektedir. Buna karşın araştırma görevlileri diğer katılımcılara göre daha yüksek oranda kısmen cevabını vermiş olup, yapılan ki-kare analizinde de aradaki fark istatistik açıdan önemli bulunmuştur ( $p < 0,01$ ). Tablo 1'de ayrıca kadın akademisyenlerin ülkenin hayvancılık politikaları ve geleceğine ilişkin durum tespiti ve çözümünde veteriner fakültelerinin rolüne ilişkin görüşleri incelendiğinde ise istatistik açıdan önemli bir fark olmamakla birlikte, katılımcıların %44,5'inin etkin olmadıklarını düşündükleri görülmektedir.

Yapılan görüşmelerde, hayvancılık politikalarının belirlenmesinde; veteriner hekimlerin ve veteriner fakültelerinin çözüm paydaşlarının arasında yer verilmemesi, veteriner fakülteleri ile Tarım ve Orman Bakanlığı arasında koordineli çalışmaların yürütülmemesi ile Türk Veteriner Hekimleri Birliği ve diğer mesleki sivil toplum örgütlerinin bu çözüm yolunda etkin olmamasının bu sonuçların nedenleri arasında olduğu katılımcıları tarafından ifade edilmiştir. Veteriner fakültelerinde yapılan çalışma/projelerin amacı ve sektöré katkısına ilişkin kadın akademisyenlerin görüşleri Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 2:** Kadın akademisyenlerin fakültelerde yapılan çalışma/projelere ilişkin görüşleri**Table 2:** Opinions of female academics about studies / projects in faculties

Soru		Frekans	Yüzde
Genel olarak veteriner fakültelerinde yapılan çalışma/projelerin hayvancılık sektörüne katkısı olduğunu düşünüyor musunuz?	Evet	61	27,7
	Hayır	48	21,8
	Kısmen	111	50,5
	Sektörün ihtiyaçları	7	3,2
Veteriner fakültelerinde yapılan proje/çalışmalarda asıl amaç nedir?	Kariyer endişesi	135	61,4
	Bilimsel	47	21,4
	Hepsi	31	14,1
Hayvancılık sektörünün gelişmesine katkıda bulunduğu düşünüğünüz projeleriniz var mı?	Evet	85	38,6
	Hayır	135	61,4
Projeleriniz genelde saha mı yönelik?	Evet	59	26,8
	Hayır	72	32,7
	Kısmen	89	40,5
	Total	220	100

Katılımcılarla yapılan görüşmelerde; veteriner fakültelerinde yapılan çalışma/projelerin hayvancılık sektörüne katkısı olduğunu düşünenlerin oranı %27,7 olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Yapılan anket çalışmada hayır ve kısmen cevabını veren katılımcıların bu durumun nedenlerini belirtmeleri istendiğinde verilen cevaplar sırasıyla; yapılan çalışma ve projelerin niteliği ve içeriğinin saha yönelik olmaması ve sektörün ihtiyacına göre çalışmalar yapılmaması genelde akademik yükselme kriteri olarak görülmesi, çalışmaların çögünün yurtdışında ispatlanmış tekrar niteliğinde olması, fakülteler ile sektör paydaşları arasında koordinasyonun ve multidisipliner çalışmaların yetersiz olmasışıdı. Kadın akademisyenlerin %61,4'üne göre yapılan proje ve çalışmalar kariyer endişesi ile yapılrken, sadece %3,2'si sektörün ihtiyaçları doğrultusunda yapıldığını ifade etmiştir.

Yapılan çalışmada kadın akademisyenlerin unvanlarına göre hayvancılık politikalarına ilişkin görüşleri Tablo 3'te verilmiştir. Tablo 3 incelendiğinde katılımcıların %36,4'ünün hayvancılık politikalarını yeterli bulmazken, %33,6'sı kısmen yeterli olduğunu ve %30'nun ise revize edilmesi gerektiğini bildirmiştir.

**Tablo 3:** Akademisyenlerin unvanlarına göre hayvancılık politikalarına ilişkin görüşleri**Table 3:** Opinions on livestock politics according to academicians' titles

Unvan	Hayvancılık politikaları yeterli değil	Hayvancılık politikaları kısmen yeterli	Hayvancılık politikaları revize edilmeli	Toplam
Prof. Dr.	20 (%46,5)	8 (%18,6)	15 (%34,9)	43
Doç. Dr.	14 (%32,6)	14 (%32,6)	15 (%34,8)	43
Dr. Öğretim Üyesi	12 (%23,5)	22 (%43,2)	17 (%33,3)	51
Dr. Araş. Gör.	21 (%51,2)	13 (%31,7)	7 (%17,1)	41
Araş. Gör.	13 (%31,1)	17 (%40,5)	12 (%28,6)	42
Toplam	80 (%36,4)	74 (%33,6)	66 (%30,0)	220

$X^2 = 14,612 \ p > 0,05 \ p = 0,06$

Çalışmada katılımcıların Türkiye'deki hayvancılık sektörünü gelecek 10 yılda nerede gördüklerine ilişkin görüşleri Tablo 4'te verilmiştir. Tablo 4 incelendiğinde; gelecek 10 yıl içinde hayvancılık sektörü katılımcıların %40'ına göre ithalata daha da bağımlı olacağı, %25'üne göre bugünkü mevcut durumun değişmeyeceği, %22'sine göre ise üretim ve verim artışı sağlanmış, AB'ye uyumlu, alt yapı sorunlarını çözmüş bir yapıda olacağı düşünülmektedir.

**Tablo 4:** Hayvancılık sektörünün gelecek 10 yılına ilişkin akademisyenlerin görüşleri**Table 4:** Opinions of academicians regarding the next 10 years of the livestock industry

Görüşler	Frekans	Yüzde
İthalata daha bağımlı	88	40,0
Değişmez	54	24,6
Üretim ve verim artışı	31	14,1
AB uyumlu ve alt yapı sorunlarını çözmüş	17	7,7
Fikrim yok	30	13,6
Toplam	220	100,0

Kadın akademisyenlere göre hayvancılık sektörünün en önemli sorun ve/veya sorunlarının önem sıralaması Tablo 5'te verilmiştir. Tablo 5 incelendiğinde; kadın akademisyenlere göre Türkiye'deki hayvancılık sektörünün en önemli sorunları arasında girdi maliyetlerinin (yem, mazot, gübre vb) yüksek olması, üretim ve pazarlama aşamasında yaşanan sorunlar ve ithalatın artarak devan etmesi gelmektedir. Katılımcılara göre sektörün diğer sorunları arasında; verilen desteklemelerin yetersiz olması, işletme ölçeklerinin küçük olması, üretici bilgi düzeyinin düşük olması ve hayvan hastalıkları yer almaktadır.

**Tablo 5:** Akademisyenlere göre hayvancılık sektörünün sorunları**Table 5:** According to academicians the problems of the livestock sector

Sektörün sorunları	Puan	Önem Sıralaması
Girdi maliyetlerinin yüksek olması	1770	1
Üretim ve pazarlamaya ilişkin alt yapı sorunları	1494	2
İthalat varlığı	1024	3
Fiyat istikrarsızlığı ve kalite fiyat ilişkisinin olmaması	978	4
Hayvancılığın geleneksel yöntemlerle yapılması	875	5
Aracı sayısının fazla olması ve kar marjlarının yüksekliği	785	6
Yem bitkileri üretiminin yetersiz olması	552	7
Damızlık hayvan materyalinin yeterli olmaması	309	8
Üretici örgütlenmesinin yetersiz olması	298	9
Diğer nedenler	130	10

Yapılan anket çalışmasında kadın akademisyenlerin %71,4'ü hayvancılık sektörüne yönelik verilen teşvik ve desteklemelere rağmen istenen üretim ve verim artışının sağlanmadığını bildirmiştir. Bunun nedenlerine ilişkin katılımcıların görüşleri Tablo 6'da verilmiştir. Tablo 6 incelendiğinde, sektörün gelişimindeki en önemli engeller arasında; girdi maliyetlerinin yüksek olmasına karşın girdi maliyetlerini azaltıcı önlem ve desteklemelerin yetersiz olması, üreticinin eline geçen para ile tüketicinin satın aldığı fiyat arasındaki farklılığın aracılardan eline geçmesi gelmektedir.

**Tablo 6:** Hayvancılık sektöründe üretim ve verim artışının önündeki engeller**Table 6:** Barriers to increase production and productivity in the livestock sector

Nedenler	Puan	Önem Sıralaması
Girdi maliyetlerini azaltmaya yönelik desteklemelerin az/yetersiz olması	1570	1
Üretici fiyatı ile piyasa fiyatı arasındaki farkı azaltıcı tedbirlerin alınmaması	1224	2
Kalite fiyat ilişkisinin istenen düzeyde olmaması	768	3
Üreticinin öünü görememesi- ithalat tehditi	539	4
Birçok üreticinin verilen destekler konusunda bilgisiz olması	450	5
Yanlış kişilere destek verilmesi	228	6

Veteriner fakültelerinde görev alana kadın akademisyenlerin hayvancılık sektörünün yaşadığı sorunlara ilişkin çözüm önerilerinin önem sıralaması Tablo 7'de verilmiştir. Yapılan görüşmelerde hayvancılık sektörünün yaşadığı sorunlara ilişkin çözüm önerilerinin başında; ithalattan vazgeçilerek girdi maliyetlerinin azaltılması, Avrupa Birliği'ndeki gibi pazar ve fiyat mekanizmasının etkin hale getirilmesi ve üretici örgütlenmesi gelmektedir. Katılımcılara göre üretimi artırmak için çiğ süt, besicilik ve küçükbaş hayvancılıkta kaliteyi ve üretimi artıracak desteklemeler önem arz etmektedir.

