

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

*Harran University
Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*



*Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınıdır
Published by Harran University Faculty of Veterinary Medicine*

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Harran University
Journal of The Faculty of Veterinary Medicine



Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınıdır
Published by Harran University Faculty Of Veterinary Medicine

YIL/YEAR:2019

CİLT/VOLUME:8

SAYI/ISSUE:2

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

Harran University
Journal of the Faculty of Veterinary Medicine

Harran Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Adına
Sahibi/Owner
Prof. Dr. Murat SEVGİLİ
Dekan/Dean

Baş Editör/Editor in Chief
Prof. Dr. Oktay KESKİN

Editörler Kurulu/Editorial board
Prof. Dr. Füsün TEMAMOĞULLARI
Doç. Dr. Şükrü GÜRLER
Doç. Dr. Rahşan YILMAZ
Doç. Dr. Deniz KORKMAZ
Doç. Dr. Serap KILIÇ ALTUN
Doç. Dr. Birten EMRE

İngilizce Editörü/English Editor
Prof. Dr. Ayşe Menteş GÜRLER

Mizanpaj Editörü/Layout Editor
Dr. Öğr. Üyesi İrfan ÖZGÜNLÜK

Dergi Sekreteri/Journal Secretary
Arş. Gör. Ayfer GÜLLÜ YÜCETEPE

Yazışma /Correspondence

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dergisi Editörlüğü Eyyübiye Kampüsü,
63200 - Şanlıurfa/TÜRKİYE
Tel: +90 414 318 38 59
+90 414 318 38 55
Faks: +90 414 318 39 22

e-mail: harranvet@gmail.com

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dergisi Hakemli Bir Dergi Olup, Yılda 2(iki)
Sayı Olarak Yayınlanır.

Yıl/Year: 2019 - Cilt/Volume: 8 Sayı/Issue 2

Danışma Kurulu/Advisory Board

Prof. Dr. Ergun AKÇAY, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Mustafa ATASEVER, Atatürk Üniv. Vet. Fak. Erzurum, Türkiye.
Prof. Dr. Halil Selçuk BİRİCİK, Aksaray Üniv. Vet. Fak. Aksaray, Türkiye
Prof. Dr. Ali BUMİN, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN, Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak. Aydın Türkiye.
Prof. Dr. Hasan EREN, Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak. Aydın, Türkiye.
Prof. Dr. Okan ERTUĞRUL, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Anila HODA, Agric. Uni. of Tirana, Fac. of Agric.& Environ. Tirana,
Albania.
Prof. Dr. Osman KUTSAL, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Narin LİMAN, Erciyes Üniv. Vet. Fak. Kayseri, Türkiye.
Prof. Dr. Manzoor Ur Rahman MIR, SKUAST Kashmir Fac. of Vet. Sci. &
Anim. Husbandry. Kashmir, India.
Prof. Dr. Sema TEMİZER OZAN, Fırat Üniv. Vet. Fak. Elazığ, Türkiye.
Prof. Dr. Ceyhan ÖZBEYAZ, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Gerald REINER, Justus-Liebig Uni. Fac. of Vet. Med. Giessen,
Germany.
Prof. Dr. Kazım ŞAHİN, Fırat Üniv. Vet. Fak. Elazığ, Türkiye.
Prof. Dr. Atilla ŞİMŞEK, Selçuk Üniv. Vet. Fak. Konya, Türkiye.
Prof. Dr. Mehmet Emin TEKİN, Selçuk Üniv. Vet. Fak. Konya, Türkiye.
Prof. Dr. Ender YARSAN, Ankara Üniv. Vet. Fak. Ankara, Türkiye.
Prof. Dr. Halis YERLİKAYA, Fırat Üniv. Vet. Fak. Elazığ, Türkiye.
Prof. Dr. Murat YILDIRIM, Kırıkkale Üniv. Vet. Fak. Kırıkkale, Türkiye.

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi
2019 Yılı 8. Cilt 2. Sayı Hakem Listesi (alfabetik sıra)
The Referees List of This Issue (in alphabetical order)

Prof. Dr. Ahmet GÖKÇEN	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ali HAYAT	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Cengiz CEYLAN	Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Faruk BOZKAYA	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hakan SALCI	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Hikmet ÜN	Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. İlker ÇAMKERTEN	Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Mehtap Gül ALTAŞ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Muammer TİLKİ	Karadeniz Teknik Üniversitesi Maçka Meslek Yüksekokulu
Prof. Dr. Muhammed Enes ALTUĞ	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Murat YILDIRIM	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Mustafa GARİP	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Murat KARAHAN	Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Oktay KESKİN	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Osman Yaşar TEL	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Özkan ASLANTAŞ	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Süleyman ALEMDAR	Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Şükrü Hakan ATALGIN	Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ülkü Gülcihan ŞİMŞEK	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Yakup YILDIRIM	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Aydın ALAN	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Barış Atalay USLU	Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Berrin ŞENTÜRK	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Cafer Tayer İŞLER	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Cemil KÜREKÇİ	Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Çiğdem ÇEBİ ŞEN	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Ertuğrul KANKAYA	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Hüsamettin EKİCİ	Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. İbrahim YURDAKUL	Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. İlker ARICAN	Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Loğman ASLAN	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Mehmet SARI	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Doç. Dr. Mustafa YİPEL	Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. M. Orhun DAYAN	Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Neval Berrin ARSERİM	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Osman AYGÜN	Fırat Üniversitesi Keban Meslek Yüksek Okulu
Doç. Dr. Oktay KAPLAN	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Serap KILIÇ ALTUN	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Sevil ERDENLİĞ GÜRBİLEK	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Tahir BAYRIL	Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Tuncay TUFAN	Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Yalçın AKBULUT	Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi
Doç. Dr. Zafer DOĞU	Harran Üniversitesi Bozova Meslek Yüksekokulu
Dr. Öğr. Ü. Aydın ALAN	Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Aydın DAŞ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Cevat SİPAHİ	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Durhasan MUNDAN	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Dr. Öğr. Ü. Güzin ÇAMKERTEN	Aksaray Üniversitesi Aksaray Teknik Bilimler MYO
Dr. Öğr. Ü. Hikmet DİNÇ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Mehmet Saltuk ARIKAN	Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Muhammed Yaşar DÖRTBUDAK	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Mukadderat GÖKMEN	Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Nilgün PAKSOY	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Osman KARABULUT	Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Osman YILMAZ	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Saadet BELHAN	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Sedat ÇETİN	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Semra GÜRBÜZ	Mardin Artuklu Üniversitesi
Dr. Öğr. Ü. Ünal YAVUZ	Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Yasin DEMİRASLAN	Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Dr. Öğr. Ü. Zeynep KARAPINAR	Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi

İçindekiler / Contents

<u>Araştırma Makaleleri / Research Articles</u>	<u>Sayfa/Page</u>
1. Orta Karadeniz Bölgesinde Faaliyet Gösteren Kırmızı Et Üreticileri Birliğine Bağlı Besi Sığırı İşletmelerinin Mevcut Durumları ve Sorunlarına Çözüm Önerileri Current Situations and Recommendations for the Problems of the Red Meat Producers Association in the Middle Black Sea Region Berrin ŞENTÜRK	124-127
2. Şanlıurfa İlinde Satışa Sunulan Kıymalarda Premi®Test ile Antibiyotik İlaç Kalıntılarının Tespiti Detection of Antibiotic Drug Residues with Premi®Test in Sold Meats in Şanlıurfa Province Mehmet Emin AYDEMİR, Serap KILIÇ ALTUN, Hisamettin DURMAZ	128-131
3. Morphological Investigation of the Ganglia Celiaca, Ganglion Mesentericum Craniale and Ganglia Aorticorenalia in the New Zealand Rabbit (<i>Oryctolagus Cuniculus L.</i>) Yeni Zelanda Tavşanında (<i>Oryctolagus Cuniculus L.</i>) Ganglia Celiaca, Ganglion Mesentericum Craniale ve Ganglia Aorticorenalia'nın Morfolojik İncelenmesi Ayşe HALIGUR, Omer Gurkan DILEK	132-138
4. Elazığ'da Satılan Hellim Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi Microbiological and Chemical Quality of Halloumi Cheese Sold in ELAZIG Gökhan Kürşad İNCİLİ, Selçuk ALAN, Muhsin MUTLU, Mehmet Emin AYDEMİR, Gülsüm ÖKSÜZTEPE	139-146
5. Türkiye'de Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Mastitis Nedeniyle Oluşan Finansal Kayıpların Tahmin Edilmesi Estimation the Financial Losses Due to Mastitis in Turkish Dairy Enterprises Savaş SARIÖZKAN	147-151
6. The Relationship between Neonatal Lamb Mortality and Toxoplasmosis Neonetal Kuzu Ölümleriye Toxoplasmosis İlişkisi Mehmet ACIOZ, Faruk BOZKAYA, Cahit BABUR	152-155
7. Farklı Seviyelerde Pamuk Tohumu Küşpesi ve Arpa İlave Edilerek Hazırlanan Mısır Silajlarının Kalitelerinin Belirlenmesi Assessing The Quality of Corn Silage Prepared by Adding Different Levels of Coton Meal and Barley Mehmet AVCI, Nihat DENEK, Besime DOĞAN DAŞ, Sadık Serken AYDIN, Mehmet SAVRUNLU	156-161
8. Clinical Toxoplasmosis in Cats: A Cohort Study Kedilerde Klinik Toksoplazmoz: Bir Kohort Araştırması Sinem ULGEN, Alev AKDOĞAN KAYMAZ, Alper BAYRAKAL, Mustafa ASLAN, Lora KOENHEMSI, Utku BAKIREL	162-167
9. Kızıl Tilkiilerde (<i>Vulpes vulpes</i>) Arteria Celiaca ve Dalları Üzerinde Bir Çalışma A Study on Arteria Celiaca and Branches in Red Foxes (<i>Vulpes vulpes</i>) Gülseren Kırbas DOĞAN, Semine DALGA, Yalçın AKBULUT, Kadir ASLAN	168-172
10. Development of Selective Enrichment Medium for Clinical Isolates of <i>Vibrio vulnificus</i> Based upon Virulence Correlating Genes <i>Vibrio vulnificus</i> Klinik İzolatlarının Virülens Genlerine Dayalı Olarak Selektif Zenginleştirme Ortamının Geliştirilmesi Sedat CAM, Robin BRINKMEYER	173-179
11. Aydın Yöresindeki Sığırlarda Mavidil Enfeksiyonunun (<i>BTV serotip 4, 9 ve 16</i>) Serolojik Araştırılması Serological Investigation of Bluetongue Infection (BTV type 4, 9 and 16) in Cattle in Aydın Province in Turkey İrfan ÖZGÜNLÜK	180-185
12. Natural Formation and Pathological Effects of <i>Branchiomyces</i> Species in Farm-grown African Catfish (<i>Clarias gariepinus</i>) in Ilorin Metropolis Ilorin Metropolünde <i>Branchiomyces</i> Türlerinin Çiftlikte Yetiştirilen Afrika Yayın Balıklarında (<i>Clarias gariepinus</i>) Doğal Oluşumu ve Patolojik Etkileri İbrahim ADESHINA, Phebe Omolara AMOKA, Lateef Oloyede TIAMIYU, Musa Idi-ogede ABUBAKAR, Ojo ADESANMI	186-190
13. Dimetil Benzantrazen Uygulanan Ratlarda Tunceli Dağ Sarımsağı (<i>Allium tuncelianum</i>) ve Vitamin E'nin Bağırsak Dokusundaki Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkisi The Effect of Tunceli Mountain Garlic (<i>Allium tuncelianum</i>) and Vitamin E on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities in the Intestinal Tissue of Dimethyl Benzanthracene-Administered Rats Kasım Takım, Türkan Kutlu	191-197

14. Investigation of Apoptotic Effects of *Hypericum perforatum* Extract on Breast Cancer Cell Line
Meme Kanseri Hücre Hattında *Hypericum perforatum* Ekstresinin Apoptotik Etkilerinin Araştırılması
Harun ALP, Hidayet TUTUN, Halil Mahir KAPLAN, Ergin ŞINGIRIK, Levent ALTINTAS 198-202
15. Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) Rasyonuna Vitamin E (Alfa-Tokoferol Asetat)
Katkısının Bazı Spermatolojik Parametreler ve Malondialdehid Düzeyine Etkisi
The Effect of Vitamin E (Alpha-Tocopherol Acetate) Supplements to Nile Tilapia (*Oreochromis
niloticus* Linnaeus, 1758) Ration on Some Spermatological Parameters and Malondialdehyde Level
Şeyma ÖZER KAYA, Seyfettin GÜR, Özden BARIM ÖZ 203-207
16. Three-Dimensional Modelling and Morphometric Analysis of the Vertebral Column in Gazelles
(*Gazella subgutturosa*) by using Computer Tomographic Images*
Ceylanlarda (*Gazella subgutturosa*) Bilgisayarlı Tomografi Görüntülerini Kullanarak Columna
Vertebralis'in Üç Boyutlu Modellemesi ve Morfometrik Analizi
Bestami YILMAZ, İsmail DEMIRCIOĞLU 208-213
17. Yeşilbaş Ördeklerde (*Anas platyrhynchos*) Glandula Uropygialis'in Makroanatomik ve Histolojik
Özellikleri
Macroanatomical and Histological Features of Uropygial Gland in Mallard Ducks
(*Anas platyrhynchos*)
Bestami YILMAZ, Raşan YILMAZ 214-220
18. Şanlıurfa'da Safkan Arap Atlarında *Borrelia burgdorferi* Seropozitifliğinin Belirlenmesi*
Determination of *Borrelia Burgdorferi* Seropositivity in Arabian Thoroughbred Horses in Şanlıurfa
Ömer DEMİR, Oktay KESKİN 221-224
19. Ratlarda Skrotal Ekstrakutan ve Ensizyonel Subkutan Ligatür Uygulamasının ve Etkilerinin
Değerlendirilmesi
Evaluation of Scrotal Extracutaneous and Incisional Subcutaneous Ligature Application and Its Effects
in Rats
Cafer Tayer İŞLER, Ahmet UYAR, Tuğba GÖKALP BOZAN 225-231
20. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniğine Getirilen Hastaların Değerlendirilmesi: 1742
olgu (2014-2017)
Evaluation of patients referred to the surgery clinic of Harran University Veterinary Faculty: 1742
Cases (2014-2017)
Ali HAYAT, Ünal YAVUZ, Kerem YENER 232-235
21. The Effects of Drinking Water Treated with Energized Oxygen on Fattening Performance in Beef
Cattle
Enerjilendirilmiş Oksijen ile Muamele Edilmiş İçme Suyunun Besi Danalarında
Performans Üzerine Etkisi
Volkan KONAC, Aykut Asım AKBAS, Mustafa SAATCI 236-242
- Olgu Sunumu/Case Report**
22. Penis Prolapse in a Red-Eared Slider (*Trachemys Scripta Elegans*)
Kırmızı Yanaklı Su Kaplumbağasında (*Trachemys Scripta Elegans*) Penis Prolapsusu
Rahime YAYGINGUL, Busra KIBAR, İbrahim SUNER, Sila SARI 243-245
23. Simental Irkı Bir Buzağıda Atresia Ani ve Rektouretral Fistül Olgusu
A Case of Atresia Ani and Rectourethral Fistula in a Simmental Calf
Ali Said DURMUŞ, Eren POLAT 246-248

Orta Karadeniz Bölgesinde Faaliyet Gösteren Kırmızı Et Üreticileri Birliğine Bağlı Besi Sığırı İşletmelerinin Mevcut Durumları ve Sorunlarına Çözüm Önerileri

Berrin ŞENTÜRK^{1,a,*}

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvancılık Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye
^aORCID: 0000-0002-0455-9341

Geliş Tarihi: 06.11.2018

Kabul Tarihi: 21.10.2019

Özet: Bu çalışmada Orta Karadeniz Bölgesinde faaliyet gösteren Kırmızı Et Üreticileri Birliği üyelerinin hayvansal üretimi rasyonel koşullarda sürdürebilme olanakları, üretim potansiyelini kullanma düzeyi ve üretim koşulları durum analiz yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmada birlik üyelerinin demografik özellikleri, işletme kapasiteleri ve kapasite kullanım oranları, ithalatın üretim sürecine etkileri konusundaki görüşleri ve üreticinin temel sorunları, orta ve büyük ölçekli 30 işletmede yürütülen anket çalışması ile değerlendirilmiştir. Üreticinin %60'ının ilköğretim düzeyinde eğitilmiş olduğu bildirilen çalışmada bilginin temin kaynağı %50 oranında veteriner hekimler olarak belirlenmiştir. Yetiştiriciler, ihtiyaç duydukları teknik ve ekonomik bilginin edinilmesinde Kırmızı Et Üreticileri Birliği'ni sırasıyla %87 ve %93 oranda yetersiz bulmuştur. İşletme kapasitesinin 165.77 baş/dönem olarak belirlenmesine karşın, fiili kapasiteleri 91.13 baş/dönem olarak tespit edilmiştir. Çalışmada işletmelerin üretim potansiyelini kullanmada sorunlar yaşadığı, üretimde başta canlı hayvan materyali olmak üzere girdi temini konusunda önemli sıkıntıları olduğu ve ithalat sürecinden olumsuz yönde etkilendiği, üretimin sürdürülebilirliği açısından üreticinin önemli sorunları (%53) ciddi endişelere sahip olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak çalışma kırmızı et üreticilerinin önemli sorunlarla karşı karşıya olduğunu, acil önlemler alınmazsa sürdürülebilir bir hayvancılık yapmanın olanaksız hale geleceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: İşletme kapasitesi, ithalat, Kırmızı et, Teknik ve ekonomik destek, Üretici birliği.

Current Situations and Recommendations for the Problems of the Red Meat Producers Association in the Middle Black Sea Region

Abstract: In this study, animal production abilities in rational conditions, production potential utilization level and production conditions of the members of the Red Meat Producers Association in the Middle Black Sea Region were investigated with the status analysis method. In this study, the demographic characteristics of the members, their capacity and capacity utilization rates, their views on the effects of imports on the production process and the main problems of the producer were evaluated with a survey conducted in 30 enterprises of medium and large scales. In this study 60% of the producer was found to be primary school level and 50% of these producers obtained information from veterinarians. The breeders found the producer union to be 87% and 93% unsatisfactory in obtaining information on technical and economic problems. Although the operational capacity was 165.77 head/period, it was determined that the actual capacity of the enterprises could not be used in the study where the actual capacity was determined as 91.13 head/period. It was found that the breeders had substantial difficulties in the production of inputs, especially in livestock material, and were negatively affected by the import process. A considerable portion of the producers (53%) had serious concerns regarding the sustainability of production. As a result, the study showed that red meat producers faced significant problems, and that if an emergency measure is not taken, it would be impossible to make a sustainable livestock breeding.

Keywords: Farm capacity, Import, Producers association, Red meat, Technical and economical support.

Giriş

Türkiye'de 2017 yılı verilerine göre 15.943.586 baş sığır bulunmaktadır. Bu sayının 5.969.047 başını sağmal sığırlar oluşturmaktadır. Aynı yıl bu toplam sığır sayısının 3.602.115 başı kesilmiş ve 987.482 ton sığır eti üretilmiştir. Toplam sığır sayısı 2007 ile 2017 yılı arasında %45 oranında, kesilen sığır sayısı %80 oranında artış göstermiştir (Anonim, 2018). Sektörde kesilen sığır sayısındaki artış oranının, sığır

sayısı artış oranı üzerinde olması, ithalat (besi sığırı ve karkas ithalatı) ve üreticinin elindeki besi olgunluğuna ulaşmamış ya da dışı hayvanlarının bölümünü kesime göndermesi ile açıklanabilmektedir. Bu durum sektörde bir sorun olduğunu ve araştırılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Bu bağlamda 2010 yılından sonra başlayan ithalat süreci yapılan bilimsel araştırmalarda değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda genel olarak ithalat kararlarına yol açan süreçler, üreticiye ve fiyat mekanizmasına etkileri (Aydın ve ark, 2010; Aydın ve ark., 2011; Çiçek ve Doğan, 2018) araştırılmış ve sonuçları değerlendirilmiştir. Bu çalışmaların ortak kanaati ithalat politikalarının sektördeki sorunları çözemeyeceği yönündedir.

Türkiye'nin kırmızı et üretiminde sürdürülebilirliğin sağlanması, sektörde yer alan paydaşların içinde buldukları durumunun değerlendirilmesini gerekli kılmaktadır. Bu amaçla hayvancılık işletmelerinin değerlendirilmesi ve politika yapıcılarının bu beklentileri karşılanması yönünde tedbirlerin uygulamaya geçirilmesi gerekmektedir. Bu çalışma Orta Karadeniz Bölgesinde kırmızı et üretim sürecinde yer alan üreticiler ve üretim sürecinin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Metot

Bu çalışmanın materyalini Orta Karadeniz Bölgesinde yer alan Samsun ve Amasya illerinde faaliyet gösteren Kırmızı Et Üreticileri Birliği üyeleri ile yapılan anket çalışması verileri oluşturmaktadır. Çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için birliğin merkez teşkilatı ile iletişim sağlanarak çalışma konusunda bilgi verilmiş ve birlik başkanlarının konu hakkında bilgilendirilmesi ve yardımlarının sağlanması istenmiştir. Çalışma ankete gönüllü olarak katılımı kabul eden 30 birlik üyesi ile 30 baş ve üzeri kapasiteye sahip besi sığırları işletmelerinde gerçekleştirilmiştir. Birlik üyelerinin önemli bölümünün karma işletme yapısına sahip küçük ölçekli işletme olması sebebiyle çalışmada bu üyeler kapsam dışında tutularak, elde edilecek verilerin güvenilirliği açısından çalışmanın besi amaçlı üretim sağlayan yetiştiricilerle yapılması sağlanmıştır. Birlik üyelerine toplam 9 soru sorulmuştur. Sorular; yaş, eğitim, üreticinin bilgi kaynağı, işletme kapasitesi, hayvan mevcudu, üretici birliğinin üyelerine teknik ve ekonomik destekleri, sorunlar ve çözümler şeklinde teknik konuları içermektedir. Bununla beraber, üreticinin genel profilinin belirlenmesi sektörün geleceği açısından son derece önemli görüldüğünden bu soruların yanı sıra üyelerin demografik özelliklerinin tespitine yönelik sorular da kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan durum analizi yöntemi, verilerin toplanması ve sonuçların değerlendirilmesinde ihtiyaç duyulan bir yöntem olup, doğru stratejinin seçilmesi ile işletme performanslarının güçlü yanları ve buldukları şartları belirlemek için geçmiş ve gelecek verilerinin toplandığı bir yöntemdir (Clarke ve ark, 2018). Çalışmada verilerin analizinde SPSS 20 paket

programı (SPSS, 2013) ve Microsoft Excel Programı kullanılmıştır. Analizlerde tanımlayıcı istatistikler ve pasta grafiklerine yer verilmiştir.

Bulgular

Çalışmada işletme sahiplerinin ortalama yaşı 52, üreticilik yapma süreleri minimum 8 yıl ve ortalama 32 yıl olarak belirlenmiştir. Birlik üyelerinin eğitim durumuna ilişkin veriler Tablo 1.'de sunulmuştur.

Tablo 1. Birlik üyelerinin eğitim düzeyi.

Eğitim	Sıklık	Yüzde
İlköğretim	18	60.0
Lise	6	20.0
Yüksekokul	3	10.0
Üniversite	3	10.0
Toplam	30	100.0

Sığır besiciliği yapılan işletmelerde belirli bir dönemdeki üretim düzeyini ifade eden kapasite bu kapasitenin ne kadarının gerçekleştirildiğini ifade eden düzeye ilişkin veriler ise Tablo 2'de yer almaktadır.

Tablo 2: Birlik üyelerinin işletme kapasitesi ve fiili kapasitesi.

	N	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart sapma
İşletme kapasitesi/dönem	30	30	500	165.77	104.623
Hayvan mevcudu/dönem	30	5	300	91.13	69.951

Çalışmada birlik üyelerinin 2010 yılından beri uygulanan ithalat politikalarının işlerine etkisini değerlendirmeleri istenmiş, besi materyali ve kasaplık canlı hayvan ithalatının işlerini etkileme durumu sorulmuştur. Bu soruya yetiştiricinin verdiği cevaplar Tablo 3'te yer almaktadır.

Tablo 3. İthalat sürecinin yapılan işe etkisi.

İthalat sürecinde	Sıklık	Yüzde
İşini güvende buluyor	10	33.3
İşinde endişesi artıyor	16	53.4
İşini bırakmayı düşünüyor	4	13.3
Toplam	30	100.0

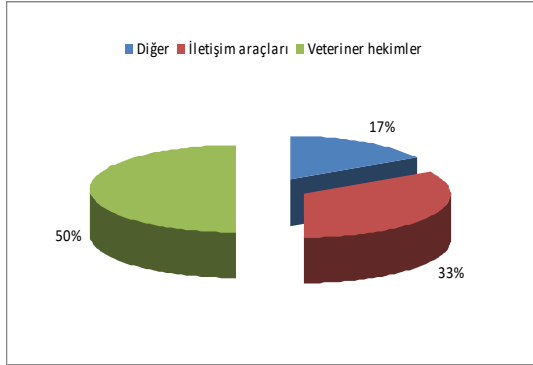
Birlik üyelerinin yaptıkları işlere ilişkin ihtiyaç duydukları teknik ve ekonomik bilginin bağlı oldukları Birlik tarafından karşılanıp karşılanmadığı yönündeki soruya ise yetiştiricilerin verdiği yanıtlar Tablo 4'te yer almaktadır.

Birlik üyelerinden ihtiyaç duydukları bilgiyi sağladıkları kaynağı belirlemeleri istenmiştir. Bilgi kaynağı ve iletişim araçları (İnternet, Radyo ve Televizyon, Kitap, Dergi, Broşür), Veteriner Hekimler

Tablo 4: Birliklerin teknik ve ekonomik destek sağlaması.