**Tablo 7:** Akademisyenlerin hayvancılık sektörünün yaşadığı sorunlara ilişkin çözüm önerileri**Table 7:** Recommendations of academicians for solutions of livestock sector problems

Çözüm önerileri	Puan	Önem sıralaması
İthalattan vazgeçilerek, girdi maliyetlerini azaltıcı desteklemelerin artırılması (yem, mazot, gübre vb)	1450	1
Avrupa Birliğine benzer pazar ve fiyat mekanizmasının oluşturulması	1431	2
Etkin bir örgütlenmenin teşvik edilmesi	1295	3
Üretim ve kaliteyi artırıcı desteklemeler		
-Çiğ süt desteklerinin artırılması	1288	4
-Besiciliğe verilen desteklerin artırılması	1020	5
-Küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin özendirilmesi	875	6

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Yapılan görüşmelerde, Türkiye'nin mevcut hayvancılık politikaları ile bu politikaların yarınlarına ilişkin durum tespiti ve çözümü noktalarında veteriner hekimlerin yeterince etkin olmadığını düşünen kadın akademisyenlerin oranı %35,5 iken, bu oran veteriner fakülteleri için %44,5'e çıktıgı belirlenmiştir (Tablo 1). Yapılan görüşmelerde özellikle hayvancılık politikalarının belirlenmesinde; veteriner hekimlerin ve veteriner fakültelerin görüşlerinin alınmaması, veteriner fakülteleri ile Bakanlık arasında koordineli çalışmaların yürütülmemesi ve mesleki sivil toplum örgütlerinin bu çözüm yolunda etkin olmadıkları ifade edilmiştir. Özellikle sivil toplum kuruluşlarının politika belirlemede rolleri oldukça önemli boyutlarda olup, hayvancılık sektörüne yönelik uygulanan politikaların yönlendirilmesi konusunda baskı grubu oluşturmaları, sorunların çözümü noktasında görüş önerisi ve/veya proje geliştirme yoluyla politika belirleme sürecine daha etkin olarak katılımları önem arz etmektedir.

Yapılan çalışmada, özellikle araştırma görevlilerinin görüşleri öğretim üyelerine kıyasla; veteriner hekimlik mesleğinin geleceğine ve hayvancılık politikalarının belirlenmesinde daha iyimser oldukları belirlenmiştir. Bu durum, akademik kariyer basamaklarının başlangıcında yer alan araştırma görevlilerinin daha idealist ve neden-sonuç ilişkisinde mesleki deneyimlemelerinin mevcut tabloyu okuma ve değerlendirme tecrübelerinin meslekte yıllarını geçirmiş olan öğretim üyelerine göre daha yetersiz olmaları ile açıklanabilir.

Katılımcılarla yapılan görüşmelerde; veteriner fakültelerinde gerçekleştirilen çalışma/projelerin hayvancılık sektörüne katkısının olduğu düşüncesinin %27,7 olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Yapılan çalışmada çalışma/projelerin sektörde katkısı olmadığını düşünenlere göre bu durumun başlıca nedenleri arasında, çalışma ve projelerin genelde sahaya ve sektörün sorunlarının çözümüne yönelik olmayıp daha çok akademik kariyer sağlamayı amaçlayan ve birbirini tekrarlayan çalışmalar olması, çalışmaların pratikte uygulanabilir olmaması ve üniversite-sektör paydaşları arasındaki bilgi paylaşımının yetersizliği gelmektedir. Nitekim yapılan çalışmada da bu durum bir özeleştiri niteliği taşımakla birlikte katılımcılardan sadece %26,8'inin sahaya yönelik çalışmaları gerçekleştirdikleri (Tablo 2) ve bu bilim alanlarının da genelde hayvan besleme ve zootekni ile klinik bilimleri bölümlerinde görev alan akademisyenler olduğu tespit edilmiştir.

Ülkelerin gelişmişlik düzeylerine göre değişkenlik göstermekle birlikte, tarım ve hayvancılık politikalarının genel amacı; üreticilere belli bir yaşam standartı sağlama ile tüketicilere de uygun fiyatla yeterli miktarda ürün arzını garanti etme şeklinde özettlenebilir (6). Demirkol (4) çalışmada, dünden bugüne Türkiye'de uygulanan hayvancılık politikalarında üretimi ve üretici gelirini yeterince artıracak destek ve teşviklerin olmamasının uygulamaların etkinliğini düşürdüğünü bildirmiştir iken, Doğan ve Altuntaş (5) çalışmalarında, son yıllarda dönemsel olarak kriz

şeklinde boy gösteren kırmızı et fiyatlarındaki artışı doğrudan hayvancılık politikalarına bağlanabileceğini ifade etmiştir. TOBB (12) raporuna göre sektör paydaşları arasındaki dengenin kurulamaması ve koordinasyon eksikliği, kuruluşların yapısal sorunları ile uygulamalarda yaşanan aksaklılar, personel sayısının yetersizliği politikaların etkili olarak yerine getirilmesini engellemektedir. Bu çalışma sonuçlarına paralel olarak yapılan görüşmelerde de katılımcıların çoğunluğunun hayvancılık politikalarını yeterli bulmadığı ve revize edilmesi gerektiği tespit edilmiştir (Tablo 3). Nitekim ülkemizde girdi maliyetlerinin her geçen yıl artmasına karşın üreticilerin kar oranlarının azalması hatta zarar etmesi, süt/yem paritesinin istenen düzeyin çok altında olması ve her yıl artan kırmızı et ihtiyacının ithalat yoluyla karşılanması, uygulanan yanlış üretim politikalarının bir sonucu olarak değerlendirilebilir.

Ocaklı ve ark.(8) çalışmalarında, gerekli hayvancılık politikaları ile hayvansal ürün ve girdi fiyatlarında piyasada istikrar sağlanmaz ve et ithalatına devam edilirse, hayvancılıkta yaratacağı olumsuzluklardan dolayı birçok üreticinin hayvancılıktan çekilmesine yol açarak, hayvansal ürünlerde tamamen ithalatçı bir ülke konumuna düşüleceğini ifade etmiştir. Bu çalışma sonucuna benzer olarak, akademisyenlerle yapılan görüşmelerde, uygulanan hayvancılık politikalarını yetersiz bulanların önemli bir kısmı gelecek on yıl içinde, hayvancılık sektörü ithalata daha da bağımlı olacağını bildirmiştir (Tablo 4). Bununla birlikte geri kalan katılımcılar, hayvancılık politikalarının revize edilmesi halinde sektörde üretim ve verim artışı sağlanacağını düşündüklerini ifade etmişlerdir. Bu açıdan Türkiye'de hayvancılık sektörünün Avrupa Birliği'ne uyumlu hale getirilerek, alt yapı sorunlarını çözme yönünde adımların en kısa zamanda atılmasının sektörü önemli ölçüde rahatlatacağı düşünülmektedir.

Ülke ekonomisi ve kırsal kalkınma açısından önemli olan hayvancılık sektörünün sorunlarının tespit edilip uluslararası gelişmeler doğrultusunda uygulanan politikaların yeniden düzenlenmesi gerekmektedir (3). Bu bağlamda veteriner fakültesinde çalışan kadın akademisyenlere göre de Türkiye'deki hayvancılık sektörünün en önemli sorunları arasında girdi maliyetlerinin (yem, mazot, gübre vb) yüksek olması, üretim ve pazarlama aşamasında yaşanan sorunlar ve ithalatın artarak devam etmesi gelmektedir (Tablo 5). Fiyat istikrarsızlığı ve kalite fiyat ilişkisinin olmaması, hayvancılığın hala geleneksel yöntemlerle yapılması, aracı sayısının fazla olması ve kar marjlarının yüksekliği ise diğer önemli sorunlar arasında yer almaktadır.

Hayvancılık sektörünün gelişmesinde en önemli etken devlet destekleridir. Yapılan çalışmada kadın akademisyenlerin %71,4'üne göre hayvancılık sektörüne yönelik verilen teşvik ve desteklemelere rağmen istenen başarı sağlanamamıştır. Bu sonuca neden olarak da; yeterli ve tutarlı bir üretim politikasının izlenmemesi, girdi maliyetlerinin yüksek olmasına karşın, girdi maliyetlerini azaltıcı önlem ve desteklemelerin yetersiz kalması, üreticinin eline geçen para ile tüketicinin satın aldığı fiyat arasındaki dengesizliğin aracılardan lehine dönmesi ile birlere ek olarak devam eden ithalat varlığı ile üreticinin çıkmazları gelmektedir. Elde edilen bu veriler Tan ve Karaönder'in (11), Halis ve Bilgin (7) çalışma bulguları ile benzerlik göstermektedir. Nitekim son dönemlerde verilen hayvancılık destekleri, yatırım teşvikleri önemli ölçüde artırılmış olmasına rağmen istenen ölçüde üretim ve verim artışı sağlanmadığı gibi sektörün ithalata bağımlı bir hale geldiği söylenebilir.

Yapılan görüşmelerde hayvancılık sektörünün yaşadığı sorumlara ilişkin çözüm önerilerinin başında; ithalattan vazgeçilerek girdi maliyetlerinin azaltılması, Avrupa Birliği'ndeki gibi pazar ve fiyat mekanizmasının etkin hale getirilerek temel fiyat üzerinden müdahale alımlarının yapılması ve üretici örgütlenmesi gelmektedir (Tablo 7). Katılımcılara göre üretimi artırmak için çiğ süt, besicilik ve küçükbaş hayvancılıkta kaliteyi ve üretimi artıracak desteklemeler önem arz etmektedir. Aydın ve ark. (1) çalışmalarında, Türkiye'de siğır ve koyun besisini teşvik etmek amacıyla gerekli altyapı ve denetleme mekanizması oluşturularak et teşvik primi uygulamasında devamlılığın sağlanmasıının faydalı olacağını bildirmiştir. Bu bağlamda Türkiye'deki hayvansal ürünlerde Avrupa Birliği'ndeki yapıya benzer olarak piyasa düzenlerinin oluşturularak fiyat istikrarının sağlanması, planlı ve etkin bir destekleme modelinin oluşturulmasının önem arz etmektedir. Hayvancılık sektöründe hayvansal ürünleri yüksek verimli ve kaliteli bir yapıya kavuşturulmasında sözleşmeli yetişiricilik özendirilmelidir. Ancak bu yapıda üretici kooperatiflerinin üretimden pazarlama sürecine kadarki aşamalarında etkinliğinin artırılması önem kazanmaktadır. Nitekim kırsal kalkınma ve buna bağlı ekonomik kalkınmada en önemli araçlardan biri de üretici örgütleridir (11). Bu da ancak üreticilerin tabela kooperatifler yerine üretimden pazarlamaya kadar etkin ve yetkin olacak şekilde örgütlemeleri ile mümkün olabilecektir.