Teknik	Sıklık	Yüzde	Ekonomik	Sıklık	Yüzde
Başarılı	4	13.3	Başarılı	2	7.0
Başarısız	26	86.7	Başarısız	28	93.0
Toplam	30	100.0	Total	30	100.0

(Kamu ve Özel) ve diğer (Birlik, Ziraat Odası, Kooperatif) olarak üç grupta değerlendirme istenen bilgi kaynağı sorusuna verilen yanıtlar Şekil 1’de yer almaktadır.

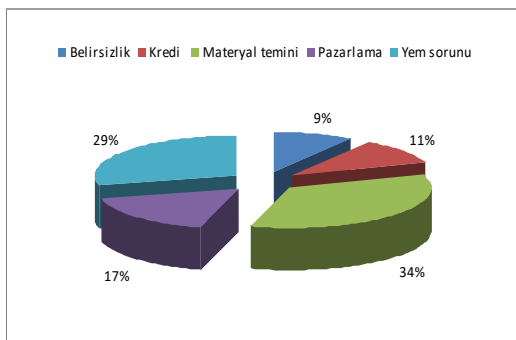
**Şekil 1.** Birlik üyelerinin bilgi temin kaynağı.

Çalışmada kırmızı ette yaşanan fiyat artışları için dört temel neden belirlenerek üretici olarak bu nedenlerden hangisine en yakın oldukları sorusuna yetiştiricinin verdiği yanıtlar Tablo 5’te sunulmuştur.

Tablo 5. Kırmızı et fiyatlarındaki artışın kaynağı.

Artış nedeni	Frekans	Yüzde
Besi Materyali	22	73.3
Yem	5	16.7
İthalat	2	6.7
Diğer	1	3.3
Toplam	30	100.0

Çalışmada yetiştiriciye sorulan, kırmızı et üretim sürecinde yaşanan sorunlardan hangisinin çözümü sektörde sorunların ivedilikle çözümüne katkı sağlar sorusuna verilen yanıtların frekans dağılımına göre sıralaması Şekil 2’de sunulmuştur.

**Şekil 2.** Üreticinin temel sorun sıralaması.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada Birlik üyelerinin ortalama yaşı 52 olarak belirlenmiştir. Türkiye’de ithalat sürecinin sığır besicileri üzerine etkilerinin araştırıldığı Kars, Erzurum, Ankara illerinde yapılan çalışmada besicilerin ortalama yaşı 43.4 olarak belirlenmiştir (Aydın ve ark., 2010). Hayvancılık faaliyet alanında küçük yaşlarda işe başlandığı dikkate alınır, tespit edilen yaş ortalamalarının 43.4’lerden 52’ye doğru yükselme trendinde olması bu alana genç kuşakların kazandırılması gerektiğini düşündürmektedir.

Türkiye’de hayvansal üretim, çoğunluğunu küçük ölçekli işletmelerin oluşturduğu geleneksel bir yapıda sürdürülmektedir (Aral ve Cevger, 2000). Hayvancılıkta besi ve süt sığırcılığı yapılan işletmelerde genel olarak ilköğretim düzeyinde eğitim almış yetiştirici oranı yapılan farklı çalışmalarda %58-%75 arasında bildirilmiştir (Köknaoğlu ve ark., 2017; Önal ve Özder, 2008; Soyak ve ark., 2007; Yılmaz ve ark., 2014). Birlik üyesi üreticilerin eğitim ile ilgili anket sorularının değerlendirildiği bu çalışmada üreticinin %60’ının ilköğretim düzeyinde eğitilmiş olarak tespit edilmesi gerçeği, bu geleneksel yapının orta ve büyük ölçekli işletmelerde de sürdürüldüğünü ve üretimin bu yapıda sürmesinin sektörde değişim hızının düşük olmasına yol açtığını düşündürmektedir.

Çalışmada besicinin üretimle ilgili bilgi kaynakları arasında veteriner hekimler (%50) ilk sırada bildirilmiştir. İletişim araçları kullanımının sınırlılığı ve diğer olarak gruplanan Birlik, Ziraat Odası ve Kooperatif gibi örgütlerin üreticinin güncel bilgi kaynakları arasındaki yerinin oransal olarak düşük olması üreticinin bilinçli bir üretim modeli sağlamaya istekli olmadığını bu durumunsa sektörde dışa kapalı bir yapının sürmesine yol açtığını ifade edebiliriz. Bu çalışmada üreticinin bilgi kaynakları arasında iletişim araçları olarak ifade edilen TV ve Radyo Erzurum, Kars ve Ankara illeri için yapılan çalışmada ilk sırada yer almaktadır (Aydın ve ark., 2010). Ancak farklı il verilerinin detay bilgisi bulunmaması sebebiyle bu sıralamanın illere göre değişip değişmediği değerlendirilememiştir. Bu çalışma Orta Karadeniz Bölgesi besicisinin eğitim gereksiniminin veteriner hekimler desteğinde güçlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada kırmızı et üreticileri birliği üyeleri Birliğin katkısını teknik bilgi açısından %87 oranında ve ekonomik bilgi açısından %93 oranında yetersiz olarak değerlendirmişlerdir. Bu durum birlik faaliyetlerinde etkinliğin artırılması ihtiyacını ortaya koymaktadır. Diğer yandan Birliklerin yürüttükleri faaliyetlere üyelerin hangi oranda gönüllü olarak katıldığının belirlenmesine yönelik çalışmalara da ihtiyaç vardır.

Erzurum ve Kars illerinde entansif sığır besi işletmelerinde yapılan bir araştırmada, işletmelerde kapasite kullanım oranı sırasıyla %59-65 arasında bildirilmiş ve kapasite kullanım oranı arttıkça hayvan başına düşen bazı sabit masrafların azaldığı bildirilmiştir (Aydın, 2011). Yapılan çalışmada kırmızı et üreticilerinin ortalama ölçek büyüklüğü 165.77 baş olup, fiili kapasiteleri 1 üretim döneminde ortalama 91.13 baş olarak belirlenmiştir. İşletmelerin ortalama kapasite kullanım oranı %55'tir. Kapasite kullanım oranlarının düşüklüğü üreticinin elde ettiği kazancın azalmasına ve kapasite oranının düşmesine yol açacaktır.

Erzurum, Kars, Ankara illerinde 2010 yılında yapılan çalışmada ithalattan işlerinin etkilemeyeceğini düşünenlerin oranını %12 olarak bildirilirken (Aydın ve ark., 2010) yapılan çalışmada Birlik üyelerinin %53'ü ithalat etkisiyle işinin geleceğinden endişe duyduğunu bildirmişlerdir.

Kırmızı et üreticilerine, 'sektöre ilişkin hangi sorunun ivedilikle çözümü sektör sorunlarının çözümüne daha fazla katkı sağlar' sorusuna alınan yanıtlar frekans dağılımları itibariyle sıralandığında besi materyali temini, yem sorunu çözümü, pazarlama, kredi ve belirsizlik olarak sıralanmıştır. Sorunun çözümüne yönelik politika uygulamaları şu şekilde sıralanabilir.

-Damızlık süt sığırcılığının desteklenmesi ve süt sığırlarının kesiminin önüne geçen uygulamalar,

-Yem ekim alanlarının artırılması ve meraların iyileştirilmesi,

-Besi materyalinin satışında üreticinin komisyonunun insafına bırakılmaması ve pazarlama imkânlarının artırılması,

-Kredi olanaklarını birkaç banka tekeline bırakmayacak yapıların oluşturulması ve yetiştiricinin üretimde yaşadığı darboğazlarda gerekli tedbirlerin alınarak üretim sürecinin kesintiye uğramasını engelleyecek mekanizmaların kurulması, -ithalat politikaları gibi belirsizliğin derinleşmesine yol açtığı düşünülen durumların ortadan kaldırılması şeklinde sıralanabilir.

Birlik üyelerinin yaş ortalaması (52 yaş) ve ortalama faaliyet süresi dikkate alındığında (32 yıl), sektöre yeni katılımlar olmadığı, buna yönelik politik tedbirler geliştirilmezse ilerleyen süreçlerde önemli sorunlar yaşanacağı, eğitim düzeyinin önemli bir bölümünün (%60) ilköğretimle sınırlı kaldığı, kendini geliştirmede yararlandığı kaynakların önemli ölçüde sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Birliğin teknik ve ekonomik konulardaki katkısının yetersiz olduğu yönündeki üretici kanaatini değiştirecek bir yapılanmaya gidilmesi gerektiği düşünülmektedir. Çalışmada yetiştirici tarafından bilgi temin kaynağı %50 oranında veteriner hekimler olarak gösterilmiştir.

Bu durum uygulamadaki danışmanlık sisteminin yetiştiricinin bu talebi doğrultusunda eniden gözden geçirilmesi gereğini ortaya koymaktadır. Düşük kapasite ile faaliyet gösteren işletmelerin alınan politik tedbirlerle girdi temini, finansman olanaklarının geliştirilmesi, pazar güvencesi ile üretim kapasitesini arttıracığı ve ithal konusunun sektörde sonlandırılması ile önündeki belirsizliklerin önemli oranda aşılabacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Kaynaklar

- Anonim, 2018: TÜİK, <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=101&locale=tr>, Erişim tarihi; 06.11.2018.
- Aral S, Cevger Y, 2000: Türkiye'de Cumhuriyetten günümüze izlenen hayvancılık politikaları. Türkiye 2000 Hayvancılık Kongresi. 31 Mart-2 Nisan 2000, Ankara, Sayfa 35-68.
- Aydın E, Aral Y, Can MF, Cevger Y, Sakarya E, İşbilir S, 2011: Türkiye'de son 25 yılda kırmızı et fiyatlarındaki değişmeler ve ithalat kararlarının etkilerinin analizi. *Vet Hekim Der Derg*, 82, 3-13.
- Aydın E, Can MF, Aral Y, Cevger Y, Sakarya E, 2010: Türkiye'de canlı hayvan ve kırmızı et ithalatı kararlarının sığır besicileri üzerine etkileri. *Vet Hekim Der Derg*, 81, 51-57.
- Aydın E, 2011: Kars ve Erzurum illeri sığır besi işletmelerinin ekonomik analizi, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara.
- Clarke AE, Friese C, Washburn R, 2018: Sitational Analysis, Grounded Theory After Interpretive Turn, 2nd ed., SAGE Publications, London, England.
- Çiçek H, Doğan İ, 2018: Türkiye'de canlı sığır ve sığır eti ithalatındaki gelişmeler ve üretici fiyatlarının trend modelleri ile incelenmesi. *Kocatepe Vet Derg*, 11, 1-10.
- Köknaoroğlu H, Demircan V, Yılmaz H, Dernek Z, 2017: Besi sığırcılığı üretim faaliyetinde üreticilerin eğitim düzeylerinin besi performansı ve karlılığa etkisi, *SDÜ Ziraat Fak Derg*, 12, 75-84.
- Önal AR, Özder, M, 2008: Edirne ili Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği'ne üye işletmelerin yapısal özellikleri, *Tekirdağ Ziraat Fak Derg*, 5, 197-203.
- Soyak A, Soysal Mİ, Gürcan EK, 2007: Tekirdağ ili süt sığırcılığı işletmelerinin yapısal özellikleri ve bu işletmelerdeki Siyah Alaca süt sığırlarının çeşitli morfolojik özellikleri üzerine bir araştırma. *Tekirdağ Ziraat Fak Derg*, 4, 297-305.
- SPSS, 2013: Inc. Statistical package for the social sciences (SPSS/PC+). Chicago, IL, USA.
- Yılmaz H, Gül M, Parlakay O, Akkoyun S, Vurarak Y, Kılıçalp M, Hızlı H, 2014: Doğu Akdeniz Bölgesinde süt sığırcılığı işletmelerinin sosyo-ekonomik yapısı, sorunları ve çözüm önerileri. Proje Sonuç Raporu-TAGEM/TEAD/12/TE/000/009, Adana.

*Yazışma Adresi: Berrin ŞENTÜRK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvancılık Ekonomisi ve İşletmeciliği Anabilim Dalı, 55139 Kurupelit, Samsun, Türkiye.
e-mail: bsenturk@omu.edu.tr

Şanlıurfa İlinde Satışa Sunulan Kıymalarda Premi®Test ile Antibiyotik İlaç Kalıntılarının Tespiti**

Mehmet Emin AYDEMİR^{1,a,*}, Serap KILIÇ ALTUN^{1,b}, Hisamettin DURMAZ^{1,c}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye
^aORCID: 0000-0002-5849-1741, ^bORCID: 0000-0002-4203-2508, ^cORCID: 0000-0002-7761-9843

Geliş Tarihi: 14.03.2019

Kabul Tarihi: 24.10.2019

Özet: Hayvanlarda antibiyotik ilaçların uygun olmayan şekilde kullanılması, antibiyotik dirençli mikroorganizmaların gelişimini ve yayılmasını kolaylaştırabilir ve ayrıca hayvansal gıdalarda antibiyotik kalıntı oluşumunu hızlandırabilir. Bu çalışmanın amacı, Şanlıurfa ilinde kasaplarda satışa sunulan sığır ve koyun kıymalarında antibiyotik ilaç kalıntılarının varlığını tespit ederek halk sağlığı açısından risk oluşturup oluşturmadığını değerlendirmektir. Bu çalışma kapsamında farklı zaman aralıklarında kasaplardan rastgele 20 sığır, 20 koyun olmak üzere toplam 40 kıyma örneği Premi®Test ile antibiyotik ilaç kalıntılarının tespiti amacıyla analiz edilmiştir. Sığır kıyma örneklerinin 10 adedinde (%50) pozitif, koyun kıyma örneklerinin 12 adedinde (%60) pozitif sonuç görülmüştür. Çalışma bulgularına göre Şanlıurfa ilinde kasaplarda satışa sunulan sığır ve koyun kıymalarında antibiyotik ilaç kalıntısının olduğu tespit edilmiş olup bu kıymaların tüketilmesinin halk sağlığı açısından risk oluşturabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Şanlıurfa, Kıyma, Antibiyotik ilaç kalıntısı.

Detection of Antibiotic Drug Residues with Premi®Test in Sold Meats in Şanlıurfa Province

Abstract: Improper use of antibiotic drugs in animals may facilitate the development and diffusion of antibiotic resistant organisms and may also accelerate the formation of antibiotic residues in animal products. The aim of this study was to evaluate the presence of antibiotic drug residues in the beef and sheep minced meat that are offered for sale in the butcherries of Şanlıurfa and to determine whether they pose a risk for public health. Within the scope of this study, a total of 40 different minced meat samples (20 beef and 20 sheep) were collected from butcherries at different time intervals and antibiotic drug residues has been analyzed by Premi®Test. Positive results has been obtained in 10(50%) of the minced beef meat samples and 12 (60%) of the minced sheep meat samples. According to the findings of the study, it was found that there was of antibiotic drug residues in beef and sheep minced meat samples which were sold in butchers in Şanlıurfa province. It was concluded that consuming such minced meats would pose a risk to public health.

Keywords: Şanlıurfa, Minced meat, Antibiotic drug residues.

Giriş

Proteinler, dengeli beslenmede bulunması gereken önemli besin unsurlarıdır. Hayvansal kaynaklı gıdalar, içerdikleri eksojen aminoasitlerle sağlıklı diyet için elzem protein kaynaklarıdır. Kırmızı et yaklaşık olarak %16-22 oranında protein içerdiğinden, hayvansal kaynaklı protein içeren gıdaların en önemlilerinden sayılırlar (Tekgül, 2013).

Hayvansal kaynaklı gıdalar beslenmede önemli yer tuttuğundan, hayvanların verimini arttırmak, hayvansal gıdaların üretimini hızlandırmak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden biri de antibiyotik ilaç kullanımıdır. Çiftlik hayvanlarında mikrobiyal hastalıkların tedavisi ve profilaksisi, gelişiminin hızlandırılması, yemden yararlanmanın ve verimin artırılması amacıyla uygulanır (Yıldız, 2014). Antibiyotik ilaçların çiftlik hayvanlarına sağduyulu kullanımı, çiftlikteki mikrobiyal patojenlerin neden olduğu morbidite ve mortaliteyi azaltmasının yanı sıra, gıda zincirinde

insanlara ulaşabilecek zoonozların kontrolünde de yardımcı olur (Baynes ve ark., 2016). Öte yandan çiftlik hayvanlarına gereğinden fazla miktarda antibiyotik kullanımı, kullanılan antibiyotik formülasyonu, ilacın uygulanma dozu, ilaç uygulamasından sonra ilaç kalıntı arınma süresi dolmadan hayvanların kasaplık olarak kesilmesi, ruhsatsız ilaç kullanımı, veteriner hekimin tavsiye ettiği talimata göre ilacın kullanılmaması, antibiyogram yapılmadan sağaltım için rastgele kullanılan ilaçlar, ilaç kullanılan hayvanlarda ilacın vücuttan atılmasını yavaşlatan hastalık vb. durumların bulunması, et ve et ürünlerinde antibiyotik kalıntısına rastlanılmasına neden olan faktörlerdendir (Tekgül, 2013; Yüksek, 2001).

Hayvansal gıdalarda antibiyotik ilaç kalıntısına rastlanması insan sağlığı üzerine ve ülke ekonomisine olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Antibiyotik ilaç kalıntılarının insan sağlığı üzerine

olumsuz etkileri; alerji, şiddetli zehirlenmeler, ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişmesi, üremenin bozulması, dirençli suşların ortaya çıkması, ince ve kalın bağırsak bakteri topluluğunun değişmesi, teratojenik ve karsinojenik etkiler olarak sıralanabilir (Temamoğulları ve Sezai, 2010). Antibiyotik ilaç kalıntılarının ülke ekonomisi üzerine bir diğer etkisi de dirençli bakteri suşlarının oluşması ve bu suşlara karşı yeni antibiyotiklere ihtiyaç duyulmasıdır (Anonim, 2018).

Çiftlik hayvanlarında kullanılan antibiyotik etken maddelerinin beşerî antibiyotik etken maddeleri ile benzer olması, antibiyotik ilaçların gereksiz kullanımına bağlı olarak dirençli bakterilerin gelişmesine ve halk sağlığı açısından risklere sebep olmaktadır. Dirençli bakteriler antibiyotiklerin etkisini azaltmakta ve daha yüksek dozlarda antibiyotik ilaç kullanımına sebep olmaktadır. Ayrıca direnç genlerinin çiftlik hayvanlarından et ve et ürünleri ile insanlara nakli, ileride oluşabilecek enfeksiyonların tedavisinde çok ciddi bir kaygı oluşturmaktadır (Tollefson ve Karp, 2004). Halk sağlığını korumak için dirençli bakterilerin hayvanlardan insanlara geçmesinin kontrol edilmesi gerekmektedir (Van den Bogaard ve Stobberingh., 2000).

Bu çalışmada Şanlıurfa ilinde satışa sunulan koyun ve sığır kıyma örneklerinde antibiyotik ilaç kalıntılarının Premi®Test ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Şanlıurfa ilinde daha önce böyle bir çalışma yapılmadığından literatür bilgisine katkı sağlayacaktır.

Materyal ve Metot

Şanlıurfa ilinde bulunan ve perakende satış yapan kasaplardan rastgele, farklı zaman aralıklarında 20 adet sığır, 20 adet koyun kıyması 200 gr steril plastik poşetler ile laboratuvara getirilerek analize hazırlandı. Kıyma örneklerinde antibiyotik ilaç kalıntısının varlığının tespit edilmesi için yapılan analizlerde AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (Lisans no: 060.601) ve AFNOR (French Association for Normalisation) (no: DSM-28/1-06-06) onaylı olan Premi®Test kiti (R-Biopharm, Almanya) kullanıldı.

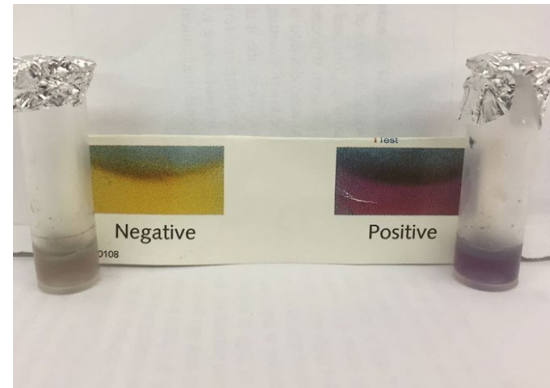
Premi®Test'in çalışma prensibi: Premi®Test çeşitli hayvansal gıda maddelerinde antibiyotik kalıntılarının tespiti için kullanılan mikrobiyal tarama testidir. Premi®Test termofilik bir bakteri olan ve birçok antibiyotik ve sülfür bileşiklerine karşı dirençsiz olan *Bacillus stearothermophilus* bakterisinin üremesini inhibe etme prensibine dayalı olarak çalışmaktadır. Standardize edilmiş sayıda spor, gerekli besinleri içeren agar ortamında gömülü olarak bulunmaktadır. Premi®Test ampülleri

64°C'ye kadar ısıtıldığında *Bacillus stearothermophilus* sporları çimlenir. Ortamda hiçbir inhibitör madde bulunmuyorsa çimlenmiş sporlar ürerler ve üreme esnasında asit üretirler. Bu durumda ortamda mordan sarıya doğru bir renk değişimi görünür. Antibiyotik bileşikler (β -laktamlar, Sefalosporinler, Makrolidler, Tetrasiklinler, Sülfonamidler, Aminoglikozitler, Kinolonlar, Amfenikoller) yeterli miktarda (tespit limitinin üzerinde) olduğunda sporlar çimlenemeyecek ve dolayısıyla herhangi bir renk değişimi olmayacaktır. Test kiti, maksimum kalıntı limitine eşdeğer bir tespit sınırına sahiptir ve bir inhibitör (antibiyotik kalıntı) varlığında *Bacillus stearothermophilus*'un büyümesinin inhibisyonu ile çalışır.

Premi®Test ile analiz yöntemi: Analiz yöntemi ve bulguların değerlendirilmesi üretici firmanın talimatlarına göre yapıldı (R-Biopharm Almanya). Bu amaçla gerekli sayıda Premi®Test ampülü makas yardımı ile kesildi. Yaklaşık 2 cm³ kıyma, cihaz presi yardımı ile preslenerek, 250 µl et suyu elde edildi. 100 µl et suyu, ampülün içerisindeki agar üzerine pipetlenip, 20 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı. Distile su ile iki defa yıkama yapılarak et suyu ortamdaki uzaklaştırılıp ampül folyo ile kapatıldı. Önceden 64°C'ye ısıtılmış inkübatöre ampüller yerleştirilerek 3 saat inkübasyona bırakıldı. Renk değişimine göre sonuçlar negatif veya pozitif olarak değerlendirildi.

Bulgular

Premi®Test ampülleri 3 saat inkübasyon süresinin sonunda ısıtıcı inkübatöründen çıkartıldığında sarı renk mevcutsa bakteri üremesi olduğunu, antibiyotik ilaç kalıntısının olmadığını gösterdiğinden negatif olarak değerlendirildi. Mor renk değişimi bakteri üremesi olmadığını, antibiyotik ilaç kalıntısının olduğunu gösterdiğinden pozitif olarak değerlendirildi (Şekil 1).



Analizler sonucunda sığır kıyma örneklerinin 10 adedi (%50) pozitif ve 10 adedi (%50) negatif olarak değerlendirildi. Koyun kıyma örneklerinin 12 adedi

(%60) pozitif, 8 adedi (%40) negatif olarak değerlendirildi (Tablo 1).

Tablo 1. Premi®Test sonucunda kıyma örneklerinde negatif ve pozitiflik düzeyleri.

Örnek	Pozitif	Negatif	Oran (%, Pozitif-Negatif)
Siğir Kıyması	10	10	50-50
Koyun Kıyması	12	8	60-40
Toplam	22	18	55-45

Tartışma ve Sonuç

Antibiyotik ilaçların çiftlik hayvanlarında kullanımından sonra ilaç kalıntı arınma süresine uyulmadığında, bu ilaç kalıntılarının miktar ve çeşidine bağlı olarak insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler yaratmakta ve kalıntının miktarına bağlı olarak halk sağlığı üzerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır. Hayvansal gıdalarda bulunan antibiyotik kalıntılarının halk sağlığı üzerinde olumsuz etkilerinden dolayı hayvansal dokularda kalıntı analizleri yapılması giderek önem kazanmaktadır. Hayvansal gıdalarda izin verilen antibiyotik kalıntı miktarlarının sınırlarının belirlenmesi amacıyla yapılan analizler gıda güvenliği ve halk sağlığı yönünden yapılan çalışmalara katkı sağlamaktadır (Oruç ve ark., 2007).

Dünya'da farklı gıdalarda antibiyotik kalıntılar ile ilgili yapılan birçok araştırma vardır ve bu araştırmalarda antibiyotik kalıntılarının belirlenmesi için birçok yöntem kullanılmıştır (Benito ve ark., 2009; Garcí'a ve ark., 2009; Khong ve ark., 2004; Weiss ve ark., 2007). Bu yöntemler; konvansiyonel antibiyotik testler, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (LC-UV ve LC-MS/MS), kapillar elektroforez (CE), ELISA ve Premi®Test olarak sıralanabilir (Yıbar ve Soyutemiz, 2013). Premi®Test ile hayvansal gıdalarda antibiyotik kalıntı belirlenmesi ile ilgili çalışmalar ülkemizde ve dünyada sınırlı sayıda (Njoga ve ark., 2018; Rakotoharinome ve ark., 2014; Dipeolu ve Alonge, 2002).