## 1. Giriş

Kanatlı eti ve yumurta, dünyada artan protein tüketimini karşılama noktasında en ucuz hayvansal kaynaklar arasında sıralanmaktadır. Tavuk eti üretimi ve kişi başına düşen tüketim miktarı dünya genelinde her geçen yıl artmaktadır. Benzer tablo Türkiye için de geçerli olup, 2000-2018 yılları arasında piliç eti üretiminin 643,457 tondan 2,156,669 tona ulaştığı, kişi başına düşen piliç eti tüketiminin ise 9.34 kg'dan 21.13 kg'a çıktığı görülmektedir (7). Kanatlı yetiştirciliğinde toplam giderlerin yaklaşık %50-70'ini yem giderleri oluşturmaktadır. Tahıl taneleri ve yağlı tohum küspeleri ise karma yemlerde en büyük oranda yer alan hammaddeler olup rasyon maliyetlerini önemli düzeyde etkilemektedirler (16). Bu temel yem hammaddelerinin yanı sıra, insan tüketimine uygun olmayan endüstriyel yan ürünlerin hayvan yemi olarak kullanımlarının yaygınlaşması küresel olarak artan hayvansal protein talebinin sürdürülebilir bir şekilde karşılanmasına katkı sağlayacağı açıktır (16).

Fosil yakıt kaynaklarının azalması ve artan maliyetler sebebi ile dünya genelinde biyoetanol kullanımı yaygınlaşmıştır (4). Biyoetanol başta mısır olmak üzere buğday, arpa, çavdar gibi tahillardaki nişastanın fermentasyonu sonucunda elde edilmektedir. İşlem sonunda ise kurutulmuş damıtma çözünürlü daneleri (DDGS - distillers dried grains with solubles) olarak isimlendirilen protein (%25.2-33.5), yağ (%7.1-15.7), selüloz (%6-9.9) ve mineral düzeyleri taneye göre daha yüksek olan bir hammadde elde edilmektedir (10, 16, 19). Ancak son yıllarda etanol üretimi aşamalarına yeni teknolojik basamaklar ilave edilmek suretiyle yağın bir kısmı son ürününden alınarak düşük yağ (%2.2-6.5) içeriği mısır DDGS'i şeklinde de piyasaya sürülmektedir (11, 17). Besin madde kompozisyonu ve maliyetler dikkate alındığında özellikle mısır kaynaklı DDGS'nin hayvan besleme alanında kullanımının giderek arttığı görülmektedir (1). Ancak, kuluçkadan çıkan civcivlerin sindirim sistemleri 2. haftadan sonra tam bir fonksiyonellik kazandığı için özellikle başlangıç dönemi rasyonlarında kullanılan yem hammaddelerinin kalitesi ve sindirilebilirliğine dikkat edilmedir (5). DDGS'in selüloz içeriğinin yüksek olması, esansiyel aminoasit bileşimi ve özellikle de lizin sindirilenbilirliğinin düşük olması (%50-65 düzeylerinde) (2) sebebiyle sindirim sistemi henüz tam olarak işlevsel olmayan ve daha yüksek düzeyde sindirilebilir amino asite ihtiyaç duyulan civcivlerin başlangıç rasyonlarında bitirme dönemi rasyonlarına göre daha düşük düzeylerde kullanılması önerilmektedir.

Broyler rasyonlarında farklı düzeylerde mısır kaynaklı DDGS kullanımının performans ve karkas parametreleri üzerine olan etkisi uzun yıllardır araştırılmaktadır. Wang ve ark. (20) iyi kaliteli DDGS'nin broyler rasyonlarında %15-20 düzeylerine kadar kullanılabileceğini, ancak bu düzeylerin performansı bir miktar olumsuz etkilediğini belirtmiştir. Youssef ve ark. (21) büyütme ve bitirme dönemi broyler rasyonlarında artan düzeyde DDGS kullanımının performans ve ham protein sindirilebilirliği üzerine olumsuz bir etkisi olmadığını, ancak %15 düzeylerinde kullanımının yem dönüşüm oranını olumsuz yönde etkilediğini bildirmiştir. Başlangıç (0-14), büyütme (15-21) ve bitirme (22-33) dönemi rasyonlarına standart düzeylere (sırasıyla %5, 7 ve 9) karşın yüksek düzeyde (%8, 10 ve 12) mısır DDGS'i kullanımının ise broyler performansını olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmıştır (9).

Bu çalışmanın amacı başlangıç (%0 ve 3), büyütme (%0, 3 ve 6) ve bitirme dönemi (%0, 3, 6, 9 ve 12) rasyonlarına artan düzeylerde ilave edilen mısır DDGS'nin karma yem maliyetleri ile broyler performansı ve karkas parametreleri üzerine olan etkisinin araştırılmasıdır.

## 2. Gereç ve Yöntem

### Hayvan ve yem materyali:

Araştırmada hayvan materyali olarak 280 adet Ross 308 erkek broyler civciv kullanılmıştır. Her biri 56 civcivden oluşan 5 grup düzenlenmiştir. Her bir grup 8 civcivden oluşan 7 tekerrür grubuna ayrılmıştır. Deneme, 35 bölmede, bir kontrol (TRT1), dört deneme grubu (TRT2, TRT3, TRT4 ve TRT5) olacak şekilde toplamda 35 bölmede ( $90 \times 80 \times 80$  cm/bölme) yürütülmüştür. Deneme süresince kütmes sıcaklığı ve aydınlatma protokolü ticari koşullar

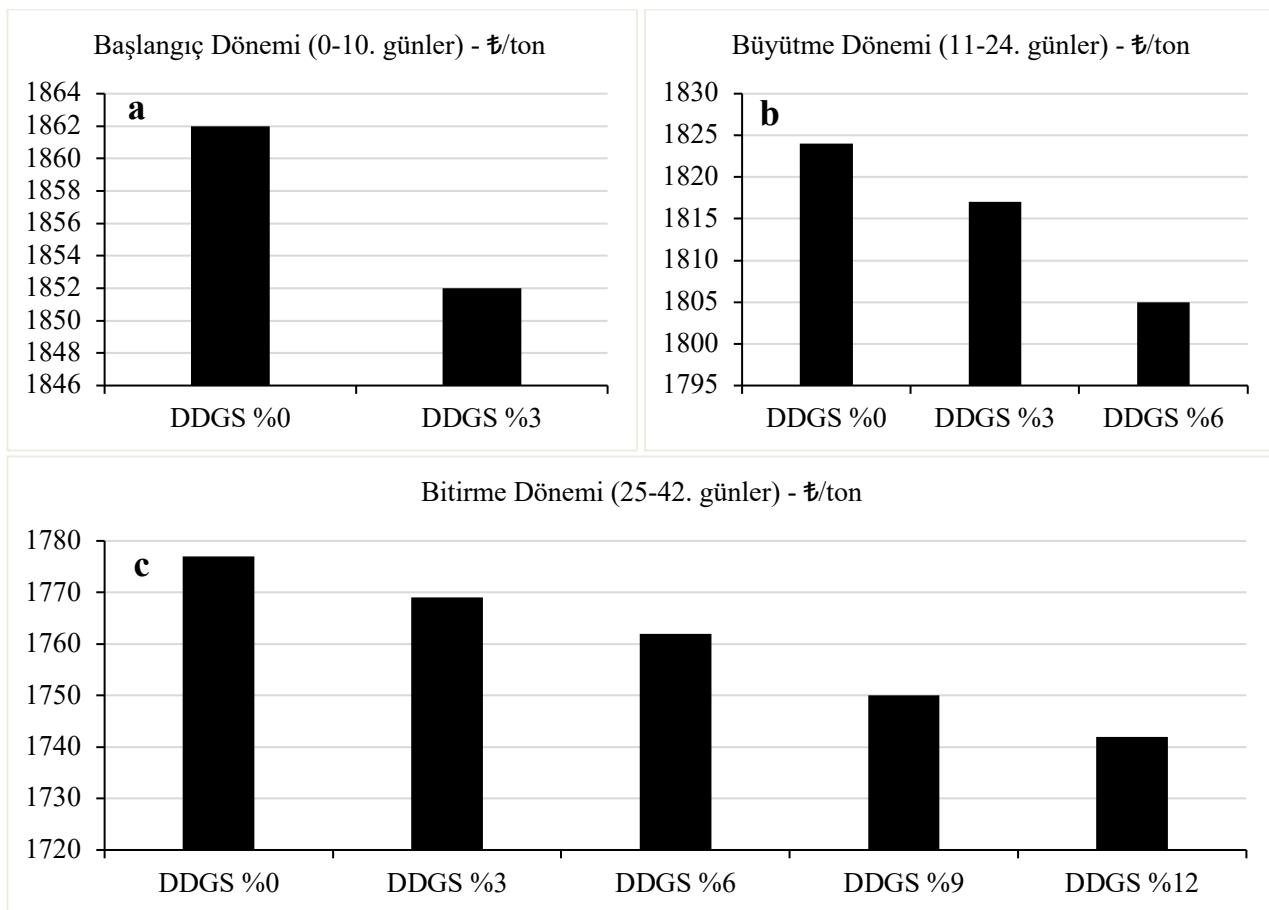












**Şekil 1:** Rasyonlara artan düzeylerde DDGS ilavesinin başlangıç (a), büyütme (b) ve bitirme (c) dönemi karma yem maliyetleri üzerine etkisi.

**Figure 1:** Effects of graded dietary supplementation of DDGS on the cost of starter (a), grower (b) and finisher (c) diets

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Etanol endüstrisinin bir yan ürünü olan DDGS, enerji düzeyi, sindirilebilir aminoasit bileşimi ve yararlanılabilir fosfor içeriği açısından hayvan beslemede kullanılabilecek önemli bir yem hammaddesidir. Broiler rasyonlarında DDGS kullanımı sonucunda mısır, soya ve inorganik fosfor kaynaklarının rasyondaki düzeyi azalırken, lizin ve yağ kaynaklarının düzeyi artış göstermektedir (16). Rasyonlara ilave edilmesi bir maliyet avantajı sağlasa da, soyaya göre içerisindeki lizin düzeyinin ve bunun sindirilebilirliğinin düşük olması, ayrıca selüloz içeriğinin yüksek olması DDGS'in başlangıç ve kısmen büyütme dönemi rasyonlarında kullanım düzeylerini kısıtlamaktadır. Bu çalışmada başlangıç, büyütme ve bitirme dönemi rasyonlarında artan düzeylerde DDGS kullanımının rasyon maliyetleri ve broiler performansı üzerine olan etkileri incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde başlangıç dönemi rasyonlarında %3 düzeyinde DDGS kullanımının performans üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı bunun yanı sıra yem dönüşüm oranını rakamsal olarak iyileştirdiği gözlenmiştir. Daha önceki çalışmaların bir bölümünde sadece büyütme ve bitirme dönemi rasyonlarında DDGS kullanımının etkileri incelenirken (8), bazı çalışmalarda ise başlangıç rasyonlarında yüksek düzeylerde DDGS

kullanımının canlı ağırlık ve yem dönüşüm oranı üzerine olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir (12, 13, 15). Abudabos ve ark. (1) başlangıç dönemi rasyonlarında %6 düzeyine kadar DDGS ilave edilebileceği ve yem dönüşüm oranının özellikle multienzim kullanımları ile daha da iyileşebilecegi sonucuna varmıştır. Başlangıç döneminde olduğu gibi, büyütme dönemi rasyonlarında %3 ve 6, bitirme döneminde ise %3, 6, 9 ve 12 düzeylerinde DDGS kullanımının performans üzerine herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda büyütme dönemi rasyonlarında %12, bitirme dönemi rasyonlarında ise %15 düzeylerine kadar rahatlıkla kullanılabilcegi bildirilmiştir (15). Ancak araştırmacılar rasyonların enerji düzeyinin ve sindirilebilir lizin içeriğinin dikkatle dengelenmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Başlangıç, büyütme ve bitirme dönemi rasyonlarında standart (sırasıyla %5, 7 ve 9) ve yüksek düzey (%8, 10 ve 12) DDGS kullanımının karşılaştırıldığı bir çalışmada ise standart düzeylerde kullanımının canlı ağırlık ve yem dönüşüm oranı üzerine daha olumlu bir etkisi olduğu görülmüştür (9). Bu çalışmada, daha önceki araştırmalarda belirtlen maksimum sınırlardan daha düşük düzeylerde DDGS kullanılmasının temel sebebi, kullanılan düzeylerin rasyon üretim maliyetleri belirli bir oranda düşürürken performans üzerine olumlu etkisi olabilecegi hipotezi üzerinde yoğunlaşılmış olmasıdır. Diğer bir sebebi ise özellikle yüksek düzeylerde DDGS kullanıldığı durumlarda pelet kalitesinin azalması (14, 18) ve kondisyonerde harcanan enerjinin artmasıdır (19). Behnke (6) rasyondaki DDGS düzeyinin %5-7 düzeylerini geçtiğinde pelet kalitesinin olumsuz etkilenmeye başladığını vurgulamıştır. Bu çerçevede, elde edilen sonuçlar incelendiğinde başlangıç (%3), büyütme (%6) ve bitirme (%12) dönemi rasyonlarında artan düzeylerde DDGS kullanımının performans ve karkas parametreleri üzerine olumsuz bir etkisi tespit edilmemiştir.

Literatürde rasyon maliyetleri üzerine yapılmış ayrıntılı bir çalışma bulunmamasına rağmen Choi ve ark. (8) %15 düzeylerine kadar DDGS kullanımının üretim maliyetlerini olumlu yönde etkileyebileceğini belirtmiştir. Bu çalışmada Eylül 2019 dönemindeki hammadde fiyatları dikkate alınarak hesaplamalar yapıldığında, rasyonda artan düzeyde DDGS kullanımının üretim maliyetlerini önemli ölçüde azaltabilecegi görülmüştür. Ancak mısır, soya küspesi ve DDGS fiyatlarındaki değişikliklerin maliyetleri değiştirebileceği unutulmamalıdır.

Sonuç olarak, elde edilen veriler incelendiğinde, rasyonlara DDGS ilavesinin (başlangıç, büyütme ve bitirme rasyonlarına sırasıyla %3, %6 ve %12 düzeylerinde) iyi tolere edildiğini, broyler performansı üzerine herhangi olumsuz bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Hazırlanan rasyonda kullanılan hammaddelerin güncel fabrika maliyetleri (Eylül 2019) dikkate alındığında, özellikle bitirme dönemi rasyonlarında %12 düzeyinde DDGS kullanımının rasyon maliyetlerini azaltabilecegi görülmüştür. Rasyonlarda DDGS kullanımının, özellikle tam yağlı soya ve soya küspesi fiyatlarının yüksek olduğu durumlarda, broyler performansına herhangi bir olumsuz etkisi olmadan, fiyat avantajı sağlayabileceği ve karma yem üretim maliyetini düşürebilecegi sonucuna varılmıştır.

## Teşekkür

Yazarlar bu projeye destek sağlayan U.S. Grain Council, Dr. Ramy H. Taieb ve Dr. Yılmaz Doğanca ile Beypiliç A.Ş.'ye teşekkür eder

## Kaynaklar

1. **Abudabos AM, Al-Atiyat RM, Stanley D, Aljassim R, Albashan HA** (2017): *The effect of corn distiller's dried grains with solubles (DDGS) fortified with enzyme on growth performance of broiler*. Environ Sci Pollut R, **24**, 21412-21421.
2. **Adedokun SA, Jaynes P, Payne RL, Applegate TJ** (2015): *Standardized ileal amino acid digestibility of corn, corn distillers' dried grains with solubles, wheat middlings, and bakery by-products in broilers and laying hens*. Poult Sci, **94**, 2480-2487.
3. **Aviagen** (2014) Ross 308: Broiler nutrition specification. Aviagen Huntsville, Alabama, USA.
4. **Aydın B, Gümüş E** (2016): *Balık yemlerinde alternatif hammadde kaynağı: Kurutulmuş damıtma kalıntıları ve çözünür maddeleri (DDGS)*. J Anat Environ Anim Sci, **1**, 87-91.
5. **Batal AB, Parsons CM** (2002): *Effects of age on development of digestive organs and performance of chicks fed a corn-soybean meal versus a crystalline amino acid diet*. Poult Sci, **81**, 1338-1341.

6. Behnke KC. (2007): *Feed manufacturing considerations for using DDGS in poultry and livestock diets*, Proceedings of the 5th Mid-Atlantic Nutrition Conference, 2007. University of Maryland. pp. 77-81.
7. BESD-BİR (2019): *Istatistikler*. <http://www.besd-bir.org/istatistikler>, Erişim Tarihi: 15 Eylül 2019
8. Choi HS, Lee HL, Shin MH, Jo CR, Lee SK, Lee BD (2008): *Nutritive and economic values of corn distiller's dried grains with solubles in broiler diets*. Asian-Australas J Anim Sci **21**, 414-419.
9. Dozier WA, Hess JB (2015): *Growth and meat yield responses of Hubbard x Cobb 500 male broilers fed diets formulated with distillers dried grains with solubles varying in ether extract content and inclusion rate from 1 to 33 days of age*. J Appl Poult Res, **24**, 436-450.
10. Feedipedia (2019): *Maize distillers dried grains and solubles*. <https://www.feedipedia.org/node/71>, Erişim Tarihi: 25 Ekim 2019
11. Feedipedia (2019): *Maize distillers dried grains and solubles, fat < 6%*. <https://www.feedipedia.org/node/12851>, Erişim Tarihi: 25 Ekim 2019
12. Jung B, Hoerler A, Batal A, Mitchell R. (2011): *Evaluation of feeding distillers dried grains with solubles and the effects of dietary enzymes on broiler performance and carcass characteristics*, Poultry Science Association Annual Meeting, 2011. pp. 18.
13. Loar RE, Corzo A (2011): *Effects of varying levels of distillers dried grains with solubles on growth performance of broiler chicks*. Braz J Poult Sci, **13**, 279-281.
14. Loar RE, Moritz JS, Donaldson JR, Corzo A (2010): *Effects of feeding distillers dried grains with solubles to broilers from 0 to 28 days posthatch on broiler performance, feed manufacturing efficiency, and selected intestinal characteristics*. Poult Sci, **89**, 2242-2250.
15. Lumpkins B, Batal A, Dale N (2004): *Evaluation of distillers dried grains with solubles as a feed ingredient for broilers*. Poult Sci, **83**, 1891-1896.
16. Rochell SJ (2018): *Formulation of Broiler Chicken Feeds Using Distillers Dried Grains with Solubles*. Fermentation-Basel, **4**.
17. Saunders JA, Rosentrater KA (2009): *Properties of solvent extracted low-oil corn distillers dried grains with solubles*. Biomass Bioenergy, **33**, 1486-1490.
18. Srinivasan R, Corzo A, Koch KB, Kidd MT (2009): *Effect of fractionation of distillers dried grains with solubles (DDGS) on pelleting characteristics of broiler diets*. Cereal Chem, **86**, 393-397.
19. Şenyüz HH, Karslı MA, Başalan M (2015): *Kurutulmuş damıtma-tane ve çözünürlüklerinin (DDGS) hayvan beslemede kullanımı*. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, **55**, 82-88.
20. Wang Z, Cerrate S, Coto C, Yan F, Waldroup P (2007): *Utilization of distillers dried grains with solubles (DDGS) in broiler diets using a standardized nutrient matrix*. Int J Poult Sci, **6**, 470-477.
21. Youssef IMI, Westfahl C, Suder A, Liebert F, Kamphues J (2008): *Evaluation of dried distillers' grains with solubles (DDGS) as a protein source for broilers*. Arch Anim Nutr, **62**, 404-414.



DOI: 10.33188/vetheder.599455

Olgu Sunumu / Case Report

## Anisakis spp. infection in Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*, Linnaeus 1758) from the Sea of Marmara

Gökben ÖZBAKİŞ BECERİKLİSOY<sup>1, a\*</sup>, Ceren AŞTİ<sup>1, b</sup>, Bahadır GÖNENÇ<sup>1, c</sup>

<sup>1</sup> Ankara University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, 06110, Ankara, Turkey  
ORCID: 0000-0002-3354-9150<sup>a</sup>; 0000-0002-8424-2343<sup>b</sup>; 0000-0003-0410-7326<sup>c</sup>

### MAKALE BİLGİSİ:

#### ARTICLE INFORMATION:

##### Geliş / Received:

31 Temmuz 2019  
31 July 2019

##### Kabul / Accepted:

23 Ağustos 2019  
23 August 2019

##### Keywords:

Anisakidae  
Anisakis spp.  
L3 stages

##### Anahtar Sözcükler:

Anisakidae  
Anisakis spp.  
L3 dönem

### ABSTRACT:

This study was aimed to determine the parasite infection of fish samples. Ten Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*), which were suspected with parasite infection, were sent to the laboratory by the fisherman at the Sea of Marmara, Turkey. The skin, fins, eyes, buccal cavity, and gills were examined regarding ectoparasites, while internal organs were investigated concerning endoparasites. Seven of 10 fish were infected with endoparasites. A total of 27 nematode larvae were detected from the abdominal cavity of fish. The detected nematode larvae were rinsed in 0.9 % isotonic saline and preserved in glycerine-alcohol until examined. After that the anterior and posterior end of samples were cleared in lactophenol. The larvae had a prominent boring tooth at the anterior end. The body features of the larvae were measured (body width, oesophagus length, ventriculus length and mucron length) on a light microscope (4x-10x-40x). Morphological analysis showed that all samples were identified as *Anisakis* Type I larvae (L3). It is known that anisakiasis is one of the important fish-borne zoonotic diseases. Also, this nematode species had been previously reported in Turkish water from different fish species. The present case contributes valuable information about one of the intermediate hosts of *Anisakis* spp. in Turkey.