Njoga ve ark. (2018) tarafından Nijerya'nın Enugu eyaletinde mezbahalarda kesilen sığırlara ait böbrek, karaciğer ve kas dokuda Premi®Test ile antibiyotik kalıntılarının prevalansını belirlemek için yapmış oldukları bir çalışmada 165 örnekten 12 adedinin (%7.2) pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Rakotoharinome ve ark. (2014) tarafında Madagaskar'da kesilen domuzlarda Premi®Test tekniği ile antibiyotik kalıntılarının ulusal ve bölgesel yaygınlığını belirlemek için yapmış oldukları bir çalışmada toplam 280 örnekten 90 adedinin

(%32.14) pozitif olduğunu, 2011 yılında toplam 687 örnekten 270 adedinin (%39.3) pozitif olduğunu tespit etmişlerdir. Dipeolu ve Alonge (2002) tarafından Nijerya'da 180 siğir etinde yapılan bir araştırmada ise siğir etinin 29 (%16.1) adedinde streptomycin kalıntısı olduğu rapor edilmiştir. Sunulan bu çalışmada siğir kıymaları için elde edilen değer, Dipeolu ve Alonge tarafından bildirilen prevalans değerinden oldukça yüksektir.

Türkiye'de kırmızı etlerde Premi®Test kullanılarak antibiyotik kalıntılarının belirlenmesi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yukarıda bahsedilen ülkelerde kırmızı etlerde Premi®Test kullanılarak antibiyotik kalıntısının belirlenmesi için yapılan çalışmalarda da yapmış olduğumuz çalışmada olduğu gibi yüksek miktarda antibiyotik kalıntılara rastlanmıştır.

Şanlıurfa ilinde satılan kıymalarda antibiyotik ilaç kalıntılarının bu kadar yüksek çıkması; çiftçilerin eğitim seviyesinin düşüklüğü, ilaç prospektüs talimatlarını okumasını ve takip etmesini zorlaştırdığından dolayı ilacı rastgele kullanmaları, Şanlıurfa ilinde hükümet ve sivil toplum kuruluşu tarafından hayvan yetiştiricilerine antibiyotik ilaç kullanımı konusunda eğitimlerin verilmemesi, hayvanlarda kullanılan antibiyotik ilaçların reçetesiz bir şekilde satılmasına bağlı olarak bu ilaçların rastgele kullanılması, bunların yanı sıra Veteriner kliniklerinde çalıştırılan resmi olarak eğitilmemiş kişilerin ilacı hayvan sahibine verirken yanlış doz, yanlış uygulama yolları ve ilacın et ve sütte arınma süresi hakkında bilgi vermemesi ve hayvanların resmi Veteriner Hekim kontrolü dışında kesilmesi gibi sebeplerden ötürü olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak Şanlıurfa ilinde kasaplarda satılan kıymaların yüksek düzeyde antibiyotik kalıntı tespit edilmiştir. Antibiyotik ilaç kullanımı konusunda bilinç artırılarak ilaç yasal kalıntı süresi dolmadan önce hayvanların kesime gönderilmemesi, yüksek seviyede antibiyotik kalıntılarının önlemek için kesimhanelerde postmortem muayenede karkasların antibiyotik kalıntıları yönünden periyodik kontrollerinin yapılması, hayvan yetiştiricilerinin antibiyotikler hakkında bilinçlendirilmesi, antibiyotik ilaçları gereksiz ve düzensiz kullanan işletmelere yaptırımlar uygulanması gibi önlemler alınması gerekir. Aksi takdirde antibiyotik ilaçların ülke ekonomisi ve halk sağlığı üzerine olumsuz etkileri gün geçtikçe artacaktır.

Kaynaklar

- Anonim, 2018:
http://www.vetfarmatoks.org.tr/EYarsan_Kalinti.pdf
 Erişim tarihi; 11.10.2018.

- Baynes RE, Keith D, Lindsey K, Danielle M, Tara M, Geof S, Lisa T, Ronette G, Jennifer D, Jim ER, 2016: Health concerns and management of select veterinary drug residues. *Food and Chemical Toxicology*, 88, 112-122.
- Benito E, Urraca JL, Moreno MC, 2009. Quantitative determination of penicillin V and amoxicillin in feed samples by pressurised liquid extraction and liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Pharm. Biomed.*, 49, 289-294.
- Dipeolu MA, Alonge DO, 2002: Residues of streptomycin antibiotic in meat sold for human consumption in some states of SW Nigeria. *Archivos De Zootecnia*, 51(196), 477-480.
- García AM, Gamiz L, Lara FJ, Iruela MD, Cruces C, 2009. Applications of capillary electrophoresis to the determination of antibiotics in food and environmental samples. *Anal. Bioanal. Chem.*, 395, 967-986.
- Khong SP, Gremaud E, Richo J, Delatour T, Guy PA, Stadler RH, Mottier P, 2004. Analysis of matrix-bound nitrofurans residues in worldwide -originated honeys by isotope dilution highperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agr. Food Chem.*, 52, 5309-5315.
- Njoga EO, Onunkwo JI, Okoli CE, Ugwuoke WI, Nwanta JA, Chah KF, 2018: Assessment of antimicrobial drug administration and antimicrobial residues in food animals in Enugu State, Nigeria. *Tropical Animal Health and Production*, 50(4), 897-902.
- Oruç HH, Cengiz M, Bağdaş D, Uzunoğlu İ, 2007: Sığır etlerinde streptomisin ve sulfametazin (sulfadimidin) kalıntıları. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 26(1-2), 17-20.
- Rakotoharinome M, Pognon D, Randriamparany T, Ming JC, Idoumbin JP, Cardinale E, Porphyre V, 2014: Prevalence of antimicrobial residues in pork meat in Madagascar. *Tropical Animal Health and Production*, 46(1), 49-55.
- Tekgül Y, 2013: Aydın ilinde satışa sunulan broiler etlerinde bazı antibiyotik kalıntılarının varlığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Temamoğulları F, Sezai K, 2010: Ankara piyasasında satılan sütlerde bazı antibiyotik kalıntılarının ince tabaka kromatografisi ve biyotografik yöntemle saptanması. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas*, 16(2), 187-191.
- Tollefson L, Karp BE, 2004: Human health impact from antimicrobial use in food animals. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 34, 514-521.
- Van Den Ba AE, Stobberingh EE, 2000: Epidemiology of resistance to antibiotics: Links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14, 327-335.
- Weiss C, Conte A, Milandri C, Scortichini G, Semprini P, Usberti R, Migliorati G, 2007. Veterinary drugs residue monitoring in Italian poultry: Current strategies and possible developments. *Food Cont.*, 18, 1068-1076.
- Yüksek N, 2001: Etlerde antibiyotik kalıntılarının aranması üzerinde çalışmalar. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 20, 85-90.
- Yıldız, T, 2014: Tavuk Etinde Antibiyotik Kalıntılarının Hplc Yöntemiyle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Yıbar A, Soyutemiz E, 2013: Gıda değeri olan hayvanlarda antibiyotik kullanımı ve muhtemel kalıntı riski. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(1), 97-104.
- **Bu araştırma 4-7 Ekim 2018 tarihlerinde Şanlıurfa'da düzenlenen I. Uluslararası GAP Matematik, Mühendislik, Fen ve Sağlık Bilimleri Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.**
- *Yazışma Adresi:** Mehmet Emin AYDEMİR Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
- E-mail:** aydemiremin23@gmail.com

Morphological Investigation of the Ganglia Celiaca, Ganglion Mesentericum Craniale and Ganglia Aorticorenalia in the New Zealand Rabbit (*Oryctolagus Cuniculus L.*)^{*,**}

Ayşe HALIGUR^{1,a,***}, Omer Gurkan DILEK^{2,b}

¹Cukurova University, Faculty of Ceyhan Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Adana, Turkey

²Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Burdur, Turkey

^aORCID: 0000-0002-3668-4286, ^bORCID: 0000-0002-5717-3928

Geliş Tarihi: 25.03.2019

Kabul Tarihi: 21.10.2019

Abstract: The aim of this study was to search morphological structure of ganglia celiaca, ganglion mesentericum craniale and ganglia aorticorenalia in the New Zealand Rabbits. Twenty rabbits were used equally each sex. The rabbits were sacrificed and fixed under 10% formaldehyde solution. The adipose tissue was eliminated by maintaining the cadavers in 1% KOH solution at 30 °C for 24 hours. Ganglia celiaca, ganglion mesentericum craniale and ganglia aorticorenalia were examined under stereomicroscope. Ganglia celiaca were settled in different places around the arteria celiaca allocated from aorta. Ganglia celiaca was absent in one of the animals examined, one ganglia in 13 animals and two ganglia in 6 animals. Ganglion mesentericum craniale was counted as 24 in animals examined. There were 2 ganglions in 8 animals, one ganglion in 8 animals and in 4 animals ganglion structure were not observed. There were totally 28 ganglions of ganglia aorticorenalia located, both right and left side of arteria renalis. Ganglia aorticorenalia was not observed in two animals. It was seen that parasympathetic extensions of the branches arrived to these ganglions were originated from nervus vagus and sympathetic structure was composed by nervus splanchnicus major, minor, imus and nervus splanchnicus lumbales 1-2. The examination of the ganglia celiaca, ganglion mesentericum craniale and ganglia aorticorenalia in the New Zealand Rabbit demonstrated variances in the localization and shape of these ganglia as well as in the branches they received.

Keywords: *Ganglia aorticorenale, Ganglia celiaca, Ganglion mesentericum craniale, Morphology.*

Yeni Zelanda Tavşanında (*Oryctolagus Cuniculus L.*) Ganglia Celiaca, Ganglion Mesentericum Craniale ve Ganglia Aorticorenalia'nın Morfolojik İncelenmesi

Özet: Bu çalışmanın amacı Yeni Zelanda Tavşanlarında ganglia celiaca, ganglion mesentericum craniale ve ganglia aorticorenalia'nın morfolojik yapılarının araştırılmasıdır. Çalışmada her iki cinsiyetten eşit olarak 20 tavşan kullanıldı. Tavşanlar sakrifiye edildikten sonra %10 formaldehit çözeltisi ile tespit edildi. Adipoz dokusu, kadavranın 30 °C'de 24 saat boyunca %1 KOH çözeltisinde tutulmasıyla elimine edildi. Ganglia celiaca, ganglion mesentericum craniale ve ganglia aorticorenalia stereomikroskop kullanılarak incelendi. Ganglia celiaca bir hayvanda bulunmamakta, 13 hayvanda bir ganglia ve 6 hayvanda iki ganglia bulunmaktaydı. Ganglion mesentericum craniale 24 adet görüldü. Sekiz hayvanda 2, 8 hayvanda 1 adet ganglion görülmekle beraber 4 hayvanda ganglion yapısı görülmeydi. Arteria renalis'in sağında ve solunda 28 adet ganglia aorticorenalia tespit edildi. İki hayvanda ganglia aorticorenalia görülmeydi. Nervus splanchnicus major, minor, imus ve nervus splanchnicus lumbales 1-2'den köken alan sempatik sinirler ile nervus vagus'tan köken alan parasempatik sinirlerin bu gangliyonlara katıldığı tespit edildi. Bu çalışma Yeni Zelanda Tavşanında ganglia celiaca, ganglion mesentericum craniale ve ganglia aorticorenalia'nın lokalizasyonu ve şekil bakımından farklılıklar olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: *Ganglia aorticorenale, Ganglia celiaca, Ganglion mesentericum craniale, Morfoloji.*

Introduction

The ganglia celiaca are involved in the vasoconstriction of the gastric, hepatic and pancreatic blood vessels, and the stimulation of the peristaltic movements and formation of glandular secretion in the intestines (Tais et al., 2003). The ganglia aorticorenalia, nervus splanchnicus major et minor, and nervi splanchnici lumbales are connected to the pars lumbalis of the truncus sympathicus and the plexus renalis (Arıncı and Elhan 1995; Dursun, 2000; Nawrot et al., 2009;

Patestas and Gartner 2006). The ganglia aorticorenalia are formed by the contribution of the nervus splanchnicus minor and are involved in the formation of the plexus celiacus (Arıncı and Elhan 1995; Bhamburkar and Prakash 1993; Dursun, 2000; Duzler et al., 2003; Nawrot et al., 2009; Ozgel et al., 2008). It is known that, branches arising from the ganglia aorticorenalia extend to both the kidneys and the glandulae adrenales. The ganglia aorticorenalia, which are located in the right and

left of the body, are either 2 (Pasquini, 2003) or 3 (Crafts, 1979; Pospieszny et al., 2002; Pospieszny et al., 2003) in number. These ganglia are located in or between the kidney and the arteria renalis. It has been reported that the ganglia aorticorenalia can be found in 4 different conformations, including the elongated, circular, triangular and oval forms (Patestas and Gartner 2006).

It is known that, the ganglia located in the abdominal cavity are involved in common diseases in humans, including cortisol and cortisone induced disorders, diabetes, hypertension, disorders caused by the increased production of gastric acid, and sexual development disorders of both males and females. The abdominal cavity presents with the risk of the development of multiple carcinogenic structures. In the advanced stages of cancer, abdominal pain can be either relieved or minimized by the blockage of ganglia (Mercadante, 1993). In this respect, this study was aimed at providing reference data for researchers (clinicians, preclinicians and paraclinicians) on the localization of the ganglia celiaca, ganglion mesentericum craniale and ganglia aorticorenalia, and the variations observed in the anatomical structure of these ganglia in the New Zealand Rabbit.

Materials and Methods

Twenty New Zealand Rabbits, 10 of each sex, constituted the material of this study. While the body weight of the female animals ranged between 3750-4300 g, the body weight of the male animals ranged between 4075-4750 g. Dead rabbits, which were sacrificed with methods approved by the Ethics Board of Mehmet Akif Ersoy University (Approval number: 013-40) constituted the material of the study. The cadavers were fixed in 10% formaldehyde solution. The adipose tissue was eliminated by maintaining the cadavers in 1% KOH solution at 30 °C for 24 hours. Subsequently, the ganglia celiaca, ganglion mesentericum craniale and ganglia aorticorenalia were examined under a Leica SD6 model stereomicroscope. The findings were photographed using a Leica DC160 model camera compatible with Leica SD6 (1.1).

Anatomical nomenclature in this study was based on Nomina Anatomica Veterinaria (World Association of the Veterinary Anatomists 2017).

Results

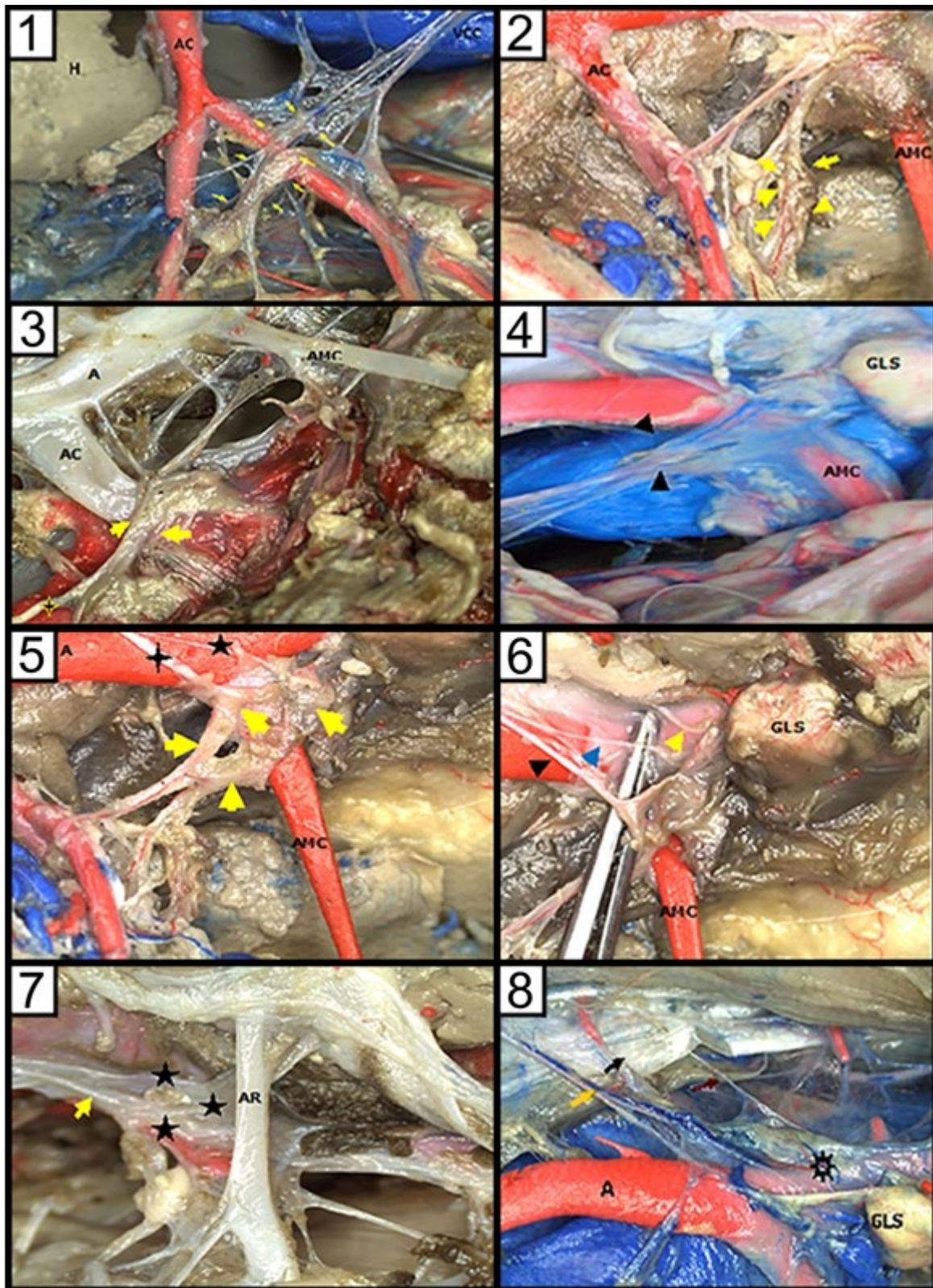
Ganglia celiaca: The ganglia celiaca were localized to the site of origin of the arteria celiaca from the aorta in 2 of the animals, the ramification site of the arteria celiaca (beneath the crura of the

diaphragm) in 3 of the animals, and the area in between the origin and the ramification site of the arteria celiaca in the other animals (1.1, 1.2, 1.3-AC). On the other hand, in one of the animals examined, it was observed that the ganglia celiaca did not display the typical structure of a ganglion and that the nerves had formed a dense network. Out of 20 of the animals examined, 6 were determined to have 2 ganglia celiaca. These ganglia were observed to have a spindle-like or irregular quadrilateral shape (1.1-Yellow arrow). Furthermore, the shape of the ganglia was triangular in 4 animals, circular in 3 animals, and irregularly quadrilateral in the remaining 7 animals.

The branches stemming from the truncus vagalis dorsalis and truncus vagalis ventralis, extending above the oesophagus, and the branches originating from the truncus sympathicus at the level of the 8th and 13th thoracic nerves, were determined to firstly join the plexus celiacus. After leaving the plexus celiacus, these branches were determined to have terminated in the ganglia celiaca. In 2 of the animals, a fine nervous branch, originating in between the 13th and 14th thoracic nerves, was determined to join firstly the plexus celiacus and secondly the left ganglion celiaca. In two of the animals, the nervus splanchnicus major was observed to have divided into two fine branches, which passed the ganglion mesentericum craniale and extended to the ganglia celiaca. Furthermore, it was observed that, in 7 of the animals, the 1st lumbar nerve firstly entered the nervous network surrounding the ganglia celiaca and then coursed to these ganglia. In one animal, the truncus vagalis ventralis, which had fused with the truncus vagalis dorsalis, extended to the ganglia celiaca, from where it was further distributed.

Observations demonstrated that the branches arising from the ganglia celiaca gave off fine branches in the periphery of the arteria celiaca, which coursed to the arteria mesenterica cranialis (1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6-AMC). These fine branches surrounding the arteria mesenterica cranialis were observed to have formed a network, and to have terminated in the ganglion mesentericum craniale. Furthermore, it was observed that the branches stemming from the ganglia celiaca had given off fine branches, which extended parallel to branch of arteria celiaca (the arteria hepatica, arteria gastrica sinistra and arteria lienalis) (1.1-AC).

Ganglion mesentericum craniale: It was observed that the ganglion mesentericum craniale was distributed densely and diffusely. In general, this ganglion was ascertained to have fused with the ganglia celiaca (1.3-Yellow arrow). It was determined that the total number of these ganglia on the right and left in the body was 24. Four of the



1. Eight different anatomical images of rabbit.

1.1. Left side view of the ganglia celiaca. AC; A. celiaca, H; Hepar, VCC; Vena cava caudalis, Yellow arrow; Ganglia celiaca. 1.2: Left side view of the ganglia celiaca. AC; A. celiaca, AMC; A. mesenterica cranialis, Yellow arrow; Ganglia celiaca. 1.3: Left side view of the ganglia celiaca. A; Aorta, AC; A. celiaca, AMC; A. mesenterica cranialis, Yellow arrow; Ganglion mesentericum craniale, ✦; Truncus vagalis dorsalis. 1.4: Left side view of the ganglion mesentericum craniale. AMC; A. mesenterica cranialis, GLS; Glandulae adrenalis, Black arrow; Ganglion mesentericum craniale (2 pieces). 1.5: Left side view of the ganglion mesentericum craniale. A; Aorta, AMC; A. mesenterica cranialis, Yellow arrow; Ganglion mesentericum craniale, ✦; Nervus splanchnicus major, ✧ Nervus splanchnicus minor. 1.6: Left side view of the ganglion mesentericum craniale. AMC; A. mesenterica cranialis, GLS; Glandulae adrenalis, Back arrow; Nervus splanchnicus imus, Blue arrow; Nervus splanchnicus minor, Black arrow; Nervus splanchnicus major. 1.7: Right side view of the ganglia aorticorenalia. AR; A. renalis, Yellow arrow; Branch of the ganglion mesentericum craniale, ✧; Plexus renalis. 1.8: Left side view of branches involved in the plexus adrenalis and plexus renalis. A; Aorta, GLS; Glandulae adrenalis, Yellow arrow; Nervus splanchnicus major, Black arrow; Nervus splanchnicus minor, Red arrow; Nervus splanchnicus imus, ✧; Plexus adrenalis.

animals examined, lacked this ganglionic structure. On the other hand, in 8 of the animals, 2 ganglia were observed on both the right and left of these structures (1.5-Yellow arrow). In the remaining 8 animals, the presence of only one ganglion was detected. In 10 of the animals examined, this ganglion was localized to the site of origin of the arteria mesenterica cranialis from the aorta. In 4 of the animals, this ganglion was located between the arteria celiaca and arteria mesenterica cranialis, but in closer proximity to the latter. In two animals, the ganglion was located just behind the a. mesenterica cranialis. In the remaining 4 animals, this structure was observed in the form of a network. Variations were observed in the shape of the ganglion. Out of the 24 ganglia examined, 16 were triangular, 6 were irregularly quadrilateral, and 2 resembled the shape of the letter "L". It was determined that the branches, which stemmed from the truncus sympathicus and extended to the ganglia celiaca, were composed of branches following a course in between the plexus celiacus and the plexus intermesentericus. The extensions of these branches and the ganglia aorticorenalia were also connected to each other. Furthermore, it was observed that the branches, which stemmed from this ganglion and formed the plexus mesentericus cranialis, extended parallel to the blood vessels forming the arteria mesenterica cranialis.

In 4 of the animals examined, branches extending from the nervus splanchnicus major et minor were determined to have terminated in the ganglion mesentericum craniale (1.6-Black arrow). In one animal, only the nervus splanchnicus imus (1.6-Yellow arrow) was determined to have contributed. These nerves were observed to have been distributed in the plexus mesentericus cranialis.

Ganglia aorticorenalia: It was observed that the ganglia aorticorenalia were positioned between the crura diaphragmatica and the deep portions of the glandulae adrenales, in the form of a diffuse network (1.7-★). The ganglia aorticorenalia, which were 2 in number and were found in the right and left side of the body, were localized to the site of origin of the arteria renalis from the aorta. It was determined that these ganglia were positioned differently along the course of the right and left arteriae renales, starting from their point of origin. The shape of the ganglia aorticorenalia was spindle-like in 9 animals, circular in 6 animals, and triangular in 3 animals. Only 2 of the animals lacked this ganglionic structure. In these two animals, the nerve fibres were observed to have formed a network. In 14 of the animals examined, in total 28 ganglionic structures were identified on the right

and left antimeres. While 3 animals lacked the right ganglion, 1 animal lacked the left ganglion, and 2 animals presented with only a plexus (1.8-★). The L₂ branch received by the ganglia aorticorenalia from the nervus splanchnicus lumbalis was observed to have been composed of branches arising from the plexus intermesentericus, ganglia celiaca and ganglion mesentericum craniale.

In 18 animals, the nervus splanchnicus minor was determined to have contributed to the ganglia aorticorenalia (1.8-Black arrow). Furthermore, the nervus splanchnicus imus was determined to exist in 8 animals (1.8-Red arrow), 5 of which displayed the contribution of the nerve on the right antimeres to the ganglion and the other 3 of which displayed the course of the nerve on the left antimeres to the ganglion.