### Marmara denizi Atlantik uskumrularındaki (*Scomber scombrus*, Linnaeus 1758) *Anisakis* spp. enfeksiyonu

### ÖZET:

Bu çalışmada balık örneklerinde paraziter enfeksiyonların belirlenmesi amaçlandı. Marmara denizi balıkları tarafından paraziter enfeksiyon şüpheli on adet Atlantik uskumrusu (*Scombrus scombrus*) laboratuvara gönderildi. Balıklara ait deri, yüzgeçler, gözler, ağız boşluğu ve solungaçlar ektoparazitler yönünden incelenirken, iç organların da endoparazitler yönünden araştırmaları yapıldı. Gönderilen on adet balığın yedisinin enfekte olduğu saptandı. Balıkların karın boşluğunda toplam 27 nematod larvası tespit edildi. Saptanan nematod larvaları % 0.9'luk izotonik tuzu ile yıkandı ve gliserin-alkol içinde saklandı. Sonrasında, örneklerin anterior ve posterior uçları laktofenolde şeffaflandırdı. Larvaların ön kısmında belirgin bir kesici diş (boring tooth) görüldü. Larvaların vücut özellikleri (boy uzunluğu, özefagus uzunluğu, ventrikül ve mucron uzunluğu) ışık mikroskopu altında ölçüldü (x-4-x10-x40). Morfolojik analizler sonucu tüm örneklerin *Anisakis* Tip I larvaları (L3) olduğu saptandı. Anisakiasis balık-kaynaklı (fish-borne) zoonotik hastalıkların en önemlilerinden biri olarak bilinmektedir. Ayrıca, bu nematod türlerinin daha önce Türk sularında farklı balık türlerinde de bulunduğu bildirilmiştir. Bu çalışma ile, *Anisakis* spp.'nin Türkiye'deki ara konaklarından biri hakkında değerli bilgi elde edilecektir.

**How to cite this article:** Beceriklisoy ÖG, Aştı C, Gönenc B: *Anisakis* spp. infection in Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*, Linnaeus 1758) from the Sea of Marmara. *Veteriner Hekimler Dergisi*, 91(1): 80-85, 2020, DOI: 10.33188/vetheder.599455

\* Sorumlu yazar e-posta adresi / Corresponding author e-mail address: ozbakis@ankara.edu.tr

## 1. Introduction

*Anisakis* spp. (Dujardin, 1845) is found in the digestive tract of marine mammals (cetaceans) and fish-eating birds. The parasite occurs in the Atlantic ocean, the Pacific ocean and Mediterranean sea in a wide range of marine mammals species (12). Although, there are few studies on parasites of sea mammals in Turkey (8, 27, 33), *Anisakis* spp. were detected in 6 striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) on the Eastern Mediterranean coast of Turkey (8).

The larvae of *Anisakis* spp. infect the aquatic invertebrates (cephalopods) and non-mammalian vertebrates (fish species) as an intermediate host or paratenic host. The crustaceans are the first intermediate hosts of anisakids (21, 22). According to Berland (10) morphological features of *Anisakis* spp. larvae can be distinguished as Type I and Type II. Anisakis Type I includes; *Anisakis simplex* complex (*A. simplex* sensu stricto (s.s), *A. pegreffii*, *A. simplex* C), *A. typica*, *A. zippidaram* and *A. nasceretti*, besides Type II includes; *A. paggiae*, *A. physeteris* and *A. brevispiculata* (21, 22, 24). Inside of them, *A. simplex* s.s, *A. pegreffii* from Type I and *A. physeteris* from Type II are also reported in humans (6, 23). Humans can be infected by ingesting raw or undercooked fish or squids as a paratenic hosts. It is one of the important pathogens associated with human and animal health. The third stage of larvae can penetrate the mucosa of the gastrointestinal tract, producing acute or chronic abdominal syndromes (abdominal pain, vomiting, diarrhea and mild fever) in humans. Also in some cases, serious allergic reactions such as urticaria, angioedema and anaphylaxis can occur (7, 29).

The *Anisakis* spp. larvae were detected from throughout the world involving Africa, Australia, Oceania, Europe, North America and South America in a wide range of fish species (1). Besides, larvae of *Anisakis* spp. had been reported in Turkish coastal waters from different researchers and fish species (Table 1).

**Table 1:** Data on the distribution of *Anisakis* spp. larvae in Turkish coastal waters

**Tabel 1:** Türkiye kıyı sularında *Anisakis* spp. larvalarının dağılımına ilişkin veriler

References	Fish species	Origin	Number of examined fish (n)	Diagnostic methods		Number of infected fish (n/ %)	Number of detected larvae (n)
				Morphological	Molecular		
(3)	Red mullet ( <i>Mullus surmuletus</i> )	AS	142	<i>A. simplex</i>	-	4/ 2.8	7
(4)	Chub mackerel ( <i>Scomber japonicus</i> )	AS	110	<i>A. simplex</i>	-	40/ -	163
(19)	Atlantic mackerel ( <i>Scomber scombrus</i> )	SM	122	<i>A. simplex</i>	-	9/ -	14
(5)	Conger eel ( <i>Conger conger</i> L.)	AS	20	<i>A. simplex</i>	-	2/ 10.0	21
(32)	Horse Mackerels ( <i>Trachurus trachurus</i> )	AS	26	<i>A. simplex</i>	-	4 / 15.38	14
(2)	11 different species	BS	-	-	<i>A. pegreffii</i> <i>A. simplex</i>	-	6
(20)	<i>Merlangius merlangus</i>	BS	235	<i>A. simplex</i>	-	33/ -	160+>100
(30)	<i>Trachurus mediterraneus</i>	BS	3	-	<i>A. simplex</i>	3/ -	10
			56	<i>A. pegreffii</i>	-	1/ 2	11
(25)	10 different species	AS	70	<i>Anisakis</i> Type I	<i>A. typica</i> Hybrid genotypes	33/ 47.1	569
(34)	7 different species John Dory ( <i>Zeus faber</i> )	M	50	<i>Anisakis</i> Type I	<i>A. pegreffii</i>	23/ 46.0	197
		M	1	<i>Anisakis</i> Type I	<i>A. pegreffii</i>	1/ -	15
(26)	23 different species	BS	475	<i>Anisakis</i> Type I	-	-	102
		M					

BS: Black Sea, SM: Sea of Marmara, AS: Aegean Sea, M: Mediterranean Sea

Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*, Linnaeus 1758) is represented by the Scombridae family of the Actinopterygii class. It is one of the widely distributed migratory pelagic fish species and lives in North-Atlantic

including Mediterranean (18). It has been assessed as the least concern (LC) in The Red List of Threatened Species since 2011 by The IUCN (15). In Turkey, Atlantic mackerel were reported in the Black Sea, Sea of Marmara, Aegean Sea, and the Mediterranean Sea (11). The 46.6-728.2 tons of Mackerel caught in-between years of 2009 and 2018 from these waters (31).

The aim of the present case was to investigate the presence of the Anisakid larvae in Atlantic mackerel from Sea of Marmara, Turkey.

## 2. Case Story

Ten Atlantic mackerel were sent by the fishermen in the Sea of Marmara, Turkey. Fish were stored individually, and transported with ice-box to the Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Parasitology laboratory. Fish were investigated with parasitological examination. The skin, fins, eyes, buccal cavity and gills were examined in terms of ectoparasites, while internal organs were investigated regarding endoparasites. The nematode larvae were observed on 7 of 10 fish ( $3.85 \pm 3.38$ ; min: 1, max: 10). Total of 27 nematode specimens were collected from the abdominal cavity. The samples were rinsed in isotonic solution 0.9 % and fixed in glycerine-alcohol after that anterior and the posterior end of the larvae were clarified in lactophenol. The samples were evaluated under the light microscope (x4-x10-x40) and the body features were measured (body width, length of oesophagus, ventriculus, and mucron) (Table 2). Morphological identification was conducted according to Berland (10). The larvae were white and cylindrical shape. The larvae had a prominent boring tooth, excretory pore opened ventrally at the anterior end and the distinct mucron was located at the caudal end. The morphological analysis confirmed that all examined samples were *Anisakis* Type I larvae (Figure 1).

**Table 2:** The comparative body measurements of *Anisakis* Type I larvae (mm)

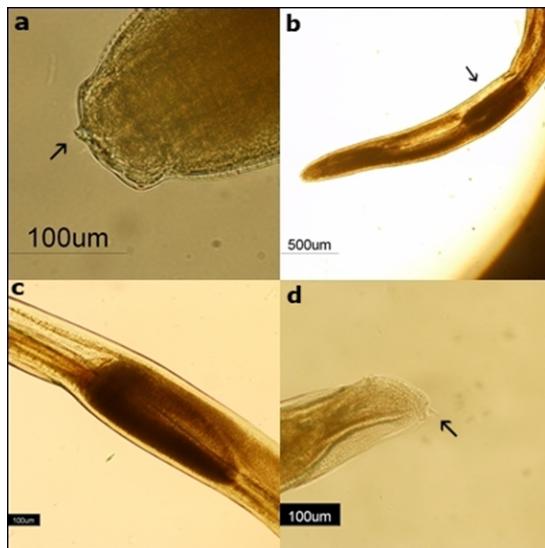
**Tablo 2:** *Anisakis* Type I larvalarının karşılaştırmalı vücut ölçümleri (mm)

	Present study	<i>A. simplex</i> (28)	<i>A. pegreffii</i> (34)	<i>A. pegreffii x A. simplex</i> (ss) (17)	<i>A. typica</i> (16)
Total body length	9.12- 25.36	12.75-29.94	12.80-24.65	9.0-17.5	21.05-24.97
Length of oesophagus	0.95-1.79	1.18-2.58	0.98-1.87	0.56-1.75	1.50-1.70
Ventriculus length	0.39-0.74	0.90-1.50	0.53-0.74	0.20-0.40	0.89-0.94
Mucron length	0.01-0.02	0.02-0.03	0.01-0.02	0.01-0.03	0.005-0.010

## 3. Discussion and Conclusion

Anisakiasis is a fish-borne zoonotic parasitic disease and were detected throughout the world in humans (13). *Anisakis* Type I larvae, including *A. simplex* sensu stricto and *A. pegreffii* have been reported as agents of human anisakiasis (9, 14). It is well-known, *Anisakis* larvae reported surviving in various fish species (13). The larvae of *A. simplex* and *A. pegreffii* had been reported in Turkish coastal waters from different researchers (25, 26, 32). *Anisakis* spp. larvae were detected in Aegean (25) and the Sea of Marmara (19) from Atlantic mackerel as previously reported. In the present case, the higher rate of infected Atlantic mackerel (7/10) might be assessed as a potential intermediate host of anisakiasis for Turkish waters.

Despite the extensity of this nematoda in Turkish coast, there is no reported case in human from Turkey. Because of symptoms of human anisakiasis are usually not specific and the disease is thought to be frequently misdiagnosed and underdiagnosed (9).



**Figure 1:** *Anisakis* Type I larvae **(a)** anterior end, larval tooth (arrow) (x40), **(b)** anterior end, ventriculus (arrow) (x4) **(c)** ventriculus (x10), **(d)** caudal end, mucron (arrow) (x20)

**Sekil 1:** *Anisakis* Tip I larva **(a)** ön nihayet, larval dış (ok ucu) (x40), **(b)** ön nihayet, ventriculus (ok ucu) (x4) **(c)** ventriculus (x10), **(d)** arka nihayet, mukron (ok ucu) (x20)

According to Berland (10), larval morphological features including the absence of a ventricular appendage and an intestinal caecum are useful for the distinction between several anisakid genera. *Anisakis* Type I or Type II larvae can be identified based on ventriculus length and the presence of a tail spine (or mucron), however, these measurements insufficient for species identifications. For this purpose, the latest studies were conducted via molecular approaches. Although our preservation methods of samples were useful for PCR protocol, we couldn't obtain sufficient amount of DNA. Therefore, the identification of larvae samples could not be performed via PCR.

Although five hundred twelve marine fish species were previously identified from the Turkish coasts (11), the *Anisakis* spp. larvae were detected in only 23 fish species in Turkey so far (2, 25). Due to the rich variety of Turkish marine fish species, further studies are required. Every new data is essential to understand the epidemiology of anisakiasis.

## Acknowledgments

This case was presented on the 13<sup>th</sup> International Symposium on Fisheries and Aquatic Sciences, 21-23 November 2018, Ankara, Turkey.

## References

1. Aibinu IE, Smooker PM, Lopata AL (2019): *Anisakis* nematodes in fish and shellfish-from infection to allergies. Int J Parasitol Parasites Wildl, **9**, 384-393.
2. Akmirza A (2013): Gökçeada kıyı sularındaki balıkların parazitik nematodları. Turkiye Parazitol Derg, **37**, 199-202.
3. Akmirza A (2000): Gökçeada civarında avlanan tekir (*Mullus surmuletus L.*) balığının metazoan parazitleri. Vet Fak Derg (İstanbul), **26(1)**, 129-140.
4. Akmirza A (2003): Distribution of parasites fauna of Chub mackerel in Aegean and Mediterranean Sea. Turkish J Marine Science, **9(3)**, 187-195.
5. Akmirza A (2012): Metazoan parasite fauna of Conger eel (*Conger conger L.*) near Gökçeada, northeastern Aegean Sea, Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg, **18(5)**, 845-848.

6. Arizono N, Yamada M, Tegoshi T, Yoshikawa M (2012): *Anisakis simplex sensu stricto and Anisakis pegreffii: biological characteristics and pathogenetic potential in human anisakiasis*. Foodborne Pathog Dis, **9**(6), 517-521.
7. Audicana L, Audicana MT, Fernandez de Corres L, Kennedy MW (1997): *Cooking and freezing may not protect against allergenic reactions to ingested Anisakis simplex antigens in humans*. Vet Rec, **140**(9), 235.
8. Aytemiz I, Dede A, Danyer E, Tonay AM (2012): *Morphological identification of parasites found in the stomach contents of bycaught striped dolphins (Stenella coeruleoalba) from Turkish Eastern Mediterranean Sea coast*. J Black Sea/Mediterr, **18**, 238-245.
9. Bao M, Pierce GJ, Strachan NJC, Pascual S (2019): *Human health, legislative and socioeconomic issues caused by the fish-borne zoonotic parasites Anisakis: challenges in risk assessment*. Trends Food Sci Tech, **86**, 298-310.
10. Berland B (1961): *Nematodes from some Norwegian marine fishes*. Sarsia, **2**, 1-50.
11. Bilecenoglu M, Kaya M, Cihangir B, Cicek E (2014): *An updated checklist of marine fishes of Turkey*. Turk J Zool, **38**, 901-929.
12. Bilska-Zajac E, Rózycki M, Chmurzyńska E, Karamon J, Sroka J, Kochanowski M, Kusyk P, Cencek T (2015): *Parasites of Anisakidae family—geographical distribution and threat to human health*. J Agr Sci Tech-Iran, **5**, 146-152.
13. Buchmann K, Mehrdana F (2016): *Effects of anisakid nematodes Anisakis simplex (s.l.) Pseudoterranova decipiens (s.l.) and Contracaecum osculatum (s.l.) on fish and consumer health*. FAWPAR, **4**, 13-22.
14. Cipriani P, Sbaraglia GL, Palomba M, Giulietti L, Bellisario B, Bušelić I, Mladineoc I, Cheleschid R, Nascetti G, Mattiucci S (2018): *Anisakis pegreffii (Nematoda: Anisakidae) in European anchovy Engraulis encrasicolus from the Mediterranean Sea: Fishing ground as a predictor of parasite distribution*. Fish Res, **202**, 59-68.
15. Collette B, Boustany A, Carpenter KE, Di Natale A, Fox W, Graves J, Juan Jorda M, Kada O, Nelson R, Oxenford H (2011): *Scomber scombrus. The IUCN Red List of Threatened Species 2011*: e.T170354A6764313. Erişim adresi: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T170354A6764313.en>. Erişim tarihi: 28.07.2019
16. Da Fonseca MCG, Knoff M, Felizardo NN, Di Azevedo MIN, Torres EJL, Gomes DC, Iñiguez AM, De São Clemente SC (2016): *Integrative taxonomy of Anisakidae and Raphidascarididae (Nematoda) in Paralichthys patagonicus and Xystreurus rasile (Pisces: Teleostei) from Brazil*. Int J Food Microbiol, **235**, 113-124.
17. Eissa AE, Showehdi ML, Ismail MM, El-Naas AS, Mhara, AAA, Abolghait SK (2018): *Identification and prevalence of Anisakis pegreffii and A. pegreffii x A. simplex (ss) hybrid genotype larvae in Atlantic horse mackerel (Trachurus trachurus) from some North African Mediterranean coasts*. Egypt J Aquat Res, **44**(1), 21-27.
18. Fish Base (2019): *Scomber scombrus Linnaeus 1758, Atlantic mackerel*. Erişim adresi: <https://www.fishbase.se/Summary/SpeciesSummary.php?ID=118&AT=atlantic+mackerel> Erişim tarihi: 27.07.2019
19. Keser R, Bray RA, Oğuz MC, Çelen S, Erdoğan S, Doğutürk S, Aklanoğlu G, Martı B (2007): *Helminth parasites of digestive tract of some teleost fish caught in the Dardanelles at Çanakkale, Turkey*. Helminthologia, **44** (4), 217-221.
20. Keskin E, Genc E, Unal EM (2013): *Identification of Anisakis simplex using DNA barcoding*. Aquaculture Europe 2013-Trondheim, Norway.
21. Mattiucci S, Nascetti G (2006): *Molecular systematics, phylogeny and ecology of anisakid nematodes of the genus Anisakis Dujardin, 1845: an update*. Parasite, **13**(2), 99-113.
22. Mattiucci S, Nascetti G (2008): *Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host—parasite co-evolutionary processes*. Adv Parasitol, **66**, 47-148.

23. Molina-Fernández D, Adroher FJ, Benítez R (2018): *A scanning electron microscopy study of Anisakis physeteris molecularly identified: from third stage larvae from fish to fourth stage larvae obtained in vitro.* Parasitol Res, **117**, 2095–2103.
24. Orecchia P, Paggi L, Mattiucci S, Nascetti G, Smith JW, Bullini L (1986): *Electrophoretic identification of larvae and adults of Anisakis (Ascaridida: Anisakidae).* J Helminthol, **60**, 331-339.
25. Pekmezci GZ, Onuk EE, Bolukbas CS, Yardimci B, Gurler AT, Acici M, Umur S (2014): *Molecular identification of Anisakis species (Nematoda: Anisakidae) from marine fishes collected in Turkish waters.* Vet Parasitol, **201**, 82–94.
26. Pekmezci GZ, Yardimci B (2019): *On the occurrence and molecular identification of Contracaecum larvae (Nematoda: Anisakidae) in Mugil cephalus from Turkish waters.* Parasitol Res, **118(5)**, 1393-1402.
27. Pekmezci GZ, Yardimci B, Gurler AT, Bolubas CS, Acici M, Umur S (2013): *Survey on the presence of nematodes and associated with pathology in marine mammals from Turkish waters.* Kafkas Univ Vet Fak Derg, **19(6)**, 1035-1038.
28. Quiazon KMA, Yoshinaga T, Ogawa K, Yukami R (2008): *Morphological differences between larvae and in vitro-cultured adults of Anisakis simplex (sensu stricto) and Anisakis pegreffii (Nematoda: Anisakidae).* Parasitol Int, **57(4)**, 483-489.
29. Şimşek E, Yılmaz E (2016): *Anisakiasis ve halk sağlığı.* Turkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics, **202(3)**, 38-44.
30. Tepe Y, Oğuz MC (2013): *Nematode and acanthocephalan parasites of marine fish of the eastern Black Sea coasts of Turkey.* Turk J Zool, **37**, 753-760.
31. TÜİK (2019): Su ürünleri istatistikleri: Deniz ürünleri: Avlanan deniz balıkları miktarı. Erişim adresi: [http://www.tuik.gov.tr/PreTabelo.do?alt\\_id=1005](http://www.tuik.gov.tr/PreTabelo.do?alt_id=1005) Erişim tarihi: 31.07.2019
32. Utuk AE, Piskin FC, Balkaya I (2012): *Molecular detection of Anisakis pegreffii in Horse mackerels (Trachurus trachurus) sold for human consumption in Erzurum province of Turkey.* Kafkas Univ Vet Fak Derg, **18(2)**, 303-307.
33. Veryeri NG (2012): *Postmortem examinations of stranded dolphins found on the Black Sea coast near Ordu, Turkey (Mammalia: Cetacea).* Zool Middle East, **55(1)**, 129-132.
34. Yardimci B, Pekmezci GZ, Onuk EE (2014): *Pathology and molecular identification of Anisakis pegreffii (Nematoda: Anisakidae) infection in the John Dory, Zeus faber (Linnaeus, 1758) caught in Mediterranean Sea.* Ankara Univ Vet Fak Derg, **61**, 233-236.