Discussion and Conclusions

The ganglia celiaca are involved in the vasoconstriction of the gastric, hepatic and pancreatic blood vessels, and in the stimulation of the peristaltic movements and formation of glandular secretion in the intestines (Tais et al., 2003). In a research conducted in guinea pigs, it was reported that the nervous structure forming the ganglia celiaca was composed of two lobes. It was indicated that these lobes were localized to the periphery of the arteria mesenterica cranialis (Messenger and Furness 1992). The ganglia aorticorenalia are connected to the nervus splanchnicus major et minor, nervi splanchnici lumbales, the pars lumbalis of the truncus sympathicus, and the plexus renalis (Arıncı and Elhan 1995; Dursun, 2000; Nawrot et al., 2009; Patestas and Gartner 2006). The ganglia aorticorenalia are formed by the contribution of the nervus splanchnicus minor, and contribute to the formation of the plexus celiacus (Arıncı and Elhan 1995; Bhamburkar and Prakash 1993; Dursun, 2000; Duzler et al., 2003; Nawrot et al., 2009; Ozgel et al., 2008). In humans, in some cases, the nervus splanchnicus minor may directly extend to the glandulae adrenalis without entering the ganglia aorticorenalia. It is known that the branches given off by the ganglia aorticorenalia extend to both the kidneys and the glandulae adrenales. The ganglia aorticorenalia have been reported to be two in number, one of which extends on the right antimeres and the other on the left antimeres (Crafts 1979). The ganglia aorticorenalia are located between the kidneys and the arteria renalis. Reports indicate this structure not to be composed of a single ganglion, but to be comprised of 2-3 small ganglia, which course to the level of the

ganglia celiaca and even fuse with these ganglia (Kuder, 2002). In a study carried out in cats, this structure was shown to be composed of 3 ganglia (Furuzawa et al., 1996). On the other hand, research conducted in sheep has demonstrated the ganglia aorticorenalia to be found in 4 different shape, including the elongated, circular, triangular and oval forms (Nawrot et al., 2009). Ganglia, and in particular the ganglia celiaca, ganglion mesenteria cranialis and ganglion celiaco-mesenterica, have been morphologically described in various animal species in research on the autonomous nervous system. These ganglia have been investigated in the cat (Bochenek and Reicher 1989; Furuzawa et al., 1996; Ribeiro et al., 2000b), buffalo (Ribeiro et al., 2000a), goat (Bhamburkar and Prakash 1993), rat (Hamer and Santer 1981), guinea pig (Messenger and Furness 1992), rabbit (Langenfeld, 1988), Chilean beaver (Langenfeld, 1991a; Langenfeld, 1991b) and buffalo for their structure, correlations in terms of infrastructure, and differences in macroscopic and microscopic size. Paz and Rosen (1989) determined that, in humans, the ganglia celiaca were mostly of a triangular shape. It was suggested that the interconnections between the ganglia contributed to the formation of this triangular shape. Hamer and Santer (1981) reported that, while the right ganglion celiaca of rats was round and resembled a pearl in shape, the left ganglion was smaller than the right ganglion and had a quadrilateral shape. In a study conducted in rabbits, Tais et al. (2003) determined that the left ganglion celiaca had a quadrilateral shape and circular connections. These researchers reported to have observed this structure in 90% of the cases they had examined. In the present study carried out in the New Zealand Rabbit, it was determined that the shape of the ganglia varied. In the present study, while an irregular quadrilateral shape was observed at a rate of 65% in 13 animals, a triangular shape, as previously reported by Paz and Rosen (1989) was observed at a rate of 20% in 4 animals. On the other hand, in 3 animals, the ganglia presented with a circular shape. Furthermore, it was ascertained that the number of ganglia found in the animals also varied. In a study in the buffalo, it was determined that the ganglia had fused and formed a single ganglion celiaco-mesenterica (Ribeiro et al., 2000a), while in another study in cats, it was ascertained that these ganglia were separate and existed in the form of the ganglia celiaca and the ganglion mesentericum craniale (Ribeiro et al., 2000b). Research conducted in rats demonstrated that the right ganglion celiaca and the right ganglion mesentericum craniale fused by means of nerve fibre fusion, and it was observed that the positions

of the ganglia were similar (Hamer and Santer 1981).

The positions of the ganglia determined in the present study differed from that reported in previous research (Langenfeld, 1991a), and it was determined that the ganglia celiaca were localized to the ramification site of the arteria celiaca in 3 animals, and the site of origin of the arteria celiaca in 2 animals. In the remaining animals, the ganglia were located between the origin and the ramification site of the arteria celiaca. It was determined that the position of the ganglion mesentericum craniale along the arteria celiaca and arteria mesenterica cranialis varied. In a previous study performed in rabbits, it was observed that the ganglia celiaca were localized to the caudal border of the arteria mesenterica cranialis in 40% of the animals examined, and it was also ascertained that in 1 case, the ganglia celiaca had fibres fusing with the ganglion mesentericum craniale on the right antimer (Tais et al., 2003). Tais et al. (2003) indicated that in 90% of the animals they had examined, the ganglia celiaca were not found on the right antimer. Out of the 20 animals examined in the present study, only 1 was determined to lack the ganglion celiaca. In this animal, instead of the ganglion, a network structure existed.

It has been reported that the ganglia celiaca and single ganglion mesenterica cranialis form the plexus celiacomesentericus. Furthermore, reports indicate that the left ganglion celiaca and the ganglion mesentericum craniale are localized to the periphery of the arteries referred to with similar names, and are connected to each other with rather short yet strong several nerve fibres (Dursun, 2000; Ghoshal and Getty 1969). Getty (1975) reported a circular shape for the ganglion celiaca and suggested that the ganglion mesentericum craniale was longer than the ganglia celiaca. This researcher also indicated the presence of interganglionic connections between these ganglia, which formed a plexus. In a study conducted by Lakshminarasimhan (1966) in the buffalo, it was reported that the nervus splanchnicus major and the cranial branches of the L₁ and L₂ splanchnic nerves extended to the plexus celiacomesentericus, and from this point coursed to the ganglia celiaca and ganglion mesentericum craniale. Furthermore, this research in the buffalo indicated that the ganglion mesentericum craniale was single in all species. In the present study, it was demonstrated that the ganglion mesentericum craniale was not single in rabbits, on the basis of 2 ganglia having been determined in 8 of the animals examined.

Similar findings were obtained in studies previously conducted by Duzler et al. (2003) and Ozgel et al. (2008), in the present study, it was

observed that the nervus splanchnicus minor and nervus splanchnicus imus extended to the ganglion celiaca.

According to Lakshminarasimhan (1966), the preganglionic parasympathetic fibres contributing to the plexus celiacomesentericus are formed by the truncus vagalis dorsalis. In the present study, in all of the rabbits examined, the fibres arising from the dorsal branch of the nervus vagus were determined to extend to the ganglia celiaca, in agreement with literature (Getty, 1975). However, in one of the animals examined, the presence of branches, which originated from the dorsally and ventrally extending nervus vagus and terminated in the ganglia celiaca, was detected.

In agreement with literature (Paz and Rosen 1989), it was ascertained that the ganglia aorticorenalia extended along the arteria renalis, which stemmed from the aorta abdominalis.

In compliance with literature (Paz and Rosen 1989), it was also determined that the second branch (L2) of the nervi splanchnici lumbales gave off branches to the plexus celiacomesentericus, ganglion mesentericum craniale and ganglia celiaca.

The examination of the ganglia celiaca, ganglion mesentericum craniale and ganglia aorticorenalia in the New Zealand Rabbit demonstrated variances in the localization and shape of these ganglia as well as in the branches they received. Accordingly, it was determined that only 1 of the animals lacked the ganglia celiaca, while the others had either 2 or 3 ganglia. While 6 of the animals had 2 ganglia celiaca, 14 of the animals presented with a single ganglion. In the animals examined in the present study, the total number of the ganglion mesentericum craniale was found to be 24, and only 4 of the animals displayed a typical ganglionic structure. Only 8 of the animals were determined to have 2 ganglia. Furthermore, while 2 animals were observed to lack the ganglia aorticorenalia, 28 ganglia were detected in the remaining 18 animals. It was observed that, in general, these ganglia received their parasympathetic fibres from the nervus vagus, and their sympathetic fibres from the nervus splanchnici major et minor et imus and the L₁ and L₂ branches of the nervi splanchnici lumbales.

References

Arıncı K, Elhan A, 1995: Anatomi. 2. Cilt. Ankara, Güneş Kitabı, 544.

Bhamburkar VR, Prakash P, 1993: Quantitative histomorphological studies on the sympathetic ganglia of the goat (*Capra hircus*). *Indian Vet J*, 70, 337-340.

Bochenek AM, Reicher M, 1989: Anatomia człowieka. Tom V. Warszawa, PZWL, 280-288.

Crafts RC, 1979: A Textbook of Human Anatomy. 2nd edition. Churchill Livingstone, Wiley-Blackwell Medical Publication, 800.

Dursun N, 2000: Veteriner Anatomi III. Ankara: Medisan Yayınevi, 224.

Duzler A, Dursun N, Cengeli A, Cevik A, 2003: The origin and course of the greater, lesser and least thoracic splanchnic nerves in New Zealand rabbit. *Anat Histol Embryol*, 32, 183-186.

Furuzawa Y, Ohmori Y, Watanabe T, 1996: Anatomical localization of sympathetic postganglionic and sensory neurons innervating the pancreas of the cat. *J Vet Med Sci*, 58(3), 243-248.

Getty R, 1975: The Anatomy of the Domestic Animals. Tokyo, WB Saunders Company.

Ghoshal NG, Getty R, 1969: Postdiaphragmatic disposition of the pars sympathica and major autonomic ganglia of the ox (*Bos taurus*). *Jpn J Vet Sci*, 32, 285-294.

Hamer DW, Santer RM, 1981: Anatomy and blood supply of the coeliac-superior mesenteric ganglion complex of the rat. *Anat Embryol*, 169, 353-362.

Kuder T, 2002: Autonomiczny układ nerwowy. Kielce, Akademia Świętokrzyska.

Lakshminarasimhan A, 1966: Studies on the sympathetic nervous system of the abdomen and pelvis of the indian buffalo (*Bos bubalis*). *Indian Vet J*, 43: 1095-1099.

Langenfeld M, 1988: Participation of the splanchnic nerves in the structure of the cranial mesenteric plexus of the rabbit. *Pol Arch Wet*, 28, 109-113.

Langenfeld M, 1991a: Participation of the splanchnic nerves in the structure of the celiac plexus in the coypu. *Pol Arch Wet*, 31, 141-145.

Langenfeld M, 1991b: Participation of the splanchnic nerves in the structure of the cranial mesenteric plexus in the coypu. *Pol Arch Wet*, 31, 147-151.

Mercadante S, 1993: Celiac plexus block versus analgesics in pancreatic cancer pain. *Pain*, 52, 187-192.

Messenger JP, Furness JB, 1992: Distribution of enteric nerve cells that project to the coeliac ganglion of the guinea-pig. *Cell Tissue Res*, 269, 119-132.

Nawrot JK, Kaczynska K, Jakubowska W, 2009: Macroanatomical investigation of the aorticorenal ganglion in day-old infant sheep. *Anat Histol Embryol*, 38(3), 189-193.

Pasquini C, 2003: Anatomy of Domestic Animals Systemic & Regional Approach. 10th edition. Collinsville, Sudz Publishing, 677.

Patesta MA, Gartner LP, 2006: A Textbook of Neuroanatomy. USA, Blackwell Publishing.

Paz Z, Rosen A, 1989: The human celiac ganglion and its splanchnic nerves. *Acta Anat*, 136, 129-133.

Pospieszny N, Kleckowska J, Janeczek M, 2002: Morphological analysis of the aorticorenal ganglion in persian cats at perinatal period. *Acta Sci Pol, Medicina Veterinaria*, 1, 31-38.

Pospieszny N, Kleckowska J, Janeczko M, Chroszcz A, 2003: The morphology and development of aorticorenal ganglion (ganglia aorticorenalia) in american staffordshire terrier in perinatal period. *EJPAU*, 6, 1.

Ribeiro AACM, Miglino MA, De Souza RR, 2000a. Anatomic study of the celiac, celiac mesenteric and cranial mesenteric ganglia and its connections in cross-breed buffalo fetuses (*Bubalus bubalis* Linnaeus, 1758). *BJVRAS*, 37, 109-114.

Ribeiro AACM, Fernandes Filho A, Barbosa J, De Souza RR, 2000b. Anatomic study of the celiac, celiac mesenteric and cranial mesenteric ganglia and its connections in the domestic cat (*Felis dornestica*-Linnaeus, 1758). *BJVRAS*, 37, 267-272.

Ozgel O, Dursun N, Duzler A, 2008: The macroanatomical evaluation of N.splanchnicus major, minor and imus in donkeys (*Equus asinus L.*). *JAVA*, 7, 1081-1086.

Tais H, Romeu R, Mdrca R, Ronaldo A, Wanderley L, Antonio Augusto CM, 2003: Macro-and microstructural organization of the rabbit's celiac-

mesenteric ganglion complex (*Oryctolagus cuniculus*). *Ann Anat*, 185, 441-448.

World Association of the Veterinary Anatomists N.A.V: 2017. 6 th Ed.

*A part of this study was presented as a poster presentation at VIII. National Veterinary Anatomy Congress, 25-28 June 2013, İstanbul, Turkey.

**This research was supported by Mehmet Akif Ersoy University, Scientific Research Project Unit. (Proj no: NAP-143-10).

*****Corresponding Author:** Cukurova University, Faculty of Ceyhan Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Adana, Turkey.

e-mail: ahaligur@gmail.com, ahaligur@cu.edu.tr

Elazığ'da Satılan Hellim Peynirlerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesi

Gökhan Kürşad İNCİLİ^{1,a}, Selçuk ALAN^{2,b}, Muhsin MUTLU^{3,c}, Mehmet Emin AYDEMİR^{4,d,*},
Gülsüm ÖKSÜZTEPE^{1,e}

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Elazığ, Türkiye

²Tarım ve Orman Bakanlığı, İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Elazığ, Türkiye

³Tarım ve Orman Bakanlığı, Veteriner Kontrol Enstitüsü, Elazığ, Türkiye

⁴Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye

^aORCID:0000-0003-1178-3365, ^bORCID:0000-0002-4473-7835, ^cORCID:0000-0003-2097-7217,

^dORCID: 0000-0002-5849-1741, ^eORCID: 0000-0003-3267-6841

Geliş Tarihi: 04.04.2019

Kabul Tarihi: 21.10.2019

Özet: Bu çalışma Elazığ ilinde satılan hellim peynirlerinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerini belirlemek için planlandı. Hellim peyniri örneklerinde mikrobiyolojik (Toplam mezofilik aerob bakteri, *Staphylococcus-Micrococcus*, *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*, laktik streptokoklar, anaerob bakteri, koliform, Enterobacteriaceae, maya ve küf, *E. coli*, *S. aureus*), kimyasal (PH, asitlik, kuru madde, tuz, kül, yağ, protein ve su aktivite (aw) değeri) analizler yapıldı. Mikrobiyolojik analizler sonucunda ortalama olarak toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 6.39 ± 1.88 , *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı 2.63 ± 1.62 , *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* sayısı 5.43 ± 1.73 , laktik streptokok sayısı 6.04 ± 1.63 , anaerob bakteri sayısı ise $3.45 \pm 1.26 \log_{10}$ kob/g olarak tespit edildi. Bakteri sayıları tespit limitinin üzerinde bulunan örneklerde ise *Enterobacteriaceae* 2.65 ± 0.9 , koliform grubu bakteri sayı 2.29 ± 0.73 , maya-küf sayısı 3.16 ± 1.14 , *S. aureus* sayısı $2.81 \pm 1.54 \log_{10}$ kob/g ve olarak tespit edildi. Kimyasal analizler neticesinde ise ortalama olarak kuru madde miktarı %48.77, kül miktarı %4.84, tuz miktarı %6.84, yağ miktarı (kuru maddede) %41.58, protein miktarı %30.33, pH değeri 6.58, a_w (su aktivite değeri) 0.88 ve asitlik değeri ise (% laktik asit cinsinden) 0.15 olarak bulundu. Çalışmada incelenen vakum paketlenmiş hellim peyniri örneklerinin 30 tanesinin (%100) kuru madde, 1 tanesinin (%3.33) tuz miktarı ve 15 tanesinin (%50) ise pH değerleri bakımından ilgili standarda uymadıkları görüldü. Sonuç olarak, piyasaya çıkarılan ürünlerin hem mikrobiyolojik ve hem de kimyasal diğer parametreler bakımından ilgili standartlara uygun olarak üretilebilmesi için üretimden tüketime kadar olan tüm aşamalarında uygulanan denetimlerin daha sık yapılması soframıza güvenilir ürünlerin gelmesi ve halk sağlığı bakımından büyük önem arz etmektedir.

Anahtar kelimeler: Hellim Peyniri, Mikrobiyolojik, Kimyasal, Kalite.

Microbiological and Chemical Quality of Halloumi Cheese Sold in Elazığ

Abstract: This study was carried out to determine the microbiological and chemical quality of halloumi cheese sold in Elazığ province. Microbiological (Total mesophilic aerobic bacteria, *Staphylococcus-Micrococcus*, *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*, lactic streptococci, anaerobic bacteria, coliform, *Enterobacteriaceae*, yeast-mold and *S. aureus*), chemical (PH, acidity value, dry matter, salt, ash, fat, protein and activity of water (aw)) analyzes were performed in halloumi cheese samples. Microbiological analysis revealed that the mean number of total mesophilic aerobic bacteria, *Staphylococcus-Micrococcus*, *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*, lactic streptococci, and anaerobic bacteria were 6.39 ± 1.88 , 2.63 ± 1.62 , 5.43 ± 1.73 , 6.04 ± 1.63 , and $3.45 \pm 1.26 \log_{10}$ cfu/g, respectively. In the samples with bacteria counts above the detection limit, the mean numbers of *Enterobacteriaceae*, coliforms, yeast-mold and *S. aureus* were found as 2.65 ± 0.9 , 2.29 ± 0.73 , 3.16 ± 1.14 , and $2.81 \pm 1.54 \log_{10}$ cfu/g, respectively. As a result of chemical analysis the mean values of dry matter, total ash, salt, fat (in dry matter), protein, pH, aw value (activity of water) and acidity value (% lactic acid) were found as 48.77%, 4.84%, 6.84%, 41.58%, 30.33%, 6.5, 0.88, and 0.15, respectively. In the study, 30 samples (100%) for dry matter, 1 sample (3.33%) for salt content and 15 samples (50%) for pH values were found to be non-compliant with the related standards. In conclusion, it is important to perform more inspection at all stages from production to consumption to produce foods that are complied with the related standards in terms of the microbiological and chemical parameters as well as for the consumption of healthy and quality food products and protecting the public health.

Keywords: Halloumi Cheese, Microbiological, Chemical Quality.

Giriş

Hellim peyniri, kabuksuz, gözenek içermeyen, sarımsı beyaz renkli, yarı sert veya sert nitelikte olan, taze ya da olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen, geleneksel olarak koyun veya keçi sütünden ya da her ikisinin karışımından üretilen, son zamanlarda sadece inek sütünden de yapılabilen bir peynir çeşididir (İnce ve ark., 1998; Kaminarides ve ark., 2000; Papademas ve ark., 1998; Robinson, 1991).

Hellim peyniri Kıbrıs'ta üretilen geleneksel bir peynirdir. Bu ürün çoğunlukla Kıbrıs, Türkiye, İngiltere, Lübnan gibi ülkelerde tüketilmesine rağmen, son yıllarda Avrupa Birliği ülkeleri, Amerika Birleşik Devletleri gibi ülkelerde de tüketilmeye başlanmıştır (Erbay ve ark., 2010).

Hellim peyniri, genellikle çiğ süttten starter kültür kullanılmadan üretilmekte ve telemesi belirli

boyutta dilimlenerek haşlanmaktadır (Erbay ve ark., 2010). Geleneksel olarak hellim peynirinin üretiminde çiğ süt kullanılırken, günümüzde starter kültür ve pastörize süttten üretimi de yaygınlaşmaktadır. Geleneksel üretimde çiğ süte isteğe bağlı olarak peynirin renginde beyazlık sağlamak amacıyla klorofil katılabilmektedir. Sütün pıhtılaştırılma işlemi renet kullanılarak 33 ± 1 °C’de yapılmakta ve oluşan pıhtı yaklaşık 1 cm³’lük parçalar halinde kesilmektedir. Pıhtı yaklaşık 10 dakika dinlendirildikten pıhtı 40 °C’de 15 dakika ısıtılmakta ve ısıtma işlemi takiben baskıya alınmaktadır. Baskı işleminden sonra teleme yaklaşık olarak 8x10x4 cm boyutlarında kesilmektedir. Bu işlem sonrasında peynir suyunda 90-95 °C’de yaklaşık 30-80 dakika pişirilmektedir. Uygulanan ısıtma işleminin ardından peynirler süzülmemekte ve tuzlama işleminden sonra kalıplara alınmaktadır. Geleneksel üretimin yanı sıra endüstriyel üretimde prosesinde ise taze peynir, kuru tuzlama yapılmadan, kontrollü bir ortamda soğumaya bırakılmakta ve soğuma işlemi sonunda pastörize edilmiş soğuk ve tuzlu peynir altı suyundan 100 kg ağırlıktaki taşıyıcılara aktarılmaktadır. Salamura içerisine alınan Hellim peynirleri, istenilen tuz miktarı elde edilinceye kadar yaklaşık 18 saat kadar tutulmaktadır (İnce ve ark., 1998; Papademas, 2006). Üretimi tamamlanmış Hellim peyniri, taze veya olgunlaşmış şekilde piyasaya sunulmakta, olgunlaştırma işlemi ise genellikle salamura içerisinde yapılmaktadır (Gün ve Şimşek, 2011).

Türk Standartları 12513 numaralı “Hellim Peyniri” standardına göre, rutubet miktarının taze peynirde en çok %46, olgunlaştırılmış peynirde ise en çok %37 olması, tuz oranının taze peynirlerde en çok %3-5, olgunlaştırılmışlardan en çok %6-10 olması ve laktik asit cinsinden titrasyon asitliğinin ise en çok %3.5 olması gerektiği belirtilmiştir. Yağ içeriği bakımından ise, taze Hellim peynirinde en az %43, olgunlaştırılmış Hellim peynirinde ise en az %40 olması gerektiği belirtilmiştir. Mikrobiyolojik olarak ise Hellim peynirinde koagülaz pozitif *S. aureus* sayısının 5 örneğin ikisinde en çok 10^3 , üçünde ise en çok 10^2 adet olması, *Salmonella* spp. ve *Listeria monocytogenes*’in ise 25 gr peynir örneğinde bulunmaması istenmiştir (TSE, 2018).

Yapılan literatür taramasında, son yıllarda Türkiye’de sıklıkla tüketilmeye başlanan Hellim peynirinin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesinin araştırıldığı çalışma sayısının oldukça sınırlı sayıda olduğu görülmüştür. Bu kapsamda bu çalışmanın amacı, Elazığ piyasasında satışa sunulan Hellim peynirlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik analizlerinin yapılarak elde edilen verilerin literatürdeki mevcut eksikliğin giderilmesinde yardımcı olması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada materyal olarak Elazığ ilinde satışa sunulan, farklı ticari firmalara ve farklı seri numaralarına ait orijinal ambalajlarında satılan 30 adet Hellim peyniri örneği kullanılmıştır. Toplanan örnekler ambalajları açılmadan laboratuvara getirilmiş ve analize alınincaya kadar 4 ± 1 °C’de muhafaza edilmiştir. Örnekler her ay en az 10 numune olacak şekilde toplanmış ve mevcut çalışma Ekim-Aralık 2018 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Tüm örneklerde mikrobiyolojik ve kimyasal analizler gerçekleştirilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler için Hellim peyniri örnekleri aseptik şartlarda açılmış ve steril numune alma poşetlerine 25 gr olacak şekilde tartım yapılmıştır. Daha sonra üzerine steril 225 ml %0.1 peptonlu su (Merck, Darmstadt, Germany) ilave edilmiş ve stomacherde (Bagmixer®, Interscience, France) homojenize edilmiştir. Örneklerin 10^{-1} ’lik (1/10) dilüsyonu hazırlanmıştır. Homojenizasyon işlemi takiben 10^{-6} ’ya kadar desimal (ondalık) dilüsyonları yapılmıştır. Örneklerin her dilüsyondan plaklara ekimleri yapılmış ve inkübasyon süresi sonunda değerlendirmeye alınmıştır (Harrigan, 1998).

Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımında Plate Count Agar (PCA) (Merck, Darmstadt, Germany) kullanılmış ve petri kutuları 35 ± 1 °C’de 48 saat inkübasyona alınmıştır. İnkübasyon süresi sonunda petri kutularında üreyen koloniler sayılmıştır (Maturin ve Peeler, 2001). Maya-küf sayımı için Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC) (Biokar, Beauvais/France) kullanıldı. Plaklar 25 ± 1 °C’de 5 gün inkübe edilmiş ve inkübasyon süresi sonunda petri kutularında oluşan koloniler sayılmıştır (ICMSF, 1982). Koliform bakterilerin sayımı için Violet Red Bile Agar (VRB) (Biokar, Beauvais/France) kullanılmış ve petriker 37 ± 1 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda koyu kırmızı renkli spesifik özellikteki koloniler sayılmıştır (ISO 4832, 2006). Enterobacteriaceae sayımı için Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG) (Biokar, Beauvais/France) kullanılmış ve plaklar 37 ± 1 °C’de 24 saat inkübasyona süresi sonunda kırmızı koloniler sayılmıştır. Biyokimyasal doğrulama için plaklardan rastgele seçilen 5 adet koloniden oksidaz testi yapılmıştır (ISO 21528-2, 2004). *Staphylococcus-Micrococcus*’ların sayımı için Mannitol Salt Agar (Biokar, Beauvais/France) kullanılmış ve petriker 37 ± 1 °C’de 36-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda sarı renkli koloniler sayılmıştır (Bannerman, 2007). *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus* sayımı için de Man, Rogosa and Sharpe Agar (Biokar, Beauvais/France)

ve plaklar $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat inkübasyondan sonra koloniler sayılmıştır (ISO 15214, 1998). Laktik streptokoklar sayımı için M17 Agar (Biokar, Beauvais/France) kullanılmış ve plaklar $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48-72 saat inkübe edildikten sonra oluşan koloniler sayılmıştır (Terzaghi ve Sandine, 1975). *E. coli* sayımı için Tryptone Bile X Glucuronide Agar (Merck, Darmstadt, Germany) kullanılmış ve plaklar 30°C 'de 4 saat ve sonra 44°C 'de 18 saat inkübe edilmemiş ve inkübasyon süresi sonunda yeşil renkli koloniler sayılmıştır (ISO 16649-2, 2001). Anaerobik bakterilerin sayımında Brewer Anaerobik Agar (Merck, Darmstadt, Germany) kullanılmış ve plakların anaerobik koşullarda $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyonundan sonra oluşan koloniler değerlendirilmiştir (Brever, 1942). Koagülaz pozitif *Stafilokok* sayısının belirlenmesi için Egg yolk Tellurit (Oxoid SR54, United Kingdom) eklenen Baird Parker Agar (Oxoid CM0275, United Kingdom) kullanılmış ve plaklar $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 30 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon süresi sonunda besi yerinde gelişen spesifik koloniler Brain Heart Infusion Broth (BHI, CM0225, Oxoid, United Kingdom) veya Tyryptic Soy Broth'a (Biokar, Beauvais/France) aktarılmış ve 37°C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Steril boş tüpler içerisine 0.1 mL Broth'larda üreme gösteren kültürlerden eklenmiş ve üzerlerine üretici firmanın talimatına göre hazırlanan Bactident Coagulase'dan (Merck, 1.13306-0001, EDTA ilaveli Liyofilize Tavşan Plazması) 0.3 mL ilave edilmiştir. Daha sonra tüpler 37°C 'de 4 saat inkübasyona alınmıştır. Inkübasyon süresi sonunda tüpler içerisinde jel ya da pıhtı oluşumu değerlendirilmiştir. Koagülaz test pozitif olan kolonilerin miktarı şüpheli kolonilerin sayısı ile çarpılıp, beşe bölünmüş ve koagülaz pozitif *Stafilokok* miktarı hesaplanmıştır (ISO 6888-1, 2015; Lancette ve Beneett, 2001).

Kimyasal analizler için Peynir örneklerinin toplam asitlik değerleri titrasyon asitliği (TS,591) ile, pH tayini dijital pH metre (Selecta - pH 2001) ve su aktivitesi (aw) değerleri su aktivitesi cihazı (TESTO-650) ile belirlenmiştir (Lang ve Sternberg, 1980). Peynir örneklerinin kuru madde gravimetrik metotla (TS, 591), tuz Mohr metodu (TS EN ISO 5943) ile ve yağ Van Gulik yöntemi (TS, 3433) ile yapıldı. Gripon ve ark. (1975) tarafından belirtilen yöntemle göre hazırlanan peynir örneklerinin toplam azot ve suda çözünen azot mikro Kjeldahl yöntemi (IDF, 1993) ile belirlenmiş ve bu değerler 6,38 ile çarpılarak protein içerikleri hesaplanmıştır. Kül miktarları ise AOAC'nin (Association of Official Analytical Chemist) belirttiği metoda göre tayin edilmiştir (AOAC, 1984).

İstatistiksel analizler için elde edilen mikrobiyolojik veriler logaritmaya çevrilerek

ortalama ve standart sapma değerleri belirlenmiştir. Kimyasal analizlerin sonuçlarında da ortalama ve standart sapma değerleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada Hellim peyniri örneklerinden mikrobiyolojik analizler sonucunda elde edilen verilerin hem mikroorganizmalar ve mikroorganizma gruplarının birbirleri ile ilişkilerini hem de kimyasal verilerin kendi aralarında ve mikrobiyolojik verilerle olan ilişkilerini ortaya koymak amacıyla korelasyon analizi yapılmıştır. Korelasyon katsayılarının belirlenmesinde pearson korelasyon analizi yapılmıştır. İstatistiksel analizlerde SPSS paket programı kullanılmıştır (SPSS, 2012).

Bulgular

İncelenen 30 adet hellim peyniri örneklerine ait mikrobiyolojik analiz sonuçları Tablo 1 ve Tablo 2'de, kimyasal analiz sonuçları Tablo 3'de ve pearson korelasyon analiz sonuçları ise Tablo 4'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Hellim peynirlerinin mikrobiyolojik analiz sonuçları (\log_{10} kob/g).

Mikroorganizma	En az	En çok	Ortalama \pm Std. Sapma
TMAB	2.90	8.78	6.39 \pm 1.88
Koliform	<1.00	2.73	2.29 \pm 0.73
<i>Staph.-Micro.</i>	<1.00	5.91	2.63 \pm 1.62
Maya-Küf	<1.00	4.58	3.16 \pm 1.14
<i>Lac.-Leu.-Pedi.</i>	2.00	7.97	5.43 \pm 1.73
Lactic Streptococ	2.90	8.26	6.04 \pm 1.63
<i>Enterobacteriaceae</i>	<1.00	3.80	2.65 \pm 0.90
<i>Staph. aureus</i>	<1.00	5.74	2.81 \pm 1.54
Anaerob	1.48	6.26	3.45 \pm 1.26
<i>E. coli</i>	-	-	-
Koagulaz (+) <i>Staph.aureus</i>	-	-	-

Korelasyon analizi sonucu elde edilen kimyasal bulgular incelendiği zaman tuz miktarı ile yağ miktarı arasında istatistiki olarak önemli negatif bir korelasyon ($r=-0.669$) olduğu saptanmıştır ($P<0,01$). Mikrobiyolojik veriler arasında ise *Enterobacteriaceae* grubu ile *Staphylococcus-Micrococcus* arasında ise pozitif bir korelasyon olduğu ($r=0.424$) ve bu korelasyon katsayısının istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Benzer şekilde koliform grup mikroorganizmalar ile *S. aureus* arasında da pozitif bir korelasyon olduğu ($r=0.416$) olduğu ve bu değer istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). *S. aureus* ile anaerob mikroorganizmalar arasında da pozitif bir korelasyon olduğu ($r=0.520$) ve bu korelasyonun istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.01$).

Tablo 2. Hellim peyniri örneklerinde tespit edilen mikroorganizma sayılarının n sayıları ve % dağılımları.

Mikroor.	log ₁₀ kob/g											
	<1.00		1.00-1.99		2.00-3.99		4.00-5.99		6.00-7.99		>8.00	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TMAB	-	-	-	-	4	13.33	5	16.67	15	50	6	20
Koliform	26	86.67	-	-	4	13.33	-	-	-	-	-	-
Staph.-Micro.	4	13.33	3	10	18	60	5	16.67	-	-	-	-
Maya-Küf	19	63.33	2	6.67	6	20	3	10	-	-	-	-
Lac.-Leu.-Pedio.	-	-	-	-	12	40	14	46.67	4	13.33	-	-
Lactic Streptococ	-	-	-	-	4	13.33	7	23.33	18	60	1	3.33
Enterobac.	22	73.33	2	6.67	6	20	-	-	-	-	-	-
S.aureus	6	20	2	6.67	18	60	4	13.33	-	-	-	-
Anaerob	2	6.67	3	10	16	53.33	7	23.33	2	6.67	-	-
E. coli	30	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Koa..(+) <i>S.aureus</i>	30	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 3. Hellim peynirlerinin kimyasal analiz sonuçları.

Analiz	En az	En çok	Ortalama±Std. Sapma
Kuru madde (%)	37.21	54.88	48.77±5.25
Kül (Kütlece) (%)	2.72	5.72	4.84±0.78
Tuz (Kuru maddede) (%)	4.00	12.13	6.84±2.27
Yağ (Kuru maddede) (%)	33.34	49.06	41.58±5.36
Protein (%)	22.86	39.11	30.33±7.38
pH	6.16	6.95	6.58±0.23
a _w (su aktivite değeri)	0.830	0.921	0.88±0.03
Asitlik (% L.A. cinsinden)	0.07	0.29	0.15±0.07

Tablo 4. Hellim peynirine ait mikrobiyolojik ve kimyasal verilerin pearson korelasyon katsayıları.

	Kül	Asitlik	Tuz	pH	aw	Yağ	Protein	TMAB	Lactoba.	Lac. Strep.	Enterobac.	Koliform	Staph-Micro.	S.aureus	Maya-küf	Anaerob
K.M.	0.402*	-0.173	-0.044	0.124	-0.468*	-0.410	0.202	0.271	0.192	0.270	0.175	0.328	0.096	0.052	-0.106	0.323
Kül		0.425*	0.276	-0.225	-0.118	-0.301	-0.653	0.378*	-0.005	0.243	0.258	-0.060	0.085	-0.127	0.196	-0.144
Asitlik			0.436*	0.153	0.104	-0.180	-0.424	0.025	-0.177	-0.086	-0.011	-0.230	0.142	-0.351	0.047	-0.297
Tuz				0.042	-0.366	-0.669**	-0.815	-0.196	0.217	0.180	0.119	-0.220	0.271	-0.324	0.370	-0.363
pH					0.049	0.262	-0.395	-0.180	-0.067	-0.122	-0.089	0.181	-0.013	0.091	-0.181	-0.039
aw						0.517*	0.045	-0.329	-0.315	-0.409	-0.411	-0.350	-0.454	0.302	-0.006	-0.155
Yağ							-0.381	-0.265	-0.360	-0.197	-0.437	-0.178	-0.719	0.039	0.060	-0.312
Protein								0.815	0.241	-0.768	-0.781	0.460	0.711	0.791	0.174	0.759
TMAB									0.302	0.418*	0.413*	0.362	0.249	0.046	0.055	0.425*
Lactoba.										0.626***	0.439*	0.262	0.025	0.094	0.184	0.275
Lac. Strep.											0.345	0.255	0.136	0.285	0.275	0.318
Enterobac.												0.645***	0.424*	0.237	0.053	0.465*
Koliform													0.489**	0.416*	-0.048	0.740***
Staph-Micro.														0.302	-0.267	0.390*
S.aureus															-0.282	0.520**
Maya-küf																-0.183

Tartışma ve Sonuç

Toplam aerob mezofilik bakteri sayısı (TAMB) incelenen hellim peyniri örneklerinde en az 2.90, en çok 8.78 ve ortalama olarak $6.39 \pm 1.88 \log_{10}$ kob/g düzeyinde bulunmuştur (Tablo 1). Bu bakteri grubunun incelenen hellim peynirlerinin 21 (%70) $10^6 \log_{10}$ kob/g'dan, 6 (%20) ise $10^8 \log_{10}$ kob/g'dan fazla olduğu görüldü. TAMB sayısının yüksek bulunması üretimde genellikle çiğ süt kullanılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Elde edilen bu değerlerin Usca ve Erol'un (1998) bulmuş oldukları sayıdan (4.51) yüksek ancak Demirci ve Arıcı (1989) ile Williams ve Syson'un (1984) bulmuş oldukları değerden (8.60) düşük seviyelerde olduğu tespit edilmiştir.

Hijyen indikatörü olarak kabul gören ve özellikle peynirlerde lezzet, yapı ve aroma bozukluklarına neden olan bakteri grubu koliform grubu bakterilerdir. Bu grup bakteriler ayrıca peynirlerin olgunlaşması sırasında teknolojik hatalara da neden olabilmektedirler. Peynirlerdeki sayıları uygulanan teknolojik işlemlere, yapılan peynirin türüne, peynirin taze veya olgunlaşmış olmasına bağlı olarak değişebilmektedir. İncelenen hellim peyniri örneklerinde en az <1,00, en çok 2.73 ve ortalama olarak ise $2.29 \pm 0.73 \log_{10}$ kob/g seviyesinde bulundu (Tablo 1). Örneklerdeki mikrobiyolojik dağılıma bakıldığında incelenen 26 örnekte sayının tespit edilebilir seviyenin altında olduğu ve 4 (%13.33) örnekte ise sayının 2.00-3.99 \log_{10} kob/g düzeyinde olduğu görüldü (Tablo 2). Hellim peyniri 1998 yılında yayınlanan standardına göre (TSE, 1998) incelenen 5 adet örneğin en fazla 1'inde koliform sayısının 10^2 kob/g olması gerektiği belirtilirken, 2018 yılında değiştirilen aynı standartta mikrobiyolojik kriterler arasında koliform bakteri sayısı ile ilgili bir limit bulunmamaktadır. Buna göre analiz edilen 30 adet hellim peyniri örneğinin 4'ünde (%13.33) adı geçen eski standarda uyum göstermediği ancak değiştirilen standarda göre uygun olduğu belirlenmiştir. İncelenen hellim peyniri örneklerinde tespit edilen koliform grubu bakterilerin düzeylerinin bu konuda çalışma yapan bazı araştırmacıların (Usca ve Demirci, 1998) buldukları seviyeden oldukça düşük seviyelerde (%26 ve %31.5) olduğu görüldü. Atasever ve ark. (1999) deneysel olarak yapmış oldukları hellim peynirlerinde muhafaza süresine bağlı olarak koliform grubu mikroorganizmaların sürekli olarak azalma gösterdiğini bildirmişlerdir.

Staphylococcus'lar insan ya da hayvansal kökenli olduklarından dolayı gıdalarda fazla sayılarda olmaları sanitasyonun ya da yetersiz ısı işlemlerini göstermektedir. *Micrococcus*'lar ise insan ve hayvanların derilerinde ayrıca toprakta ve sularda da mevcut olmasıyla çoğu yerde

bulunabilen ve gıdalarda bozulmaya yol açan önemli bakterilerdir (Banwart, 1989; Jay, 2000). Hellim peynirlerinde *Staphylococcus-Micrococcus* sayısı en az <1.00, en çok 5.91 ve ortalama olarak ise $2.63 \pm 1.62 \log_{10}$ kob/g olarak saptanmıştır (Tablo 1). Tablo 2 incelendiğinde bu grup mikroorganizmaların 1.00-6.00 \log_{10} kob/g arasında sayıldıkları, 4 (%13.33) örnekte sayının tespit edilebilir seviyenin altında olduğu ve 18 (%60) örnekte ise sayının 2.00-3.99 \log_{10} kob/g arasında olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 2).

Maya ve küfler genelde gıda maddelerinin raf ömrü, kalitesi ve lezzetine üzerine etkili olmaktadır. İncelenen hellim peyniri örneklerinde maya ve küfler en az <1.00, en çok 4.58 ve ortalama olarak ise $3.16 \pm 1.14 \log_{10}$ kob/g düzeyinde bulunmuştur (Tablo 1). Bu mikroorganizmaların genel dağılımına bakıldığı zaman ise 19 (%63.33) örnekte sayının tespit edilebilir seviyenin altında olduğu, 2 tanesinde sayının 1.00-1.99 \log_{10} kob/g arasında ve 9 (%30) örnekte ise sayının 2.00-5.99 \log_{10} kob/g arasında olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 2). Koliform grup bakteri sayılarında olduğu gibi Hellim peynirine ait olan 1998 yılında yayınlanan standarda göre (TSE, 1998) incelenen 5 adet örneğin en fazla birisinde maya ve küf sayısının 10^2 kob/g olması gerektiği bildirilmektedir. Ancak 2018 yılında revize edilen aynı standartta maya-küf sayısı ile ilgili bir limit bulunmamaktadır. Elde edilen bu sonuçların bazı araştırmacıların (Atasever ve ark., 1999; Usca ve Erol, 1998) sonuçlarından oldukça düşük seviyelerde olduğu gözlemlendi. Bu durum muhtemelen peynir yapımında kullanılan sütlerin kalitesinden, peynirleri muhafaza şartlarından ve ambalaj materyallerinin kalitelerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca maya-küf sayısının yüksek çıkması ürünlerin hijyenik şartlarda yapılmadığının bir kanıtı olabilmektedir.

Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus (LLP)'lar ürünlerin kendine özgü lezzet, aroma ve raf ömürleri üzerine olumlu etkiler yapan ve laktik asit bakteri grubunda bulunan bir bakteri grubudur. Bu grup mikroorganizmaların sayıları süttten gelen laktik asit bakteri sayısına ve peynirin üretim aşamasında havadan karışan bu grup mikroorganizmalarla kontamine olma seviyesine bağlı olarak değişmektedir. Laktik asit bakterilerinin tüm peynir türlerinde yüksek sayıda olması arzu edilen bir durumdur. Aksi halde koliform grubu başta olmak üzere diğer istenmeyen bakteri gruplarının üremesi ve faaliyetleri önlenememektedir. Dolayısıyla peynirlerde kokuşma, lezzet ve aroma bozukluğu ve insan sağlığını tehdit edebilecek seviyede zararlı bakterilerin çoğalması kaçınılmaz olmaktadır (Kurt ve ark., 1991; Tekinşen ve Akar, 2017). *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*'lar en az

2.00, en çok 7.97 ve ortalama olarak ise $5.43 \pm 1.73 \log_{10}$ kob/g olarak saptanmıştır (Tablo 1). Tablo 2 incelendiği zaman 18 (%60) örnekte LLP sayısının $4.00-7.99 \log_{10}$ kob/g arasında olduğu belirlenmiştir.

Laktik streptokok grubu bakteriler süt ürünleri üretiminde starter kültür amaçlı olarak kullanılan başka bir bakteri grubudur. Ürünlerin lezzet, yapı, aroma ve raf ömürleri üzerinde etkilidirler. İlave edildikleri süt ürünlerinde genel mikrofloraya hakim olabilen bir bakteri grubudur. Hellim peynirlerinde en az 2.90, en çok 8.26 ve ortalama olarak ise $6.04 \pm 1.63 \log_{10}$ kob/g düzeyinde bulunmuştur (Tablo 1). Mikroorganizmaların genel dağılımlarına bakıldığında 25 (%83.33) örnekte sayının $4.00-7.99 \log_{10}$ kob/g arasında olduğu 1 (%3.33) örnekte ise $>8.00 \log_{10}$ kob/g düzeyinde olduğu bulunmuştur (Tablo 2).

Enterobacteriaceae ailesine ait bakteriler ürünlerin hijyenik kalitelerinin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir ve ürünlerin mikrobiyal kaliteleri hakkında fikir vermektedir. Analiz edilen hellim peyniri örneklerinde sayı en az <1.00 , en çok 3.80 ve ortalama olarak ise $2.65 \pm 0.90 \log_{10}$ kob/g olarak belirlenmiştir (Tablo 1). Tablo 2 incelendiği zaman 22 (%73.33) örnekte sayının $<1.00 \log_{10}$ kob/g'dan az olduğu, 2 (%6.67) örnekte $1.00-1.99 \log_{10}$ kob/g ve 6 (%20) örnekte ise $2.00-3.99 \log_{10}$ kob/g arasında olduğu saptanmıştır (Tablo 2). Hellim peyniri yapım teknolojisi gereği çiğ süttten ve starter kültür katılmadan yapılan ve telemesi ısı işlem gören bir üründür. Bu nedenle hijyen indikatörü olarak da kabul gören bu bakteri grubunun ürünlerde üremesi muhtemelen ısı işleminden sonraki aşamalarda kontaminasyon olduğunu düşündürmektedir. Çalışmada elde edilen bulguların Usca ve Erol'un (1998) hellim peynirlerinde tespit ettikleri seviyeden (%52'sinde $3.00 \log_{10}$ kob/g'dan fazla) oldukça düşük olduğu gözlemlendi.

Bazı *Staphylococcus* suşlarının gıda kaynaklı zehirlenmelerinde önemli rol oynadıkları bilinmektedir. Bu sebeple özellikle *S. aureus*'ün gıdalarda bulunmaması gerekmektedir. Bu bakteriye en az <1.00 , en çok 5.74 ve ortalama olarak ise $2.81 \pm 0.90 \log_{10}$ kob/g olarak tespit edilmiştir (Tablo 1). İncelenen hellim örneklerinin 6 (%20) tanesinde sayı tespit edilebilir seviyenin altında olduğu belirlenmiştir. Örneklerin 26 (%80) tanesinde ise sayının $1.00-5.99 \log_{10}$ kob/g arasında olduğu bulunmuştur (Tablo 2). Ancak tespit edilen *S. aureus*'ün hiçbirinde koagülaz pozitif *stafilokok* suşuna rastlanılmadı. Hellim peyniri yapım teknolojisi gereği telemesi ısı işlen gören bir peynir olmasına rağmen *S. aureus*'ün bulunması muhtemelen ısı işleminden sonra personel hijyen eksikliği, alet ve ekipmanların kullanımındaki hijyen eksikliği ve soğuk zincirde meydana gelebilecek

aksaklıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Analiz edilen hellim peyniri örneklerinde anaerob bakteri sayısı en az 1.48, en çok 6.26 ve ortalama olarak ise $3.45 \pm 1.26 \log_{10}$ kob/g seviyesinde tespit edilmiştir (Tablo 1). Bu mikroorganizmaların genel dağılımına bakıldığında ise incelenen 2 (%6.67) örnekte sayının $<1.0 \log_{10}$ kob/g'dan az olduğu, 3 (%10) örnekte $1.00-1.99 \log_{10}$ kob/g arasında, 16 (%53.33) örnekte $2.00-3.99 \log_{10}$ kob/g arasında, 7 (%23.33) $4.00-5.99 \log_{10}$ kob/g arasında ve 2 (%6.67) örnekte ise $6.00-7.99 \log_{10}$ kob/g arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Hijyenik kalitenin bir göstergesi olan ve gıda zehirlenmelerine neden olan bakterilerden birisi de *E. coli*'dir. Analiz edilen hellim peynirlerinin tamamında (%100) bu bakteriye rastlanılmadı (Tablo 1 ve Tablo 2). Elde edilen korelasyon bulguları, yapılan literatür taramasında daha önce bu konuda yapılan çalışmalarda böyle bir veriyle karşılaşılmadığı için tartışılmamıştır. Ancak bu çalışmada elde edilen korelasyon bulgular göstermektedir ki bazı mikroorganizma grupları (*Enterobacteriaceae-Staphylococcus* ve *Micrococcus*; Anaerob-*S. aureus*; Koliform-*Staph. aureus*) arasındaki istatistiksel olarak önemli korelasyon katsayıları Hellim peynirinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesinde önemli bir gösterge olarak kullanılabilme potansiyelini göstermektedir.

Kimyasal olarak hellim peynirleri incelendiği zaman kuru madde miktarı en az %37.21, en çok % 54.88 ve ortalama olarak 48.77 ± 5.25 saptandı (Tablo 3). Hellim peynirine ait olan standarda göre (TSE, 2018) kuru madde miktarı taze hellim peynirinde en az %54 olgunlaştırılmış hellim peynirlerinde ise en az %63 olmalıdır. Buna göre analiz edilen olgunlaştırılmış 30 adet hellim peynirinin tamamının standarda uygunluk göstermediği belirlenmiştir. Tespit edilen kuru madde miktarının bazı araştırmacıların (Atasever ve ark., 1999; Demirci ve Arıcı, 1989) hellim peynirlerinde buldukları değerlerinden (%58.89 ve %60.21) daha düşük seviyelerde olduğu görülmüştür.

Gıda maddelerinde bulunan kül miktarı gıdaların kalitesini belirleyen parametrelerden birisidir. İncelenen hellim peynirlerinde kül miktarı en az %2.72, en çok %5.72 ve ortalama olarak ise 4.84 ± 0.78 olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). Elde edilen bu değerlerin bazı araştırmacıların (Atasever ve ark., 1999; Demirci ve Arıcı, 1989) bulgularından (%5.76 ve %7.17) düşük seviyelerde olduğu saptandı.

Gıdalara ilave edilen tuz miktarı ürünlerin lezzetine, aromasına ve raf ömrünü etki etmektedir. Analize alınan hellim peynirlerinde tuz miktarı (kuru

maddede) en az % 4.00, en çok %12.13 ve ortalama değer olarak da %6.84±2.27 tespit edilmiştir (Tablo 3). Hellim peyniri standardına göre tuz miktarı (kuru maddede) taze hellim peynirinde en çok %5 olgunlaştırılmış hellim peynirinde ise en çok %10 olmalıdır. Buna göre analiz edilen 30 adet olgunlaştırılmış hellim peyniri örneğinin sadece 1 (%3.33) tanesinin standartlara uygunluk göstermediği belirlendi. Tespit edilen bu değerlerin bazı araştırmacıların (Atasever ve ark., 1999; Demirci ve Arıcı, 1989) bulgularından (%5.09 ve %6.14) çok düşük değerlerde olduğu görüldü.

Gıda maddelerinde bulunan yağ miktarı ürünlere lezzet ve aroma vermektedir. Aynı zamanda ürünlerin kalitesini de belirlemede yardımcı olmaktadır. İncelenen hellim peynirlerinde yağ miktarı (kuru maddede) en az %33.34, en çok %49.06 ve ortalama olarak ise %41.58±5.36 değerinde bulunmuştur (Tablo 3). Türk Patent Enstitüsü'nün (TPE, 2008) vermiş olduğu Coğrafi İşaret belgesine göre; kuru madde de yağ miktarı en az %43 olduğu bildirilmiştir. Buna göre analiz edilen hellim peynirlerinin sadece 6 tanesinde yağ miktarının belirtilen normlara uygunluk gösterdiği belirlendi. Protein miktarı en az %22.86, en çok %39.11 ve ortalama olarak ise %30.33±7.38 düzeyinde olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 3).

pH değeri mikroorganizmaların üremeleri ve gıdaların raf ömürleri üzerinde etkili olan önemli kriterlerden biridir. pH değeri en az 6.16, en çok 6.95 ve ortalama olarak ise 6.58±0.23 olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Hellim peyniri standardına göre (TSE, 2018); pH değeri en çok 6.6 olmalıdır. Buna göre analiz edilen hellim peynirlerinin pH değerlerinin yarısının (%50) bu değerlere uymadığı ve standartların üstünde değerlere sahip oldukları görüldü. Su aktivite değeri (a_w) mikroorganizmaların gelişmeleri için gerekli olan ve gıdaların kalitelerinin korunmasında etkili olan önemli bariyerlerden biridir. En az 0.830 ve en çok 0.921 ortalama olarak ise 0.88±0.03 seviyesinde saptandı (Tablo 3).

Asitlik değeri, ürünlerin kimyasal olarak dayanıklılığını, standartlara uygun olup olmadığını ve kimyasal kalitesinin belirlenmesinde önemli parametrelerden birisidir. En az %0.07 l.a (laktik asit), en çok %0.29 l.a ve ortalama olarak ise 0.15±0.07 l.a olarak bulundu (Tablo 3). Hellim peyniri standardına göre laktik asit cinsinden en çok %3.5 olmalıdır. Buna göre incelenen örneklerin tamamının (%100) standartlarla uyum içerisinde olduğu görüldü. Elde edilen bu değerlerin Atasever ve ark. (1999) tarafından saptanmış oldukları %0.53 asitlik değerinden oldukça düşük seviyelerde olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, hellim peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesinin iyileştirilmesi ve halk sağlığı bakımından kaliteli ürünlerin elde edilmesi

için üretimden tüketime kadar olan tüm aşamalarında kritik kontrol noktalarına gereken önem verilmeli, kontaminasyon riski azaltılmalı ve tüm üretim aşamalarında gerekli hijyenik önlemler alınmalıdır.

Kaynaklar

- Association of Official Analytical Chemists, 1984: Official Methods of Analysis. 14th ed., Association of Analytical Chemists, Washington, DC.
- Atasever M, Keleş A, Uçar G, Güner A, 1999: Farklı ambalajlarda muhafaza edilen hellim peynirinin olgunlaşması süresince bazı kalite niteliklerindeki değişimler. *Vet Bil Derg*, 15, 1, 55-64.
- Bannerman, T. L, 2007: *Staphylococcus, Micrococcus and other catalase-positive cocci. Manual of clinical microbiology*, 390-411.
- Banwart GJ, 1989: Basic Food Microbiology, 1. Food Microbiology. 2nd Edition New York, Avi Book Published by Van Nostrand Reinhold.
- Brewer, J.H, 1942: A new Petridish and technique for use in the cultivation of anaerobes and microaerophiles. *Science*, 95; 587
- Demirci M, Arıcı M, 1989: Hellim peynirinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. *Bursa I. Uluslararası Gıda Sempozyumu*, Bursa.
- Erbay Z, Koca N, Üçüncü M, 2010: Hellim peynirinin bileşimi ile renk ve dokusal özellikleri arasındaki ilişkiler. *Gıda*, 35 (5): 347-353.
- Gripon J.C, Desmazeaud M.J, Bars J.L, Bergere J.L. 1975: Rolle des microorganismes et des enzymes du cours de la maturation. *Le Lait* 55: 502-516.
- Gün İ, Şimşek B, 2011: Türkiye'de ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde üretilen hellim peynirlerinin bazı Özelliklerinin karşılaştırılması. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Dergisi*, 15(1): 43-53.
- Harrigan WF, 1998: Laboratory methods in food microbiology. 3rd ed., Academic Press, London.
- IBM SPSS, IBM Corp. Released 2012: IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: USA
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), 1982: *Microorganism in Foods 1. Their Significance and Methods of Enumeration*, London, Univto Toronto Press.
- International Dairy Federation (IDF), 1993: Milk Determination of Nitrogen Content. *IDF Standard 20B*. Brussels, Belgium.
- International Organization for Standardization (ISO) 15214, 1998: Microbiology of food and animal feeding stuffs -Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria - Colony-count technique at 30 degrees C. 21.
- International Organization for Standardization (ISO) 16649-2, 2001: Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection and enumeration of β -glucuronidase-positive Escherichia coli. Part 2, Colony-count technique a 44°C using 5-bromo-4chloro-3-indoly-beta-Dglucuronide, Geneve, Switzerland.

- International Organization for Standardization (ISO) 21528-2, 2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal methods for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae*-Part 2: Colony-count method.
- International Organization for Standardization (ISO) 4832, 2006: Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration on coliforms-Colony-count technique.
- International Organization for Standardization (ISO/CD) 6888-1, 2015: Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.
- İnce H, Çıldam, T, Özbağ, M, 1998: Hellim peyniri. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Geleneksel Süt Ürünleri, 89-95.
- Jay MJ, 2000: Modern Food Microbiology. 6th ed., Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, USA.
- Kaminarides S, Rogoti E, Mallatou H, 2000: Comparison of the characteristics of halloumi cheese made from ovine milk, caprine milk or mixtures of these milks. *Int J Dairy Technol*, 53(3), 100-105.
- Kurt A, Çağlar A, Çakmakçı S, 1991: Erzincan (Şavak) tulum peynirinin mikrobiyolojik özellikleri üzerinde bir araştırma. *Doğa Tr J of Vet and Anim Sci*, 16, 41-50.
- Lancette GA, Bennett RW, 2001: *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. In "Microbiological Examination of Foods", Ed; Downes FP, 387-404, *American Public Health Association*, Washington DC.
- Lang KW, Sternberg MP, 1980: Calculation of moisture content of a formulated food system to any shown water activity. *Journal of Food Science*, 45: 1228-1230.
- Maturin LJ, Peeler JT, 2001: Bacteriological Analytical Manual. chapter 3. United States Food and Drug Administration (US FDA); Aerobic plate count. http://www.fda.gov/Food/Food_Science_Research/Laboratory_Methods/ucm063346.htm. Erişim tarihi; 15.03.2019.
- Papademas P, Robinson R. K, 1998: Halloumi cheese: the product and its characteristics. *International Journal of Dairy Technology*, 51(3), 98-103.
- Papademas P, 2006: Halloumi Cheese In: Brined Cheeses. *Tamime A. Ed.*, Blackwell Publishing, S 117-138.
- Robinson RK, 1991: Halloumi cheese-the product and its manufacture. In "Feta and Related Cheese, Ed., RK Robinson, A.Y. Tamime, 144-159. Ellis Horwood, London.
- Tekinşen KK, Akar D, 2017: Erzincan tulum peyniri. *Ata Üniv Vet Bil Derg*, 12 (2), 218-226.
- Terzaghi BE, Sandine WE, 1975: Improve medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Appl Microbiol*, 29, 807-813.
- Türk Patent Enstitüsü (TPE), 2008: Hellim Peyniri. C2008/046, Türk Patent Enstitüsü Coğrafi İşaret Tescil Belgesi, Ankara.
- Türk Standartları Enstitüsü (TSE), 1998: Türk Standartları Enstitüsü, Hellim Peyniri, TS: 12513, Ankara.
- Türk Standartları Enstitüsü (TSE), 2013: Beyaz Peyniri Standardı, TS. 591. Ankara.
- Türk Standartları Enstitüsü (TSE), 2015: Peynir, Yağ muhtevası Taynini, Van Gulik Metodu TS.3433. Ankara.
- Türk Standartları Enstitüsü (TSE), 2018: Türk Standartları Enstitüsü, Hellim Peyniri, TS: 12513 Ankara.
- Türk Standartları Enstitüsü, TS EN ISO 5943, 2007: Peynir ve eritme peynir ürünleri- Klorür miktarı tayini- Potansiyometrik titrasyon metodu
- Usca A, Erol İ, 1998: Hellim peynirinin mikrobiyolojik kalitesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 45, 97-103.
- Williams MR, Syson R, 1984: The bacteriological quality of Cyprus cheese. *Environ Health*, 92, 146-149.

*Yazışma Adresi: Mehmet Emin AYDEMİR

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, 63200 Şanlıurfa, Türkiye

E-mail: aydemiremin23@gmail.com

Türkiye’de Süt Sığırcılığı İşletmelerinde Mastitis Nedeniyle Oluşan Finansal Kayıpların Tahmin Edilmesi

Savaş SARIÖZKAN^{1,a,*}

¹Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği AD, Kayseri, Türkiye

^aORCID: 0000-0003-2491-5152

Geliş Tarihi: 15.04.2019

Kabul Tarihi: 21.10.2019

Özet: Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de süt sığırcılığı işletmelerinde görülen mastitis vakalarına bağlı olarak oluşan finansal kayıpları tahmin etmektir. Bu amaçla, daha önce yapılan çalışmalara ait insidens oranları ve resmi veriler dikkate alınarak 2019 yılı cari fiyatları üzerinden kayıp hesaplamaları yapılmıştır. Hastalığın maliyeti hafif/orta ve şiddetli vakalar için hesaplanırken, bu hesaplama süt kaybı, tedavi/kontrol harcamaları ve erken reformasyon giderlerinin toplamından hastalık nedeniyle oluşan yem tasarrufu çıkarılarak yapılmıştır. Araştırma bulgularına göre hafif/orta şiddetli bir mastitis vakasında 528.4 ₺ (310 L süte eşdeğer) kayıp oluşurken, şiddetli vakalarda bu miktar 1207.6 ₺’ye (710 L süte eşdeğer) çıkmaktadır. Hesaplanan kayıplar Türkiye için genellendiğinde, mastitis nedeniyle toplam 1385856000 ₺ kayıp olduğu tahmin edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmanın Türkiye’de hayvancılık politikalarının oluşumunda hastalıklarla mücadele kapsamında tahsis edilecek kaynakların daha etkin kullanılabilmesine olanak sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: İnek, Ekonomik Kayıp, Mastitis, Süt, Türkiye.

Estimation the Financial Losses Due to Mastitis in Turkish Dairy Enterprises

Abstract: The aim of this study was to estimate the financial losses that occur due to mastitis cases in dairy farms in Turkey. For estimations current prices in 2019 was used by considering the official data on the mastitis incidence and previous studies. The cost of the disease was calculated for mild/moderate and severe cases. The calculation was made by subtracting the feed saving caused by decreased feed consumption from the sum of milk loss, treatment / control expenditures and early reforming expenses. As a result of the study, a loss of 528.4 ₺ (equivalent to 310 L milk) occurred in a mild/moderate mastitis case, whereas in severe cases this amount increased to 1,207.6 ₺ (equivalent to 710 L milk). When the calculated losses were generalized for Turkey it was estimated that a total of 1,385,856,000 ₺ loss was caused due to mastitis. In conclusion, the data obtained from this study provided information for livestock policy in Turkey in order for an efficient use of the resources to fight against the mastitis.

Keywords: Cow, Economic loss, Mastitis, Milk, Turkey.

Giriş

Mastitis, süt sığırcılığı işletmelerinde çok sık karşılaşılan ve maliyeti yüksek hastalıklardan birisidir. Klinik ve subklinik olmak üzere 2 formu olan hastalığın süt verim/kalitesinde azalma, veteriner-sağlık ve kontrol harcamalarında artma, atık süt, ilave işçilik ve erken reformasyon nedeniyle çok yönlü finansal yansımaları olmakta ve işletmelerde ciddi kayıplar oluşturmaktadır (Ashraf ve ark., 2018; Leitner ve ark., 2019; Moru ve ark., 2018; Yang ve ark., 2019). Hayvancılıkta hastalık kaynaklı kayıpları kontrol altında tutan ve tedavi masraflarını minimize eden işletmeler daha başarılı olmakta ve karlı çalışmaktadır. Aksi halde hem işletme düzeyinde hem de ulusal düzeyde oluşan kayıpların boyutu artmakta ve üretim miktarı da azalacağından sütün daha yüksek fiyata tüketilmesi durumu ile karşı karşıya kalınmaktadır.

Türkiye’de süt sığırcılığı işletmelerinde farklı il ve bölge düzeyinde mastitis görülme sıklığı üzerine

yürütülmüş çok sayıda çalışma vardır (Alaçam ve ark., 1986; Rışvanlı, 2001; Sabuncuoğlu ve ark., 2003; Tel ve ark., 2009). Hastalığın işletme düzeyinde oluşturduğu finansal kayıpların hesaplandığı çalışmalara rastlamak da mümkündür (Şentürk ve ark., 2014; Yalçın ve ark., 2010; Yıldız ve Yalçın, 2014), ancak ulusal düzeyde mastitis nedeniyle oluşan toplam kayıpların tahmin edildiği çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın amacı, Türkiye’de süt sığırcılığı işletmelerinde mastitis nedeniyle meydana gelen finansal kayıpların tahmin edilmesidir. Aynı zamanda bu çalışma, hem hayvan başına meydana gelen kayıp miktarının güncellenmesine hem de hayvancılık işletmelerinde ve ulusal anlamda politika oluştururken ayrılacak kaynakların tahsisinde doğru kararlar verilebilmesine olanak sağlayacaktır.

Materyal ve Metot

Türkiye’de daha önce ineklerde mastitis hastalığının yaygınlığı üzerine yapılan çalışmalarda elde edilen insidens oranları dikkate alınarak hastalığın hafif/orta ve şiddetli seyri halinde ortaya çıkan finansal kayıplar 2019 yılı cari fiyatları üzerinden hesaplanmıştır. Diğer verilerde (süt verimi, süt fiyatı, süt teşvik fiyatı, işçi maaşı vs) resmi kayıtlardan yararlanılmıştır. Sağmal hayvan sayısı ve laktasyon süt verimine ait 2019 yılı verileri kullanılmıştır (Anonim, 2019b).

Günlük süt verimi (L) = Laktasyon süt verimi (L) / 305 gün şeklinde hesaplanmıştır.

Hayvan başına günlük yem maliyeti 2019 yılı piyasa fiyatları dikkate alınarak hesaplanmıştır;

Yem maliyeti (₺/gün) = Konsantre yem (6 kg/gün) + mısır silajı (10 kg/gün) + yonca (4 kg/gün) + saman (3 kg/gün)

Günlük işçilik maliyeti hesabı, 2019 yılında brüt asgari ücret 2600 ₺/ay olduğundan, işçilerin ayda 26 gün çalıştıkları (haftada 1 gün izin) dikkate alınarak yapılmıştır;

İşçilik maliyeti (₺/gün) = Brüt asgari ücret / 26 gün

Veteriner hekim, ilaç ve erken reformasyon giderleri, Yıldız ve Yalçın (2014)’dan yararlanarak güncel fiyatlar üzerinden hesaplanmıştır.

Yapılan hesaplamalarda kullanılan bilgiler ile teknik ve ekonomik göstergeler Tablo 1 ve Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan teknik ve finansal bilgiler.

Teknik ve finansal bilgiler	Değer	Kaynak
Sağmal hayvan sayısı (baş)	5969047	Anonim 2019b
Laktasyon süt verimi (L)	3143	Anonim 2019b
Günlük süt verimi (L)	10.3	Hesaplama
Süt teşvik primi (₺/L)	0.07	Anonim 2019c
Tüketilen yem miktarı (kg/gün)*	18	Yıldız ve Yalçın, 2014
Hasta hayvana ayrılan ilave zaman (dk/gün)	15	Yıldız ve Yalçın, 2014
Süt fiyatı (₺/L)	1.70	Anonim 2019c
Yem maliyeti (₺/gün)	15	Hesaplama
Düve fiyatı (₺/baş)	10000	Anonim 2019a
Reforme hayvan fiyatı (₺/baş)	4000	Anonim 2019a
İşçilik maliyeti (₺/gün)	100	Hesaplama

*Kuru madde cinsinden verilmiştir.

Tablo 2. Hastalığın şiddetine göre hesaplamada dikkate alınan değerler.

Parametreler	Hafif/Orta	Şiddetli	Kaynak/Açıklama
İnsidens Oranı (%)	30	6	*
Mastitis vakalarının şiddeti (%)	90	10	Hesaplama
Mastitis nedeniyle reformasyon oranı (%)	1	5	Yıldız ve Yalçın, 2014
Veteriner hekim tedavi etme oranı (%)	5	70	Yıldız ve Yalçın, 2014
Üretici tedavi etme oranı (%)	95	30	Yıldız ve Yalçın, 2014
Ortalama tedavi süresi (gün)	3	7	Yıldız ve Yalçın, 2014
Laktasyon süt veriminde azalma (%)	5	10	Yıldız ve Yalçın, 2014
Hastalığa nedeniyle azalan yem maliyeti (₺)	3	4.5	Yıldız ve Yalçın, 2014 (%20 ve %30 azalma)
Veteriner hekim ücreti (₺/vaka)	50	100	Hesaplama
İlaç ücreti (₺)	150	250	Hesaplama
İşçilik maliyeti (₺/vaka)	9	21	Hesaplama
Kontrol harcaması (₺)	30	30	Dezenfektan, aşı, kuru dönem tedavi
Erken reformasyon maliyeti (₺/vaka)	60	300	Hesaplama

* Alaçam ve ark., 1986; Rişvanlı, 2001; Sabuncuoğlu ve ark., 2003; Tel ve ark., 2009; Şentürk ve ark., 2009; Yalçın ve ark., 2010; Yıldız ve Yalçın, 2014; Mutluer, 2001; Sabuncuoğlu ve Çoban, 2006.

Çalışmada hafif/orta ve şiddetli vakalarda dikkate alınan %30 ve %6’lık insidens değerlerinin yarısının (%15 ve %3) Türkiye şartlarında ulaşılabilir hedef insidens değerler olabileceği kabul edilmiş

(Kossabati ve Esslemont, 1997; Yıldız ve Yalçın, 2014) ve böylece oluşan toplam finansal kayıpların %50’sinin sakınılabılır geri kalan %50’sinin ise sakınılamayan kayıplar olduğu varsayılmıştır.

Çalışmada hastalık nedeniyle süt kalitesinde yaşanan azalmaya bağlı oluşan finansal kayıplar ve hastalığın nüks etme durumu dikkate alınmamıştır. Hastalığın enfekte hayvan üzerinden oluşan maliyeti (M) aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır;

$M = [(süt kaybı + tedavi/kontrol harcamaları + erken reformasyon bedeli) - yem tasarrufu]$

Hastalığın Türkiye’de oluşturduğu toplam finansal kayıplar (K) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır;

$K = [Hastalık insidensi \times sağmal inek sayısı] [süt fiyatı \times (laktasyon süt verimi \times süt veriminde azalma$

oranı) + (Veteriner tedavi etme oranı x veteriner hekim ücreti) + (Üretici tedavi etme oranı x işçilik maliyeti) + ilaç ücreti + Kontrol harcaması + erken reformasyon maliyeti] - [Yem Tasarrufu]

Bulgular

İneklerde mastitis nedeniyle oluşan kayıplar iki şekilde (hafif/orta ve şiddetli) hesaplanmış ve kayıp kalemlerine ait oranlar Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Mastitis nedeniyle oluşan kayıp miktarları ve oranları.

Kayıplar	Hafif/Orta Mastitis	Kayıp Oranı, %	Şiddetli Mastitis	Kayıp Oranı, %
1. Süt kaybı (atık süt ve süt teşvik primi dahil) (₺)	277.9	52.6	555.8	46.0
2. Tedavi ve kontrol harcamaları (₺)	193.5	36.6	356.3	29.5
-2.1. İlaç masrafı (₺)	150	28.4	250	20.7
- 2.2. Veteriner hekim gideri (₺)	5	0.9	70	5.8
-2.3. İlave işçilik gideri (₺)	8.5	1.6	6.3	0.5
-2.4. Kontrol harcaması (₺)	30	5.7	30	2.5
3. Erken reformasyon bedeli (₺)	60	11.4	300	24.9
4. Yem tasarrufu (₺)	3	0.6	4.5	0.4
5. Birim kayıp miktarı (₺/vaka) $5 = [(1 + 2 + 3) - 4]$	528.4	100.0	1207.6	1000
6. Enfekte toplam hayvan sayısı	1800000*	-	360000**	-
7. Toplam Kayıplar 7 = (5 x 6)	951120000	-	434736000	-

* sağmal hayvan sayısı (yaklaşık 6 milyon) x insidens oranı (%30) ** sağmal hayvan sayısı (yaklaşık 6 milyon) x insidens oranı (%6)

Yapılan çalışmada süt kaybı, tedavi/kontrol harcamaları, erken reformasyon gideri ve hastalık nedeniyle tüketilemeyen yemin tasarrufu da dikkate alınarak enfekte hayvan başına oluşan finansal kayıplar hesaplanmış ve Türkiye için genellenerek toplam kayıplar ortaya konulmuştur.

Bu şekilde tahmin edilen finansal kayıplar incelendiğinde, hafif/orta şiddetli vakalarda hayvan başına 528.4 ₺, şiddetli vakalarda ise 1207.6 ₺ kayıp olduğu hesaplanmıştır. Hastalığın her iki şiddetinde de en yüksek oran (%46-52.6) süt kaybında gerçekleşirken, bunu tedavi/kontrol harcamaları (%29.5-36.6) ve erken reformasyon gideri (%11.3-24.8) izlemiştir.

Enfekte hayvan üzerinden yapılan hesaplama Türkiye için genellendiğinde, toplam finansal kaybın 1385856000 ₺ olduğu tahmin edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Süt sığırcılığı işletmelerinde mastitis ile ilgili daha önce yapılan bilimsel çalışmalarda hastalığa bağlı oluşan kayıp miktarları; hesaplama yöntemleri, dikkate alınan kayıp kalemleri (süt, tedavi, işçilik, reformasyon vs.), hastalığın formu (klinik/subklinik) ve şiddeti (hafif, şiddetli), insidens oranı ve fiyatlar/ücretler (veteriner hekim, ilaç, süt ve işçi)

gibi faktörlere bağlı olarak ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Örneğin ABD’de yıllık inek başına 22-31 € (Kaneene ve Hurd, 1990; Miller ve ark., 1993; Sischo ve ark., 1990), Fransa’da 19-32 € (Fourichon ve ark., 2001), Almanya’da 3 € (Reinsch ve Dempfle, 1998) kayıp bildirilirken; İngiltere’de vaka başına 102-279 € (Hillerton ve ark., 1993; Kossaibati ve Esslemont, 1997; Kossaibati ve Esslemont, 2000; McInerney ve ark., 1992), Almanya’da 240 € (Clair ve ark., 2019), Kanada’da 440 € (Aghamohammadi ve ark., 2018) kayıp bildirilmiştir. Türkiye’de 2006 yılında enfekte hayvan başına ortalama 315 ₺ (271-1277 L süte eşdeğer) ve inek başına 113 ₺ kayıp bildirilirken (Yalçın ve ark., 2010), 2014 yılında ise enfekte hayvan başına ortalama 244 ₺ (158-1204 L süte eşdeğer) ve inek başına 110 ₺ şeklinde kayıp bildirilmiştir (Yıldız ve Yalçın, 2014).

Bu çalışmada ise, 2019 yılı cari fiyatları ile hafif/orta şiddetli mastitis vakalarında enfekte hayvan başına oluşan kayıp miktarı (528.4 ₺, 100 \$), 310 L süte eşdeğer olup, laktasyon süt veriminin %9.9’una karşılık gelmektedir. Şiddetli vakalarda oluşan kayıp miktarı ise (1207.6 ₺, 228 \$), 710 L süte eşdeğer olup, laktasyon süt veriminin %22.6’sına tekabül etmektedir.

Mevcut çalışma sonuçlarına göre oluşan kayıp oranları incelendiğinde, süt kaybı %46-52 ile ilk

sırayı alırken, onu %30-36 ile tedavi ve kontrol harcamaları izlemiştir.

Ağırlıklı ortalama kayıp miktarı dikkate alındığında (%90 hafif/orta ve %10 şiddetli vaka görülmesi), her bir mastitis vakasında 350 L çığ süte eşdeğer olan 596.3 ₺ (112 \$) kayıp şekillendiği hesaplanmıştır.

Her iki durumda oluşan kayıplar toplandığında 2019 yılı için Türkiye’de mastitis nedeniyle 395.6 bin tonu direk süt verim kaybı olmak üzere toplam 815.2 bin ton süte eşdeğer 1385856000 ₺ (261482264 \$) değerinde finansal kayıp olduğu tahmin edilmiştir. Bu toplam kayıp miktarı yıllık inek sütü üretiminin %4.3’ü kadardır ve Türkiye’de sağmal inek başına 226.3 ₺ (133 L süt eşdeğeri, 43 \$) kayıp olduğu anlamına gelmektedir. Bu çalışmada mastitise bağlı olduğu tahmin edilen kayıp miktarı, aynı zamanda Türkiye’nin toplam hayvansal üretim değerinin yaklaşık %2’sini, toplam süt üretim değerinin de %4-5’ini oluşturmaktadır.

Bilimsel çalışmaların çoğunda hastalık kaynaklı kayıp miktarlarının sadece rakamsal bir değer olarak verilmesi afaki kalmakta ve karşılaştırma yapılmasını güçleştirmektedir. O nedenle kayıp miktarlarının yanında uluslararası para biriminde karşılığı (\$, €, £), süt eşdeğeri ve laktasyon/toplam süt verimine oranı gibi ilave karşılaştırma seçenekleriyle desteklenmesi faydalı olacaktır.

Diğer taraftan, ineklerde mastitis nedeniyle Türkiye’de meydana gelen toplam kaybın en az yarısının (692928000 ₺) sakınılabılır olduğu, bu nedenle hastalık kontrol ve eradikasyon programlarında ve kaynak tahsis kararlarında sakınılabılır kayıpların önlenerek ekonomiye geri kazandırılabilceği de dikkate alınmalıdır. Sakınılabılır kayıp hesabında hastalığı en düşük maliyetle tedavi eden işletme grupları hedef işletmeler olarak belirlenmekte ve bu işletmelerin tedavi giderleri sakınılamayan maliyet olarak kabul edilmektedir. Türkiye’de daha önce yapılan bir çalışmada sakınılabılır maliyet %68 olarak bildirilirken (Yıldız ve Yalçın, 2014), İsveç’te %22.6 oranında sakınılabılır maliyet olduğu bildirilmiştir (Hagnestam-Nielsen ve Østergaard, 2009).