## VETERİNER HEKİMLER DERNEĞİ DERGİSİ

### YAYIM KOŞULLARI

**1.** Dergi, Veteriner Hekimler Derneği'nin yayın organı olup, yılda iki kez (Ocak ve Haziran) yayımlanır. Derginin kısaltılmış resmi adı **"Vet Hekim Der Derg"** olup derginin yayım dili Türkçe ve İngilizcedir.

**2.** Dergide, tamamı daha önce başka bir yerde yayımlanmamış güncel konulara ilişkin özgün bilimsel araştırmalar, derlemeler, olgu sunumları ve kısa bilimsel çalışmalar yayımlanır. **Derleme niteliğindeki çalışmalar, ilgili bilim insanlarından davet usulü ile talep edilir.**

**3.** Dergide yayımlanmak üzere gönderilen makaleler Editörler Kuruluna değerlendirilerek konu ile ilgili hakemlere gönderilir. Hakemlerin görüşü alındıktan sonra önerilen değişiklik ve düzeltmelerin yapılması için makale yazara/yazarlarına geri gönderilir; düzeltmeler yapıldıktan sonra yayımlanır. Hakemlerin önerileri dışında makalelerde sonradan ekleme ve çıkartma yapılamaz. Yayımlanması uygun bulunmayan makalelerle ilgili herhangi bir iade yapılmaz.

**4.** **Dergide yayımlanması istenen yazılar uygun formata göre hazırlanmış ve dergi web sitesinde erişime sunulan "şablon" a göre düzenlenmelidir. Yazar; Dergide yayımlanması istenen yazımı ilgili şablonu kullanarak uygun formata getirdikten sonra Dergipark sistemini kullanarak 3 dosya yükleyecektir. Bu dosyalar:**

**(1) Mevcut şablon uygun şekilde doldurularak elde edilen Word dosyası (tablo, şekil, kaynaklar dahil).**

**(2) Mevcut şablondan "yazar isimleri, kurum adları, sorumlu yazar iletişim bilgileri" vs. silinerek elde edilen Word dosyası (tablo, şekil, kaynaklar dahil)**

**(3) "Yazar isimleri, kurum adları, sorumlu yazar iletişim bilgileri" olmayan versiyonun pdf dosyasına çevrilmiş hali.**

- **ÖNEMLİ BİLGİ:** Makaleyi sisteme yükleme adımları sırasında ulusal dizin ve atif takibi için makalede yer alan kaynakçanın "ayrıca" bir kez daha girilmesi istenmektedir. Dolayısıyla hem ana metin hem de ileriki adımlarda belirtilen kaynaklar kısmına giriş yapılmalıdır. Sistemde bu kısım için kaynakça sıra numarası "olmaksızın" her bir kaynakçayı "enter" tuşuna basarak ayırmalı (her bir kaynakça arasında bir satır olacak şekilde) ve belirtilen alana kopyalamamanız gerekmektedir. Sisteme yüklenecek makale, sisteme "Makale Dosyaları" kısmından yüklenecek olup, "Dosya Tipi"ni tam metin olarak seçtikten sonra hemen altındaki seçenekten dosya başlığı kısmına "makalenizin adını" yazmanız gerekmektedir. Bu aşamada "Dosya başlığını metinsel olarak girmek istiyorum"u tıklatmayı unutmayınız. (Bu şekilde sisteme "**makale kısa adı- yazarlı.docx**"; "**makale kısa adı-yazarsız.docx**"; "**makale kısa adı-yazarsız.pdf**" şeklinde üç dosya yüklemeniz beklenmektedir. Lütfen sisteme yüklediğiniz dosyaların adını verirken kendi adınızı veya kurumunuza belli edecek isim kullanmayın.)

**5.** Yazlıkların tamamı, şekil ve tablolar dahil olmak üzere orijinal bilimsel araştırmalarda ve derlemelerde **15**, kısa bilimsel çalışmalarında **10**, olgu sunumlarında **8** sayfayı geçmemelidir.

**6.** Makaleler; **başlık, yazar/yazarların isimleri, Türkçe öz ve anahtar sözcükler, yabancı dilde başlık, yabancı dilde öz ve anahtar sözcükler, giriş, gerçek ve yöntem, bulgular, tartışma ve sonuç, teşekkür ve kaynaklar** sırası ile hazırlanmalıdır. Anadili Türkçe olmayan iletişim yazarının çalışmasında Türkçe özet şartı aranmaz. Sosyal bilimler alanındaki çalışmalar ile sağlık ve fen bilimleri alanındaki kısa bilimsel çalışmalarında, giriş, gerçek ve yöntem, bulgular, tartışma ve sonuç bölümlemesi yapılmayabilir.

**7.** Makalenin başlığı kısa ve açık olmalı; ilk sözcüğün başlangıcı büyük, diğerleri küçük harflerle olacak şekilde, yazılmalıdır ("Köpek ve kedilerde uterus patolojileri" gibi). Varsa çalışmaya ilişkin açıklama dipnot işaretti ile gösterilmelidir.

**8.** Yazar/yazarların, ad ve soyadları makale başlığının altına yazılmalıdır; adresleri ve unvanları ilk sayfada dipnot şeklinde belirtilmelidir.

**9.** Öz, makalenin önemli noktalarını içerecek tarzda kısa ve açık olmalıdır. Türkçe Öz, en az **150**, en fazla **250** sözcük olmalıdır. Anahtar sözcükler **MeSH** (Medical Subject Headings) terimlerine uygunluk açısından Türkiye Bilim Terimleri'nden seçilmeli ve en az **3**, en fazla **5** adet olacak şekilde alfabetik olarak sıralanmalıdır. Yabancı dilde Öz (Abstract, Zusammenfassung, Resume), en az **150**, en fazla **300** sözcük olmalıdır. Yabancı dilde anahtar sözcükler MeSH terimlerine uygun olmalı ve en az **3**, en fazla **5** adet olacak şekilde alfabetik olarak sıralanmalıdır.

**10.** Giriş bölümünde, çalışma ile doğrudan ilgili kısa literatür bilgisi ve çalışmanın orjinallığı ile ilgili bilgi verildikten sonra, son paragrafta çalışmanın amacı vurgulanmalıdır. Bu bölüm 2 sayfayı geçmemelidir.

**11.** Gereç ve Yöntem, gereksiz ayrıntıya girmeden, öz ve anlaşıllır biçimde yazılmalıdır. Etik kurul izni gereklisi ise mutlak suretle belirtilmelidir. (Kurum, Tarih, sayı numarası ile birlikte)

**12.** İstatistik analiz sonuçlarının gösteriminde P değerleri tam olarak raporlanmalıdır. P değeri için virgülden sonra 3 hane, tanımlayıcı istatistiklerin raporlanması ise virgülden sonra 2 hane yeterlidir. Anadili Türkçe olan makaleler için ondalık ayrıacı olarka virgül (,), İngilizce olanlar için ise nokta (.) kullanılmalıdır.

**13.** Bulgular bölümünde, veriler kısa bir şekilde açıklanmalıdır. Tablolarda verilen bulguların metinde tekrarlanmasılarından kaçınılmalıdır.

**14.** Bölüm başlıkları sola yaslı biçimde, kalın yazı karakteri ile sözcüklerin ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. İkinci derecedeki alt başlıklar sola dayalı olarak kalın yazı karakteri ile sadece ilk harf büyük olacak şekilde küçük harflerle yazılmalıdır. Üçüncü derecedeki başlıklar ise paragraf başında yer almalı ve italik olarak sadece ilk harf büyük olacak şekilde küçük harflerle yazılmalıdır (Bkz. Şablon).

**15.** Tablo ve şekil başlıkları, Türkçe ve yabancı dilde dergi formatı dikkate alınarak yazılmalıdır. Başlıkların tabloyu yeterli düzeyde açıklayıcı olmasına özen gösterilmelidir. Tablolarda dikey çizgi kullanımından kaçınılmalıdır. Yatay çizgiler ise gerekçiinde yalnızca tablonun ilk satırı ve son satırından sonra kullanılabilir.

**16.** Yazarlar her bir bilimsel kısaltmanın açılımını metinde ilk geçtiği yerde açıklamalıdır. Latince cins ve tür isimleri italik yazı tipi ile yazılmalıdır. Tüm ölçüler SI (Systeme Internationale)'ye göre verilmelidir.

- 17.** Tartışma ve Sonuç bölümünde, veriler literatür bilgilerinin işliğinde tartışılmalı ve yorumlanmalıdır.
- 18.** Kaynaklar bölümünde, bibliyografik bilgi, alfabetik sıra ile verilmeli, çok yazarlı çalışmalarında yazar adlarının arasına sadece virgül konulmalıdır. Kaynaklar alfabetik ve kronolojik dizin dikkate alınarak sıralanmalı ve numaralandırılmalıdır. Kaynak yazımında yazar adları kalın, konu başlığı italik yazı tipi ile yazılmalıdır. Dergi adlarının kısaltması kullanılmalı ve dergi adı kısaltılmasında "Periodical Title Abbreviations: By Abbreviation"ın son baskısı esas alınmalıdır. Dergi kısaltması içerisinde nokta (.) kullanılmamalıdır. Metin içerisinde kaynak, parantez içerisinde alınmış sıra numarası ile belirtilmelidir. Metin içerisinde kaynak kullanımında, aynı konuya bildiren 1'den çok kaynak varsa bunlar sıraları itibariyle küçükten büyüğe doğru sıralanmalı ve sayıları 5'i geçmemelidir. Kaynakta belirtilen yazar isimlerinin tamamı verilmeli, kaynakçada et. al. veya ve ark. şeklinde kısaltma kullanılmamalıdır. et al veya ve ark yalnızca metin içerisindeki kaynak gösteriminde ikiden fazla yazar olması durumunda kullanılabilir.