Sonuç olarak, hayvancılık faaliyetinde bulunan üreticilerin mevcut işlerinin yanında başka işlerle de uğraşması (polikültür yapı), süt sığırcılığına yeterince zaman ayıramamalarına ve uzmanlaşmada eksikliklere neden olmaktadır. Bunun yanında teknik ve resmi eğitim düzeylerinin düşük olması, faaliyet alanlarıyla ilgili güncel bilgi ve gelişmeleri yeterince takip edememelerine neden olmakta ve başarılarını düşürmektedir. Bu durum işletmede takip ve kontrollerin aksamasına, hastalıkların ve dolayısıyla üretim kayıplarının artmasına yol açmaktadır. Nihayetinde tüm bu sayılan faktörler üreticilerin karlı ve verimli

çalışmalarına engel olmaktadır. Yapılacak olan eğitim programları ile üreticilerin teknik bilgi açıklarının kapatılarak, hastalıklar ve işletme düzeyinde oluşturduğu kayıpların boyutu ile bu kayıpların bir kısmının sakınılabılır olduğu konusunda bilgilendirilmeleri faydalı olacaktır.

Kaynaklar

- Aghamohammadi M, Haine D, Kelton DF, Barkema HW, Hogeveen H, Keefe GP, Dufour S, 2018: Herd-level mastitis-associated costs on Canadian dairy farms. *Frontiers in Vet Sci*, Vol 5, Article 100. doi: 10.3389/fvets.2018.00100.
- Alaçam E, Tekeli T, Sezen Y, Erganiş O, 1986: Sütçü ineklerin subklinik mastitislerinde cefoperazonun etkisi üzerinde çalışmalar. *Selçuk Üniv Vet Fak Derg*, 2, 65-74.
- Anonim, 2019a. Kayseri Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği. <http://kayseridsyb.org.tr/>, Erişim tarihi; 15.04.2019.
- Anonim 2019b. Food and Agricultural Organization. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>, Erişim tarihi; 24.05.2019.
- Anonim 2019c. Ulusal Süt Konseyi. <https://ulusalsutkonseyi.org.tr/>, Erişim tarihi; 25.09.2019.
- Ashraf I, Malik HU, Mir M, Nabi SU, Muhee A, Jan A, Shah O, Hamdani H, 2018: Economic aspect of novel therapeutic regime for mastitis management with minimal use of antibiotics. *J Entomology and Zoology Studies*, 6(1), 710-712.
- Clair L, Laubichler FC, Schleicher C, Fuchs K, Käsbohrer A, Egger-Danner C, Köfer J, Obritzhauser W, 2019: Relationship between the probability of veterinary-diagnosed bovine mastitis occurring and farm management risk factors on small dairy farms in Austria. *J Dairy Sci*, 102: 1-12. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15657>.
- Fourichon C, Beaudeau F, N. Bareille, H. Seegers, 2001: Incidence of heath disorders in dairy farming systems in western France. *Livest Prod Sci*, 68, 157-170.
- Hagnestam-Nielsen C, Østergaard S, 2009: Economic impact of clinical mastitis in a dairy herd assessed by stochastic simulation using different methods to model yield losses. *Animal*, 3(2), 315-328.
- Hillerton JE, Shearn MFH, Teverson RM, Langridge S, Booth JM, 1993: Effect of pre-milking teat dipping on clinical mastitis on dairy farms in England. *J Dairy Res*, 60, 31-41.
- Kaneene JB, Hurd HS, 1990: The national animal health monitoring-system in Michigan: 3. Cost estimates of selected dairy-cattle Diseases. *Prev Vet Med*, 8, 127-140.
- Miller GY, Bertlett PC, Lance SE, Anderson J, Heider L E, 1993: Costs of clinical mastitis and mastitis prevention in dairy herds. *J American Vet Med Assoc*, 8, 1230-1236.
- Kossaibati MA, Esslemont RJ, 1997: The costs of production diseases in dairy herds in England. *Vet Journal*, 154 (1), 41-51.

- Kossaibati MA, Esslemont RJ, 2000: The costs of clinical mastitis in UK dairy herds. *Cattle Practice*, 8(3), 323-327.
- Leitner G, Lavon Y, Merin U, Jacoby S, Blum ES, Krifucks O, Silanikove N, 2019: Increasing the value of raw bulk milk quality based on mammary glands 3 as production units vs. the udder in dairy cows with mastitis. doi: <https://doi.org/10.1101/567271>.
- McInerney J, Howe K, Schepers J, 1992: A framework for the economic analysis of disease in farm livestock. *Prev Vet Med*, 13(2), 137-154.
- Moru NH, Umoh JU, Maikai BV, Barje PP, Amuta P, 2018: Milk yield losses and cost of clinical mastitis in Friesian × Bunaji crossbred dairy cows in Zaria, Nigeria. *Sokoto J Vet Sci*, 16(2), 28-34.
- Mutluer B, 2001: Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyumu, 04-05 Mayıs, Burdur, Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Yayın no: 2, s:1.
- Reinsch N, Dempfle L, 1998: Investigations on functional traits in Simmental. 3. Economic weights at the stationary state of a Markov chain. *Arch Tierz*, 41, 211-224.
- Rişvanlı A, 2001: Elâzığ bölgesi süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitislerin dağılımı, mastitislere sebep olan mikroorganizmaların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine çalışma. Doktora tezi, FÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elâzığ.
- Sabuncuoğlu N, Çoban Ö, 2006: Mastitis ekonomisi. *Atatürk Üniv Vet Bil Derg*, 1 (1-2), 1-5.
- Sabuncuoğlu N, Çolak A, Akbulut Ö, Tüzemen N, Bayram B, 2003: Siyah Alaca ve Esmer ineklerde CMT skoru ile bazı süt verim özellikleri arasındaki ilişkiler. *Atatürk Üniv Zir Fak Derg*, 34 (2), 139-143.
- Sischo WM, Hird DW, Gardner IA, Utterback WW, Christensen KH, Carpenter T, Danaye-Elmi C, Herson B, 1990: Economics of disease occurrence and prevention on California of data collected for the National Animal Health Monitoring System, 1986-1987. *Prev Vet Med*, 8, 141-156.
- Şentürk B, Teke B, Uğurlu M, Akdağ F, 2014: Clinical mastitis incidence and analysis of health control applications in dairy farming enterprises. *Bulgarian J Agric Sci*, 20 (3), 710-714.
- Tel OY, Keskin O, Zonturlu AK, Arserim NB, 2009: Şanlıurfa yöresinde subklinik mastitislerin görülme oranı, aerobik bakteri izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. *Fırat Üniv Sağlık Bil Vet Derg*, 23(2), 101-106.
- Yalçın C, Yıldız AŞ, Sarıözkan S, Günlü A, 2010: Producer profiles, production characteristics and mastitis control applications at dairy herds in Konya, Burdur and Kırklareli provinces, Turkey. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 57, 43-48.
- Yang WT, Ke CY, Wu WT, Lee RP, Tseng YH, 2019: Effective treatment of bovine mastitis with intramammary infusion of *Angelica dahurica* and *Rheum officinale* extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2019, Article ID 7242705, 8 pages. <https://doi.org/10.1155/2019/7242705>.
- Yıldız AŞ, Yalçın C, 2014: Ankara İli süt sığırcılığı işletmelerinde klinik mastitis kaynaklı ekonomik kayıplar. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 2(2), 55-62.

*Yazışma Adresi: Savaş SARIÖZKAN

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Sağlığı Ekonomisi ve İşletmeciliği ABD, Kayseri, TÜRKİYE

E-mail: ssariozkan@erciyes.edu.tr

The Relationship between Neonatal Lamb Mortality and Toxoplasmosis

Mehmet ACIOZ^{1,a,*}, Faruk BOZKAYA^{2,b}, Cahit BABUR^{3,c}

¹Province Directorate of Agriculture and Forestry, Muğla, Turkey

²Department of Genetics, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, Şanlıurfa, Turkey

³Turkish Public Health Institution, Sıhhiye, Ankara, Turkey

^aORCID: 0000-0002-8888-2794, ^bORCID: 0000-0001-6423-8067, ^cORCID: 0000-0002-1961-7305

Geliş Tarihi: 12.06.2019

Kabul Tarihi: 13.11.2019

Abstract: In this study, it was aimed to reveal the relationship between neonatal lamb mortality and toxoplasmosis. The study was carried out in a sheep farm that declared the death of lambs. Brood ewes (N= 50) were included into the study and they were divided into 2 groups. The first group consisted of 25 sheep whose lambs had died, and the second group consisted of 25 sheep whose lambs were alive. Blood samples were collected from the two groups and the blood sera were obtained. The sera were examined with the Sabin-Feldman Dye Test for the antibodies against *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). Of the 50 blood sera examined, 29 (58%) were positive for *T. gondii*, 20 (80%) of which were from the sheep whose lambs had died. On the other hand, only 9 (36%) of 25 blood sera from the sheep with healthy lambs were found to be positive. The frequency of *T. gondii* infestation was statistically evaluated by chi-square test and the difference between the two groups was found to be significant. (p<0.05). The results of the study showed that toxoplasmosis can play an important role in lamb mortality.

Keywords: Neonatal lamb, Sheep, *Toxoplasma gondii*.

Neonatal Kuzu Ölümüne Toxoplasmosis İlişkisi

Özet: Bu çalışma, neonatal kuzu ölümleri ile toxoplasmosis arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapılmıştır. Çalışma kuzularının öldüğünü beyan eden işletmede gerçekleştirilmiştir. İşletmeden 50 adet anaç koyun seçilerek çalışmaya dahil edilmiş ve bunlar iki gruba ayrılmıştır. Birinci (1.) grup 25 adet kuzusu ölmüş koyunlardan, 2. grup ise 25 adet kuzusu sağ koyunlardan oluşturulmuştur. Bu iki gruptan tekniğine uygun olarak kan alınır, serumları çıkarılmıştır. Daha sonra bu serumlar Sabin-Feldman dye testi ile incelenmiştir. İncelenen 50 adet kan serumundan 29'unda (%58) *Toxoplasma gondii* saptanmıştır. Kuzusu ölen 25 adet koyundan alınan kan serumlarının 20'sinde (%80) *T. gondii* pozitif olarak tespit edilmiştir. Kuzusu sağ olan 25 koyundan alınan kan serumlarının 9'unda (%36) etken pozitif olarak tespit edilmiştir. Bu iki grup arasında *T. gondii* bulunma sıklığının istatistiksel olarak ki-kare testi ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark önemli bulunmuştur (p<0.05). Sonuç olarak, toxoplasmosis kuzu ölümlerinde önemli bir rol oynayabilir.

Anahtar kelimeler: Neonatal lamb, Koyun, *Toxoplasma gondii*.

Introduction

Toxoplasmosis is a zoonotic infection affecting almost all organisms including mammals, reptiles and poultry (Soulsby, 1986). The disease causes encephalitis in addition to its effect on other organs and tissues. The disease is commonly subclinical in mammals. However clinical toxoplasmosis can be seen in immuno-deficient patients. In addition to neurological symptoms such as undefined ataxia, pain, fever, headache and drowsiness other symptoms including growth in lymph nodes, muscle pain, fatigue, sore throat, urticaria, pneumonia, blindness, liver, heart and lung problems may also be seen in patients with toxoplasmosis (Tüzer and Toparlak, 1999).

Toxoplasma gondii is a protozoon that appears in all mammals, reptiles and poultry. The agent is an obligatory intracellular parasite and may grow in all cells except for erythrocytes (Soulsby, 1986). Toxoplasmosis is a zoonotic disease and can infect

humans in addition to farm animals. It was reported that sero-positivity for *T. gondii* increases with the advancing ages of all animals. Felines are the most important contagious source of toxoplasmosis. The known habits of felines to bury their stool play a major role in the continuity of the parasite's life cycle since this prevents the oocysts from being directly exposed to sunlight. In addition, cockroaches, houseflies and other arthropods also help spread the oocysts in stools (Dubey, 2009). Toxoplasmosis is reported in people of all age, sex and socio-economic groups from every region of Turkey (Tüzer and Toparlak, 1999).

According to the data of Turkish Statistics Institution there are 31.507.934 sheep in Turkey. There are 277.439 sheep in the province of Isparta. There are 124.262 sheep in the Yalvaç district. As being among the major sources of subsistence of people in villages sheep breeding has great

contribution to economy of Turkey (Anonymous, 2016).

Success in economic sheep breeding is measured by the number of lambs grown and sold. This success is greatly decreased by lamb mortality during the growing period. Neonatal lamb mortality causes serious economic losses in our country. In a study conducted in the province of Kars, the morbidity rate of the lambs was reported to be 48.6% (Gökçe and Erdoğan, 2009). Ovine toxoplasmosis causes important economic losses to livestock industry worldwide (Dubey and Beattie, 1988; Buxton et al., 2007). Furthermore, contaminated sheep meat is a source of *T. gondii* infection for humans (Soulsby, 1986). There are several studies showing relationship between antibody titers against *T. gondii* in the ewes and neonatal mortality of lambs (Buxton et al., 2007, Reif et al., 1989).

The aim of this study was to investigate the relationship between neonatal lamb mortality and serum anti-toxoplasmosis antibody titers of ewes.

Materials and Methods

This study was carried out on a sheep farm raising 200 ewes in Yalvaç district of Isparta province in 2016. The breeder reported a high neonatal lamb mortality within the first week of lambing. Post mortem examinations of the lambs did not reveal any gross pathological findings. Therefore, a serological test was planned based on the suspect for toxoplasmosis. A total of 50 blood samples from two groups of brood ewes were taken. The first group consisted of 25 sheep whose lambs had died within a week, and the second group consisted of 25 sheep whose lambs survived. Sera were obtained from the coagulated blood samples by centrifuging at 4000 rpm for 10 minutes. The sera were examined for antibodies against *T. gondii* by using Sabin-Feldman Dye Test (Babür et al., 1996, Dubey and Beattie, 1988, Eckert et al., 1992, Sabin and Feldman, 1948) in the Ankara Parasitology Laboratory of the Turkish Public Health Institution. Samples carrying antibody titers over 1/16 were considered positive for *T. gondii*.

Statistical analysis: Differences with respect to sero-prevalence among the two groups were analyzed by using chi-square test and probabilities less than 0.05 were considered to be statistically significant (Özdamar, 2002). Statistical analysis was performed with SPSS version 16.0.

Results

Of the 50 blood sera examined, 29 (58%) were positive. 20 (80%) of 25 blood sera collected from the sheep whose lambs had died, were found to be positive for *T. gondii*. On the other hand, 9 (36%) of 25 blood sera collected from the sheep with healthy lambs were found to be positive (Table 1). The difference between the two groups was significant when the frequency of *T. gondii* was statistically assessed by the chi-square test. ($X^2:9.93$ $p<0.05$)

Table 1. Distribution of *Toxoplasma gondii* incidence according to the study groups.

Study Groups	<i>T. gondii</i> .(+)	<i>T. gondii</i> . (-)	Total
	Number (%)	Number (%)	Number (%)
I. group sheep whose lambs had died	20 (80)	5 (20)	25 (100)
II. group sheep whose lambs were alive	9 (36)	16 (64)	25 (100)
Total	29 (58)	2 (42)	50 (100)

Of the 29 blood sera positive for *T. gondii*, 18 (62.1%) had antibody titers of 1/16, 8 (27.6%) had 1/64 and 3 (10.3%) had 1/256. (Table 2)

Table 2. The rates of *T. gondii* seropositive blood sera at different titers.

Titer rates	Number	%	Mortality			
			Alive	%	Dead	%
<1/16	21	42	16	76,19	5	23,8
1/16	18	36	8	44,44	10	55,6
1/64	8	16	1	12,50	7	87,5
1/256	3	6	0	0,00	3	100
Total	50	100	25	25		

As can be seen in the Table 2 the mortality rates of the lambs showed an increase along with the maternal antibody titers.

Discussion and Conclusions

Sheep breeding is very important for the economy of Turkey. Therefore, lamb mortality causes considerable economic loss in the sheep breeding enterprises (Yumuşak and Aksoy, 2014). Besides other infectious diseases such as brucellosis and campylobacteriosis, toxoplasmosis also plays an important role in lamb mortality (Aköz et al., 2009; Aktaş et al., 2000; Arda et al., 1987; Mabuk et al., 2013; Sevinç et al., 2000). Many studies have indicated that lamb mortality is associated with

toxoplasmosis (Castano et al., 2019; Dubey and Kirkride, 1990; Dubey et al., 1990; Edwards and Dubey, 2013; Liu et al., 2014; Innes et al., 1995, Mainar et al., 1996; Verhelst et al., 2015). In this study, the toxoplasmosis detected in the ewes with lambs died and those with healthy lambs compatible with the above studies.

Numerous studies have been carried out to screen for the prevalence of *T. gondii* in sheep in our country. The studies and the determined rates are given in Table 3.

Table 3. The prevalence of *T. gondii* infection in sheep in different provinces of Turkey.

Cities	Test	Seropositivity %	Reference No
Konya	IFAT	13.78(aborted) 10.16(not aborted)	Sevinç et al., 2000
Elazığ	SFDT	46.8	Aktaş et al., 2000
Kars	SFDT	51.4	Aslantaş and Babür, 2000
Amasya	SFDT	66.6	Karatepe et al., 2001
Afyon	SFDT	54.65	Çiçek et al., 2004
Yalova	SFDT LAT	66.66 65.08	Öncel et al., 2005
Şanlıurfa	SFDT	55.66	Sevgili et al., 2005
Kars	SFDT ELISA	90.9 95.7	Mor and Aslan, 2007
Samsun	SFDT	49	Acıci et al., 2008
Konya	IFAT	13	Aköz et al., 2009
Nevşehir	ELISA	10	Özmutlu and Karatepe, 2017
Niğde	ELISA	6.28	Güler, 2011
Kırıkkale	SFDT	88	Yıldız et al., 2014
Şırnak-Silopi	IFAT	97	Leblebicier and Yıldız, 2014
Hatay	ELISA	53.8	Muz et al., 2013

In our study; the prevalence of toxoplasmosis positive sera (58%) was lower than that observed in Kars (Aslantaş and Babür, 2000), Amasya (Karatepe et al., 2001), Yalova provinces (Öncel et al., 2005) and the Silopi district of Şırnak province (Leblebicier and Yıldız, 2014) and higher than that in the provinces of Nevşehir (Özmutlu and Karatepe, 2017), Konya (Aköz et al., 2009), Elazığ (Aktaş et al., 2000), and similar to the rate in the provinces of Afyon (Çiçek et al., 2004), Hatay (Muz et al., 2013) and Şanlıurfa (Sevgili et al., 2005).

Buxton et al. (2007) reported that 2% of neonatal lamb mortality was due to toxoplasmosis (Buxton et al., 2007). Reif et al. (1989) determined *T. gondii* seropositivity at the rate of 27% in 211 sheep blood sera in Peru and by comparing the difference between seropositivity and seronegativity, they revealed the relationship between toxoplasmosis and lamb mortality as well as sheep infertility. In seropositive sheep, the rate of neonatal lamb mortality was determined as 30.7% and in seronegative sheep, the rate was determined as 13.6% in the USA (Huffman et al., 1985). The studies described above match up with our findings. This study is very important in terms of revealing the relationship between neonatal lamb mortality and toxoplasmosis.

The results of this study showed that toxoplasmosis can play an important role in lamb mortality. Besides, toxoplasmosis causes serious pathological disorders in humans, especially in pregnant women or immuno-deficient people. In addition, it causes significant yield losses in sheep breeding. Farmers and students of veterinary medicine should be informed on the methods of prevention from the disease by emphasizing the zoonotic nature of the disease.

References

- Acici M, Babur C, Kilic S, Hokelek M, Kurt M, 2008: Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* infection in humans and domestic animals in Samsun province, Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 40, 311-315.
- Aktaş M, Dumanlı N, Babür C, Karaer Z, Öngör H, 2000: Elazığ yöresinde gebe ve yavru atmış koyunlarda SF testi ile *Toxoplasma gondii* yönünden seropozitiflik oranının belirlenmesi. *Türk J Vet Anim Sci*, 24, 239-241.
- Aköz M, Aydın D, Kamburgil K, Handemir E, 2009: Konya'nın Karapınar ilçesindeki abort yapan ve yapmayan koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansının indirekt Fluoresan Antikor(IFA) tekniği ile belirlenmesi. *Vet Bil Derg*, 25, 37-43.
- Anonymous, 2016: Hayvansal üretim istatistikleri, <http://www.tuik.gov.tr>, Erişim tarihi; 10.07.2016.
- Aslantaş O, Babur C, 2000: Kars yöresinde sığır ve koyunlarda Bruselloz ve Toksoplazmoz üzerine seroepidemiolojik araştırmalar. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 11, 47-55.
- Arda M, Bisping W, Aydın N, Istanbuluoğlu E, Akay Ö, Izgür M, Diker S, Karaer Z, 1987: Orta Anadolu Bölgesi koyunlarında abortus olgularının etiolojisi ve serolojisi üzerine bir çalışma. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 34, 195-206.
- Babür C, Karaer Z, Çakmak A, Yaralı C, Zeybek H, 1996: Ankara yöresinde Sabin Feldman (SF), indirekt floresan antikor (IFA) latex aglutinasyon (LA) testleri ile koyun toxoplasmosisinin prevalansı. *F Ü Sağlık Bil. Derg*, 10, 273-277.
- Buxton D, Maley SW, Wright SE, Rodger S, Bartley P, Innes EA, 2007: *Toxoplasma gondii* and ovine toxoplasmosis: new aspects of an old story. *Vet Parasitol*, 149, 25-28.
- Castano A, Fernández M, Regidor-Cerrillo J, et al, 2019: Peripheral and placental immune responses in sheep after experimental infection with *Toxoplasma gondii* at the three terms of gestation. *Vet Res*, 50, 1-9.
- Çiçek H, Babür C, Karaer Z, 2004: Afyon yöresinde Sabin-Feldman (SF) boya testi ile koyunlarda *Toxoplasma gondii* seroprevalansı. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 51, 229-231.
- Dubey JP, 2009: Toxoplasmosis in sheep -The Last 20 years. *Vet Parasitol*, 163, 1-14.
- Dubey JP, Beattie CP, 1988: Toxoplasmosis of Animals and Man. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.

- Dubey JP, Kirkbride CA, 1990: Toxoplasmosis and other causes of abortions in sheep from the north central United States. *J Am Vet Med Assoc*, 196, 287-290.
- Dubey JP, Sonn RJ, Hedstrom O, Snyder SP, Lassen ED, 1990: Serologic and histologic diagnosis of toxoplasmic abortions in sheep in Oregon. *J Am Vet Med Assoc*, 196(2), 291-4.
- Eckert H, Kutzer E, Rommel M, Bürger HJ, Körting W, 1992: Veterinarmedizinische Parasitologie Begründet von Josef Boch und Rudolf Supperer. Verlag Paul Parey, Berlin.
- Edwards JF, Dubey JP, 2013: *Toxoplasma gondii* abortion storm in sheep on a Texas farm and isolation of mouse virulent atypical genotype *T. gondii* from an aborted lamb from a chronically infected ewe. *Vet Parasitol*, 192, 129-136.
- Gökçe E, Erdoğan HM, 2009: An epidemiological study on neonatal lamb health. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 15, 225-236.
- Güler S, 2011: Niğde mezbanasında kesilen koyunlarında Anti- *Toxoplasma gondii* antikorlarının ELISA testi ile araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniv Fen Bil Enst, Niğde.
- Huffman EM, Kirk JH, Pappaioanou M, 1985: Factors associated with neonatal lamb mortality. *Theriogenology*, 24, 163-171.
- Karatepe M, Babür C, Karatepe B, 2001: Gümüşhacıköy (Amasya) yöresi koyunlarında *T. gondii*'nin SF boya testi ile seroprevalansı. *Türkiye Parazit Derg*, 25, 110-112.
- Leblebici A, Yıldız K, 2014 Silopi'de Koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin Yaygınlığının İndirekt Floresans Antikor Testi (IFAT) ile Serolojik Olarak Belirlenmesi. *Türkiye Parazit Derg*, 38, 1-4.
- Liu Y, Zhao M, Xu X, Liu X, Zhang H, Jiang Y, Zhang L, Hu X, 2014: Adoptive transfer of Treg cells counters adverse effects of *Toxoplasma gondii* infection on pregnancy. *J Infect Dis*, 210, 1435-1443.
- Innes EA, Panton WR, Thomson KM, Maley S, Buxton D, 1995: Kinetics of interferon gamma production in vivo during infection with the S48 vaccine strain of *Toxoplasma gondii*. *J Comp Pathol*, 113, 89-94.
- Mabruk AA, Alkhunfas SR, EL-Buni AA, Annajar BB, Elsaid MA, 2013: Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sheep from Libya. *IJAR*, 9, 148-154.
- Mainar RC, de la Cruz C, Asensio A, Dominguez L, Vazquez-Boland JA, 1996: Prevalence of agglutinating antibodies to *Toxoplasma gondii* in small ruminants of the Madrid region, Spain, and identification of factors influencing seropositivity by multivariate analysis. *Vet Res Commun*, 20, 153-159.
- Mor N, Arslan MO, 2007: Kars yöresindeki koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 13, 165-170.
- Muz NM, Altuğ N, Karakavuk M, 2013: Hatay yöresi süt işletmelerindeki ruminantlar ve çoban köpeklerinde *Toxoplasma gondii* seroprevalansı ile kedi dışkılarında *T. gondii* benzeri Ookist tespiti. *AVKAE Derg*, 3, 38-45.
- Öncel T, Vural G, Babür C, Kılıç S, 2015: Detection of *Toxoplasmosis gondii* seropozitivite in sheep in Yalova by Sabin-Feldman dye test and latex agglutination test. *T Parazit Derg*, 29, 10-12.
- Özdamar K. 2002. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi. Kaan Yayınları, 4. Baskı, Eskişehir.
- Özmutlu ÇD, Karatepe B, 2017: Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep from Nevşehir province in Turkey. *T Parazit Derg*, 41, 148-151.
- Reif JS, Samame HA, Ameghino E, Lopez-Nieto E, Demartini JC, 1989: Adverse reproductive outcome and antibody to *Toxoplasma gondii* in a cohort of Peruvian sheep. *Prev Vet Med*, 7, 225-228.
- Sabin AB, Feldman HA, 1948. Dyes as microchemical indicators of new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). *Science*, 108, 660-663.
- Soulsby EJJ, 1986: Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animal. 7th ed. The English and protozoa of society and Baillire, Tindall, London.
- Sevgili M, Babür C, Nalbantoğlu S, Kara G, Vatanserver Z, 2005: Determination of seropositivity for *Toxoplasma gondii* in sheep in Sanliurfa province. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 107-111.
- Sevinç F, Kamburgil K, Dik B, Güçlü F, (Tarih): Aytekin H. Konya yöresi atık yapan ve yapmayan koyunlarda indirekt fleurosant antikor (IFA) testi ile toxoplazmozis araştırılması. *F Ü Sağlık Bil Derg*, 14, 137-142.
- Tüzer E, Toparlak M, 1999: Veteriner Protozooloji, İstanbul Univ. Vet. Fak. Yayınları, Ders Notu, İstanbul.
- Verhelst D, De Craeye S, Jennes M, Dorny P, Goddeeris B, Cox E, 2015: Interferon-gamma expression and infectivity of *Toxoplasma* infected tissues in experimentally infected sheep in comparison with pigs. *Vet Parasitol*, 207, 7-16.
- Yıldız K, Kul O, Gokpınar S, Atmaca HT, Gencay YE, Gazyagcı AN, Babür C, Gurcan IS, 2014: The relationship between seropositivity and occurrence of tissue cysts in sheep naturally infected with *Toxoplasma gondii*. *Turk J Vet Anim Sci*, 38, 169-175.
- Yumuşak N, Aksoy G, 2014; Adıyaman yöresindeki koyun ve keçilerde brusellozis'in seroprevalansının araştırılması. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 3, 55-58.