**Metin içerisinde örnek kaynak gösterimi:** "Lizin amino asiti yumurta kütlesini oluşturan protein sentezi ile doğrudan ilişkilidir (1). Lizin amino asitinin rasyonda doğru olarak dengelenmesi kanatlılarda yemden yararlanma oranını artırır. Aynı zamanda yumurta kalitesi ile de yakından ilişkilidir (2). Smiricky-Tjardes ve ark (3), lizin sülfat içerisinde bulunan kurumuş mikroorganizmaların hayvanların performansını olumsuz etkileyebileceği fikrini savunmuştur."

**Yukarıda verilen örneğe ilişkin uygun kaynak gösterimi:**

**1.** Bailleul PJD, Bernier J, Milgen JV(2000): *The utilization of prediction models to optimize farm animal production systems: the case of a growing pig model.* 379–392 In: Mc Namara JP, France J, Beever DE (Eds.), *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals*, CAB International, Wallingford.

**2.** Özpinar AA(1997): *The variations in blood ionized calcium, sodium and potassium concentrations with age and laying cycle and the relationships of these ions with eggshell quality.* Arch Geflügelk, **61(6)**,287-290.

**3.** Smiricky-Tjardes MR, Mavromichalis I, Albin DM (2004): *Bioefficacy of L-lysine sulfate compared with feed-grade L-lysine HCl in young pigs.* J Anim Sci, **82**, 2610–2614.

#### **Çeşitli kaynak gösterimlerine örnekler:**

**Kaynak, bilimsel çalışma ise:**

**Kasperowicz A, Michalowski T** (2002): *Assessment of the fructanolytic activities in the rumen bacterium Treponema saccharophilum strain S.* J Appl Microbiol, **92**, 140–146.

**Christy RC, Thirunavukkarasu, M** (2006): *Emerging importance of animal health economics: A note.* Turk J Vet Anim Sci, **2(3)**, 113–117.

**Kaynak, kitap ise:**

**Falconer DS** (1960): *Introduction to Quantitative Genetics.* Oliver and Boyd Ltd, Edinburgh

**Kaynak kitaptan bir bölüm ise:**

**Bahk J, Marth EH** (1990): *Listeriosis and Listeria monocytogenes.* 248-256. In: DO Cliver (Ed), *Foodborne Diseases*. Academic Press, San Diego.

**Kaynak internette yer alıyor ise erişim tarihi ile birlikte yazılmalıdır;**

**Otte MJ, Chilonda P** (2007): *Animal Health Economics: An introduction.* Erişim: <http://www.fao.org/ag/againfo/resources/en/publications/agapubs/pproc01.pdf>. Erişim Tarihi: 11.05.2008

**19.** Yazışma adresi, çalışmada şablon içerisinde verilen kısmda yer almmalıdır. Çok yazarlı çalışmalarında yazarlardan sadece birinin adı, yazışma adresi olarak belirtilmelidir.

**20.** Veteriner Hekimler Derneği Dergisinde yayımlanacak olan, hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda "Etik Kurul Onayı Alınmıştır" ifadesi aranır.

**21.** Araştırmaya konu olan maddelerin ve ürünlerin ticari adları kullanılmamalıdır.

**22.** Dergide yayınlanan her türlü makalenin sorumluluğu yazarlarına aittir.

**23.** Gönderilen makaleler geliş tarihine göre hakeme gönderilir ve yayın kurulunun aldığı kararla yayımlanır. Makale yayımlandıktan sonra yayın hakkı dergiye aittir.

# Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

*Journal of the Turkish Veterinary Medical Society*

ISSN: 0377-6395  
e-ISSN: 2651-4214

<http://dergipark.org.tr/vetheder>

## YAYIN HAKKI DEVİRİ FORMU

Bu formu imzalayan yazarlar, basıldığı takdirde, gönderdikleri ve aşağıda başlığı olan yazının içeriği ile ilgili hiçbir konuda Veteriner Hekimler Derneği Dergisinin sorumlu olmadığını kabul ederler.

### Makale Başlığı:

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

Bu formu imzalamakla, yazıları basılan yazarlar;

- yazının, İçerdeği verilerin, resimlerin ve çizimlerin orijinal olduğunu,
- verileri ve yayın üzerinde yazar(lar) dışında başka kişi ve kurumların hak sahibi olmadığını,
- başka bir dergiye gönderilmemiş olduğunu,
- daha önce yayınlanmadığını, veya
- kısmen de olsa, veriler daha önce yayınlandıysa bunların Veteriner Hekimler Derneği Dergisi'nde yayınlanması için gerekli iznin alınıp bu forma eklendiğini kabul ederler.

Yazarların saklı hakları şunlardır:

- Yayın hakkı (copyright) dışında kalan, hasta hakları da dâhil olmak üzere içeriğe ait tüm mülkiyet hakları,
- Yazının içeriğinin tamamı veya kısımlarını, kendilerine ait başka çalışmalarda karşılıksız kullanma hakkı,

Bu yazının yayınlanmasına dair sorumlulukları kabul ediyor ve imzalıyoruz. Böylece, yazının yayın hakkını (copyright) Veteriner Hekimler Derneği Dergisine devrediyoruz.

Yazarlar ve İmza

Ad	Soyad	İmza	Tarih

**Bu form eksiksiz olarak doldurulup yayın başvurusu sırasında makale dosyalarına eklenmelidir.**

# Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

*Journal of the Turkish Veterinary Medical Society*

ISSN: 0377-6395  
e-ISSN: 2651-4214

<http://dergipark.org.tr/vetheder>

## COPYRIGHT RELEASE FORM

**Manuscript title:**

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

On the behalf of all authors, we warrant that;

- i) the manuscript submitted is our own original work,
- ii) all authors participated in the work in a substantive way and are prepared to take public responsibility for the work
- iii) all authors have seen and approved the manuscript as submitted,
- iv) the manuscript has not been published and is not being submitted or considered for publication elsewhere,
- v) we transfer all financial rights, especially processing, reproduction, representation, printing, distribution and online transmittal to Veteriner Hekimler Derneği with no limitation whatsoever.

Name and Surname

Date

Signature

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

---

**Please submit this document in addition to your manuscript via Dergipark submission system**

# Veteriner Hekimler Derneği Dergisi

*Journal of the Turkish Veterinary Medical Society*

Cilt / Volume : 91 - Sayı / Issue : 1 - Yıl / Year : 2020

## İÇİNDEKİLER / CONTENTS

### Araştırma Makaleleri / Research Articles

Comparative effects of nisin and monensin on pure cultures of rumen bacteria <i>Nisin ve monensin'in rumen bakterilerinin saf kültürleri üzerine karşılaştırmalı etkileri</i> Ahu DEMIRTAŞ	1
Expression of e-cadherin in early mouse embryo development <i>Farelerde erken embriyo gelişiminde e-kadherin ekspresyonu</i> Duygu MUTLUAY	9
The validity and reliability study for evaluation of factors affecting workplace satisfaction of academic staff: faculty of veterinary medicine <i>Akademik personelin işyerinde memnuniyetini etkileyen faktörleri ölçüge geçerlik ve güvenilirlik çalışması:</i> <i>veteriner fakültesi örneği</i> Mustafa Agah TEKINDAL, Mehmet Emin TEKİN, Mustafa Bahadır ÇEVİRİMLİ, Gökhan ASLIM, Burak MAT, Aytekin GÜNLÜ, Aşkın YAŞAR	16
Investigation of boron effect on trace elements and antioxidant capacity in paracetamol-induced nephrotoxicity model <i>Ratlarda parasetamol ile indüklenen nefrotoksisite modelinde eser elementler ve antioksidan kapasite üzerine borun etkisinin araştırılması</i> Ecem ÖZKAN, Funda KARABAĞ ÇOBAN	25
Köpeklerde femur ve tibia kırıklarının sağaltımında kilitli intramedullar pin yönteminin klinik ve radyolojik değerlendirilmesi <i>Clinical and radiological evaluation of the treatment of femoral and tibial fractures with the use of interlocking nails in dogs</i> Kismet Salan ANAÇ, Umit KAYA, İlker ŞEN	36
Evaluation of relation with pet food and first record of Necrobia rufipes (De Geer, 1775) (Coleoptera: Cleridae) associated with pet clinic in Turkey <i>Necrobia rufipes'in pet mamalarıyla ilişkisinin değerlendirilmesi ve Türkiye'deki kliniklerden ilk bildirimi</i> Nafiye KOÇ, Mert ARSLANBAŞ, Canberk TİFTİKÇİOĞLU, Ayşe ÇAKMAK, A. Serpil NALBANTOĞLU	44
Modelling of the milk supplied to the industry in Turkey through Box-Jenkins and Winters' Exponential Smoothing methods <i>Türkiye'de sanayiye aktarılan sütün Box-Jenkins ve Winter's Üstel Düzgünleştirme yöntemleri ile modellenmesi</i> Ahmet Cumhur AKIN, Mustafa Agah TEKINDAL, Mehmet Saltuk ARIKAN, Mustafa Bahadır ÇEVİRİMLİ	49
Türkiye'de Veteriner Fakülteleri'nde görev alan kadın akademisyenlerin hayvancılık sektörüne bakış açılarının değerlendirilmesi <i>Evaluation of Female academicians' viewpoints concerning livestock sector in veterinary faculties in Turkey</i> Pınar DEMİR AYVAZOĞLU, Aysun KOÇ	61
Rasyonlarda DDGS kullanımının karma yem maliyetleri ile broyler performansı ve karkas parametreleri üzerine olan etkisinin araştırılması <i>Investigation of the effect of dietary DDGS supplementation on compound feed costs and broiler performance and carcass parameters</i> Ali ÇALIK, Mücahit PALAZ	70

### Olgı Sunumları / Case Reports

Anisakis spp. infection in Atlantic mackerel ( <i>Scomber scombrus</i> , Linnaeus 1758) from the Sea of Marmara <i>Marmara denizi Atlantik uskumrularındaki (Scomber scombrus, Linnaeus 1758) Anisakis spp. enfeksiyonu</i> Gökben OZBAKİŞ BECERİKLİSOY, Ceren AŞTİ, Bahadır GONENÇ	80
---	----

### Yayın Koşulları / Instructions to Authors

Yayın Hakkı Devir Formu / Copyright Release Form	88
--	----