*Corresponding author: Mehmet ACİÖZ

Province Directorate of Agriculture and Forestry, Muğla, Turkey.

e-mail: mehmetacioz@hotmail.com

Farklı Seviyelerde Pamuk Tohumu Küspesi ve Arpa İlave Edilerek Hazırlanan Mısır Silajlarının Kalitelerinin Belirlenmesi

Mehmet AVCI^{1,a,*}, Nihat DENEK^{1,b}, Besime DOĞAN DAŞ^{1,c}, Sadık Serken AYDIN^{2,d}, Mehmet SAVRUNLU^{2,e}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

²Tarım ve Orman Bakanlığı Şanlıurfa Gıda Kontrol Laboratuvarı, Şanlıurfa, Türkiye

*ORCID: 0000-0002-2523-2137, ^bORCID: 0000-0003-0904-8943, ^cORCID: 0000-0003-2163-2632,

^dORCID: 0000-0002-7342-6331, ^eORCID: 0000-0002-0330-6799

Geliş Tarihi: 13.06.2019

Kabul Tarihi: 21.10.2019

Özet: Bu çalışmada, besi sığırlarının besin madde ihtiyaçlarını karşılamak için mısır hasılına arpa ve farklı seviyelerde pamuk tohumu küspesi (PTK) ilavesinin silaj besin madde bileşimi, fermentasyon özellikleri ve invitro rumen parametreleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Araştırmada mısır hasılı (MH) (kontrol), mısır hasılına %4 arpa ve %2, 4, 6, 8 PTK ilave edilerek toplam 5 grup oluşturulmuştur. Her grupta 5'er tekerrür olmak üzere hazırlanan 25 adet silaj örneği, 1.5 L'lik cam kavanozlara sıkıştırılmış ve kavanozlar 60 gün sonra açılmıştır. Silaj örneklerinin kuru madde (KM), ham kül (HK), ham protein (HP), asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF), nötral deterjanda çözünmeyen lif (NDF), invitro organik madde sindirimi (İVOMS), metabolik enerji (ME), silaj pH (SpH), laktik asit (SLA), propiyonik asit (SPA), asetik asit (SAA), bütirik asit (SBA) ve amonyak azotu (SNH3-N) analizleri yapılmıştır. Ayrıca invitro rumen asteik asit (RAA), propiyonik asit (RPA), bütirik asit (RBA) amonyak azotu (RNH3-N), pH (RpH), invitro gerçek sidirilebilir organik madde (İVGSOM) ve invitro mikrobiyal protein üretimi (İVMPÜ) belirlenmiştir. Mısır hasılındaki PTK seviyesinin artışına paralel olarak silaj örneklerinin KM, HK, HP, ADF, SpH, SNH3-N, İVMPÜ, RNH3-N, RpH düzeyleri artarken (P<0.05) NDF, İVOMS, ME, İVGSOM, RAA ve RBA düzeyleri azalmış (P<0.05), SLA, SAA, SPA ve RPA düzeyleri değişmemiştir (P>0.05). Silaj gruplarının hiç birisinde SBA görülmemiştir. Sonuç olarak, mısır hasılına %4 arpa ile birlikte %8 PTK ilave edilerek kaliteli silaj hazırlanabileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Mısır silajı, Pamuk tohumu küspesi, Arpa.

Assessing The Quality of Corn Silage Prepared by Adding Different Levels of Cotton Meal and Barley

Abstract: The objective of this study was to investigate the effect of cotton seed meal added to corn silage in order to meet the beef cattle requirements on nutrient content, fermentation ability and invitro rumen parameters. In experiment five groups were constructed by corn grass (Control) and corn grass supplemented with 2%, 4%, 6% or 8% cotton seed meal (CM) along with 4% barley. The prepares were ensiled in 1.5 L jars for 60 days. For each control and treatment groups five replicate jars were prepared. At the end of the fermentation period, dry matter, crude ash, crude protein, acid detergent fiber, neutral detergent fiber, in vitro organic matter digestibility, metabolic energy, pH value, lactic acid, propionic acid, acetic acid, butyric acid and ammonia nitrogen contents of the silage samples were analyzed. Additionally, propionic acid, acetic acid, butyric acid, ammonia nitrogen contents and pH values of *in vitro* rumen fluid as well as *in vitro* true organic matter digestibility and *in vitro* microbial protein production of the samples were determined. Dry matter, crude ash, crude protein, acid detergent fiber, pH and ammonia nitrogen contents of the silage samples increased while neutral detergent fiber decreased along with the increasing level of cotton seed meal (P<0.05). Butyric acid was not detected in any of the silage groups. Additon of cotton seed meal increased *in vitro* ammonia nitrogen, *in vitro* microbial protein production and rumen pH while it decreased *in vitro* organic matter digestibility, metabolic energy, in vitro true organic matter digestibility, acetic acid and butyric acid values (P<0.05). *In vitro* lactic acid, acetic acid and propionic acid contents of the silage samples did not change. The results suggested that silages of adequate quality could be prepared by addition of 8% cotton seed meal along with 4% barley.

Keywords: Corn silage, Cotton seed meal, Barley.

Giriş

Hayvansal üretimin arttırılması, hayvan başına düşen verimi arttırmakla mümkün olur. Bilindiği gibi hayvan başına verimliliğin arttırılmasında genotipin %30 olan etkisine karşılık bakım ve beslemenin etkisi %70 düzeyindedir. Geviş getiren hayvanlarda rumen fonksiyonlarının maksimum olması ve hayvana yedirilen konsantre yemlerin yeterli düzeyde değerlendirilebilmesi için, konsantre ve kaba yemlerin birlikte verilmesi önem arz

etmektedir. Ruminant rasyonlarında önemli bir yeri olan kaba yemlerin kaliteli olması ve hayvanlar tarafından iştahla tüketilebilir oluşu, et ve süt üretiminde maliyeti olumlu yönde etkilemektedir. Ruminant yetiştiriciliğinde verimliliğin başlıca şartı, işletme içerisinde üretilen yemlerinden azami ölçüde yararlanmaktır. Ülkemizde miktar ve kalite bakımından kaba yem üretiminde açık bulunmaktadır (Alçiçek, 1995). Kaba yem açığı genel

olarak selülozca zengin, yem değeri oldukça düşük samanlarla karşılanmaktadır (Huyen ve ark., 2012). Kaba yem olarak kullanılan silajların besin madde içeriğini artırmak için mısır, arpa, üre, melas, asit ortamı sağlamak için hidroklorik asit, propiyonik asit, fosforik asit, laktik asit, formik asit gibi asitler, fermantasyonu kolaylaştırmak için laktik asit üreten bakteri kültürleri, enzimler, yaygın olarak kullanılmaktadır (Kılıç ve ark., 2000; Touno ve ark., 2014). Türemiş ve ark. (1997) mısır, sorgum ve yonca hasıllarına, buğday kırması (%5), melas (%2) veya üre (%1) ilave edildiğinde silaj kalitesi üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada, buğday kırığı ve melas ilavesinin, mısır ve sorgum silajlarındaki ham protein miktarını azalttığını; üre ilavesinin ise artırdığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan buğday kırması ve melas ilavesi silaj pH'sını etkilememiş, üre katkısı ise silajların pH ve asetik asit seviyelerini önemli ölçüde arttırmıştır (Türemiş ve ark., 1997).

Sunulan araştırmada, besi sığırlarının enerji ve protein ihtiyacını karşılayabilecek miks silaj hazırlamak amacıyla mısır hasılına enerji kaynağı olarak arpa ve protein kaynağı olarak farklı seviyelerde PTK ilave edilerek silaj kalitesinin artırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Yapılan bu araştırma kapsamında kullanılan arpa ve PTK Şanlıurfa buğday pazarından, mısır hasılı ise Harran Üniversitesi Hayvancılık Üretim Merkezinden temin edildi. Besi sığırlarının enerji ve protein ihtiyacını karşılamak için mısır hasılına %4 arpa kırığı ile birlikte %2, %4, %6 ve %8 oranında PTK ilave edilerek hazırlanan gruplar muamele gruplarını oluşturuldu. Arpa ve PTK katkıları yağ ağırlık esasına göre ilave edildi. Silajlık materyal 1.5 L'lik cam kavanozlarda 60 günlük fermentasyona bırakıldı. Her bir grup için 5 tekerrür oluşturuldu. Silajlar 60 günlük fermentasyon süresi sonunda açıldı.

Açılan silajların kuru madde analizleri, pH ölçümü hemen yapıldı (Polan ve ark., 1998). Silajların uçucu yağ asit analizleri (asetik, propiyonik ve bütirik asit) ile laktik asit analizlerinin yapılacağı silaj sıvıları, içerisinde %25'lik 0.25 mL metafosforik asit bulunan tüplere konarak analizin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda saklandı. Benzer şekilde silaj amonyak analizi yapmak amacıyla silaj sıvıları, içerisinde 0.1 mL 1 Molar HCl bulunan ayrı tüplere alınarak derin dondurucuda saklanmıştır. Silajların amonyak azotu analizi Kjeldahl metodu ile Kaiser ve Piltz (2003) tarafından bildirilen yöntem ile yapıldı. Silajların uçucu yağ asidi ve laktik asit içerikleri Suzuki ve Lund (1980)'un bildirdikleri yöntemle HPLC cihazı ile belirlenmiştir. Silajların

ham besin madde analizleri AOAC (2005), ADF ve NDF değerleri ise Van Soest ve ark. (1991) tarafından bildirilen yöntemle yapıldı. Silajların in vitro koşullarda değerlendirilmesi için Menke ve ark. (1988)'nin bildirdikleri yöntem kullanılmıştır. İn vitro gaz üretim tekniğinde kullanılacak rumen sıvısı 39°C'de termos içerisinde, CO₂ gazı altında laboratuara transfer edilerek 4 kat tülbent bezinden süzöldükten sonra kullanıldı. Yaklaşık 250 mg yem örneğine 30 mL rumen sıvısı+tampon çözelti karışımı (10 mL rumen sıvısı+20 ml tampon çözelti) 100 mL hacimli özel cam şırıngalar içerisinde 24 saat boyunca 39°C'de su banyosu içerisinde inkübe edilmiştir. Gaz üretim değerleri her bir silaj örneği için 4 tekerrür olacak şekilde analiz edilmiştir. Ayrıca her inkübasyonda 4 adet kör şırınga (örneksiz; rumen sıvısı+tampon çözelti) gerçek gaz üretim değerlerini hesaplamak için kullanıldı. Elde edilen sonuçlar İVOMS ve yem maddelerinin ME içeriğinin hesaplanmasında kullanıldı (Menke, 1979). Rumen sıvısı amonyak analizi Markham distilasyon yöntemi ile belirlenmiştir (Markham, 1942).

Silaj materyallerinin rumen bakterileri kaynaklı protein biyokütlesinin gelişmesi Blümmel ve ark. (1997) tarafından verilen formül kullanılarak, Makkar ve ark. (1995/1997) tarafından belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır.

Verilerin analizinde SPSS programı kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farklılıkların önemi, tek yönlü varyans analizi ile (ANOVA) belirlendi, gruplar arası çoklu karşılaştırmalar Duncan testi ile yapıldı (SPSS, 1996).

Bulgular

Araştırmada besi sığırların besin made ihtiyaçların karşılamak için yapılan mix silajlarda kaba yem olarak mısır hasılı, enerji ve protein ihtiyaçları için %4 arpa ve farklı seviyelerde PTK (%2, 4, 6, 8) kullanılarak elde edilen silajların KM, HK, HP, ADF, NDF, İVOMS ve ME değerleri Tablo 1, fermantasyon özellikleri Tablo 2 ve mikrobiyal protein üretim ve rumen parametreleri Tablo 3'te verilmiştir. Bu çalışmadan arpa ve PTK ilave edilerek elde edilen silajların kuru madde değerleri %34.15- %37.13 arasında bulunmuştur (P<0.05). Kontrol ile karşılaştırıldığında PTK seviyelerindeki artışa paralel olarak HP düzeyleri artarken NDF, İVOMS ve ME değerlerinin azaldığı gözlenmiştir.

Çalışmadan arpa ve PTK ilave edilerek elde edilen silajların tamamında PH, NH₃N ve propiyonik asit değerleri, kontrol silajından elde edilen değerden yüksek bulunmuştur (P<0.05). Kontrol ile %2 ve %4 PTK ilave edilen gruplar arasında laktik asit değerleri bakımında fark belirlenmemiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında %2 ve %4 PTK ilave

Tablo 1. Arpa ilaveli mısır hasıllarına farklı seviyelerde PTK ilavesi ile elde edilen silajların besin madde bileşimi, İVOMS (%km) ve metabolik enerji (mj/kg km) değerleri.

Yem ham maddeleri	KM	HK	HP	ADF	NDF	İVOMS	ME
MH	31.47	4.09	6.82	24.08	59.59	62.95	9.20
Arpa	93.99	2.72	13.23	7.29	34.5	74.17	11.39
PTK	96.21	6.86	18.30	42.25	46.48	47.66	7.47
Silaj Grupları							
MH %100 (Kontrol)	30.17 ^e	4.80 ^a	7.74 ^d	23.63 ^b	40.86 ^a	70.63 ^a	10.33 ^a
MH%94+Arpa%4+PTK%2	34.15 ^d	4.75 ^{ab}	9.92 ^c	22.11 ^c	38.25 ^b	68.61 ^b	10.12 ^b
MH%92+Arpa %4+PTK%4	35.61 ^c	4.65 ^b	10.21 ^c	24.57 ^b	38.59 ^b	67.85 ^b	10.02 ^c
MH%90+Arpa %4+PTK%6	36.35 ^b	4.77 ^{ab}	10.72 ^b	26.64 ^a	38.83 ^b	65.98 ^c	9.75 ^d
MH%88+Arpa %4+PTK%8	37.13 ^a	4.86 ^a	11.20 ^a	27.22 ^a	38.95 ^b	65.95 ^c	9.76 ^d
SEM	0.568	0.227	0.276	0.461	0.288	0.429	0.056

a-e: Aynı sütunda yer alan farklı simgeye sahip ortalamalar birbirinden farklıdır, MH: Mısır hasılı, PTK: Pamuk tohumu küspesi, KM: Kuru madde, HK: Ham kül, HP: Ham protein, ADF: Asit deterjanda çözünmeyen lif, NDF: Nötral deterjanda çözünmeyen lif, İVOMS: *In vitro* organik madde sindirimi, ME: Metabolik enerji.

Tablo 2. Arpa ilaveli mısır hasıllarına farklı seviyelerde PTK ilavesi ile elde edilen silajların fermantasyon özellikleri.

Grup	SpH	%SNH3-N/TN	SLA g/kg	SAA g/kg	SPA g/kg	SBA g/kg
MH%100 (Kontrol)	3.65 ^c	7.73 ^c	39.83 ^{abc}	13.88 ^a	0.51 ^d	-
MH%94+Arpa%4+PTK%2	3.77 ^b	8.91 ^a	42.50 ^a	10.03 ^b	0.70 ^c	-
MH%92+Arpa %4+PTK%4	3.81 ^b	8.03 ^{ab}	40.21 ^{ab}	12.00 ^b	0.78 ^c	-
MH%90+Arpa %4+PTK%6	3.86 ^a	8.26 ^{ab}	37.24 ^c	13.01 ^a	0.89 ^b	-
MH%88+Arpa %4+PTK%8	3.85 ^a	8.47 ^{ab}	36.31 ^c	14.11 ^a	1.30 ^a	-
SEM	0.019	0.115	0.679	0.435	0.062	-

a-e: Aynı sütunda yer alan farklı simgeye sahip ortalamalar birbirinden farklıdır, MH: Mısır hasılı, PTK: Pamuk tohumu küspesi, SpH: silaj pH, SNH3-N: silaj amonyak azotu, SLA: Silaj laktik asit, SAA: Silaj asetik asit, SPA: Silaj propiyonik asit, SBA: Silaj bütirik asit.

Tablo 3. Arpa ilaveli mısır hasıllarına farklı seviyelerde PTK ilavesi ile elde edilen silajların mikrobiyal protein üretim ve rumen parametrelerine etkisi.

Yem ham maddeleri	İVGSOM %	İVMPÜ Mg	RAA mmol/L	RPA mmol/L	RBA mmol/L	RNH3-N Mg/dL	RpH
MH	63.61	22.44	42.74	13.86	5.17	41.35	6.48
ARPA	83.12	39.27	43.76	13.36	8.36	13.60	6.52
PTK	44.61	41.46	36.59	9.89	4.13	21.00	6.72
Silaj Grupları							
MH%100 (Kontrol)	67.25 ^{ab}	12.88 ^c	40.76 ^{ab}	12.66 ^{ab}	6.47 ^{ab}	15.30 ^c	6.50 ^b
MH%94+Arpa%4+PTK%2	67.99 ^a	21.70 ^b	41.92 ^a	12.86 ^a	6.68 ^a	18.23 ^b	6.51 ^{ab}
MH%92+Arpa %4+PTK%4	66.67 ^{ab}	22.99 ^{ab}	41.22 ^{ab}	12.52 ^{ab}	6.27 ^{bc}	19.33 ^{ab}	6.55 ^a
MH%90+Arpa %4+PTK%6	65.57 ^{bc}	24.29 ^a	40.80 ^{ab}	12.52 ^{ab}	6.35 ^{bc}	20.10 ^a	6.55 ^a
MH%88+Arpa %4+PTK%8	64.85 ^c	23.59 ^a	39.63 ^c	12.22 ^b	6.16 ^c	20.53 ^a	6.55 ^a
SEM	0.336	0.987	0.263	0.081	0.054	0.475	0.08

a-e: Aynı sütunda yer alan farklı simgeye sahip ortalamalar birbirinden farklıdır, MH: Mısır hasılı, PTK: Pamuk tohumu küspesi, İVGSOM: İnvitro gerçek sindirilebilir organik madde, İVMPÜ: İnvitro mikrobiyal protein üretim, RAA: Rumen propiyonik asit, RPA: Rumen bütirik asit, RNH3-N: Rumen amonyak azotu, Rumen pH: (RpH).

edilen gruplarda asetik asit değerlerinin azaldığı gözlenmiştir. Kontrol ve muamele gruplarında bütirik asit belirlenmemiştir.

Çalışmadan arpa ve PTK ilave edilerek elde edilen silajların tamamında MPÜ, Rumen sıvısı NH₃N ve rumen sıvısı pH değerleri, kontrol silajından elde edilen değerden yüksek bulunmuştur (P<0.05). Kontrol ile karşılaştırıldığında %8 PTK ilave edilen grupta İVGSOM, rumen sıvısı bütirik asit ve asetik asit değerlerin azaldığı gözlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada PTK ilavesinin artışına paralel olarak silajların KM değerleri artış göstermiştir. PTK ilave edilen silajların KM değeri genel olarak silajlar için kabul edilebilir üst KM değerine (%35) ulaşmıştır. Bu çalışmada elde edilen silajların tümünün KM değerleri kaliteli silajlar için kabul edilen KM değerlerine (%20-35) yakın bulunmuştur (Colombini ve ark., 2010; Kökten ve ark., 2013). Benzer şekilde KM içeriği yüksek katkıların silaj materyaline ilave edilmesinin silaj kuru maddesini yükselttiği bildirilmektedir (Şakalar ve Kamalak, 2016).

Silajların HK içeriği %4.65 ile %4.86 arasında değişmiştir. En yüksek HK içeriği %8 PTK ilave edilen grup olmuştur. Silajların HK içeriği PTK seviyesine paralel olarak artmıştır. Benzer şekilde HK içeriği yüksek katkıların silaj materyaline ilave edilmesinin silaj HK seviyesini yükselttiği bildirilmektedir (Şakalar ve Kamalak, 2016).

Bu çalışmada hazırlanan silajlardan elde edilen ham protein değerleri PTK katkı oranına paralel olarak artmıştır. Çalışmada elde edilen mısır silajlarının ham protein değerlerindeki artış, PTK'nın HP içeriğinin mısır hasılından yüksek olmasından kaynaklanmıştır. Benzer şekilde silaj materyaline protein içeriği yüksek katkıların yapıldığı silaj çalışmalarında hazırlanan silajların ham protein değerlerinin yükseldiği bildirilmektedir (Demirel ve ark., 2009; Türemiş ve ark., 1997). PTK katkılı silajlar kontrol ile karşılaştırıldığında PTK seviyelerindeki artışa paralel olarak ADF düzeyleri artarken NDF, İVOMS ve ME değerlerin azaldığı gözlenmiştir. PTK ilave edilerek hazırlanan silajlarda NDF, İVOMS ve ME değerlerinin düşük bulunması katkı olarak kullanılan PTK'nın NDF, İVOMS ve ME değerlerinin düşük oluşuna bağlanabilir. Silajların ADF değerleri incelendiğinde, ADF artışına karşın İVOMS ve ME değerlerinin azalması, ADF değerleri ile İVOMS ve ME değerleri arasında negatif bir ilişkinin olduğunu göstermiştir.

Çalışmada elde edilen silajların ADF değerleri incelendiğinde, bu parametrelerin artışına karşın İVOMS ve ME değerlerinin azalması, ADF değerleri

ile İVOMS ve ME değerleri arasında negatif bir ilişkinin olduğunu düşündürmektedir.

Mısır hasılına PTK ilave edilerek elde edilen silajların tamamında pH değerleri, kontrol grubu silajından elde edilen değerden yüksek bulunmakla birlikte kaliteli bir silaj için olması gereken pH değerleri (3.5-4.2) aralığında bulunmuştur (Açıkgöz ve ark., 2002; Kılıç, 2006). Bu çalışmada kontrol ve muamele grubu silajlarında elde edilen pH değeri mısır hasılına silaj materyali olarak kullanıldığı birçok çalışmadan elde edilen pH değerleri ile benzer bulunmuştur (Cao ve ark. 2010; Denek ve Can 2006; Orosz ve ark., 2012). Ayrıca silaj kuru madde miktarındaki artışa bağlı olarak silaj pH'sının yükseldiği bilinmektedir (Hart, 1990; Moisis ve Heikonen, 1994).

Çalışmadan %2, 4, 6, 8 PTK ilave edilerek elde edilen silajlarda NH₃-N değerleri mısır kontrol silajından elde edilen değerlerden yüksek bulunmuştur. Çalışmada mısır hasılı kontrol ve PTK ilave edilerek elde edilen silajların NH₃-N düzeyleri, Weiss ve ark., (1997)'nin yaptıkları çalışmada mısır silajından elde ettikleri amonyak azotu düzeyinden (%10.32 NH₃-N/TN) düşük, Savrunlu ve Denek (2016)'in mısır silajından elde ettikleri değerle (%6.18 NH₃-N/TN) benzer bulunmuştur. Silaj fermantasyon kalitesinin belirlenmesinde önemli ölçütlerden biri olan amonyak azotu, silo içerisindeki proteinlerin clostridial mikroorganizmalar tarafından yıkımlanması sonucu oluşmakta ve yüksek protein içeriği ile düşük KM oranında artış göstermektedir (Kung, 2010). Mısır hasılına PTK ilave edilerek elde edilen mısır silajlarında ilave PTK oranı HP miktarını artırması ve katkılı mısır silajlarında KM miktarını arttırması amonyak azotu düzeyindeki artışı açıklamaktadır. Kaliteli silajlarda proteinin yıkımlanarak NH₃-N'a dönüşmesi istenmez ve kaliteli silajlarda ortaya çıkan NH₃-N/TN değerinin %11'den düşük seviyede olması istenir. Bu çalışmada değerlendirilen tüm silajlardan elde edilen NH₃-N/TN değerleri kaliteli silajlar için bildirilen üst sınırdan (%11 NH₃-N/TN) düşük bulunarak amonyak azotu parametresi bakımından iyi kaliteli silaj sınıfında yer almaktadırlar (Carpintero ve ark., 1979).

Çalışmada, %6, 8 düzeyinde PTK ilave edilen mısır silajındaki laktik asit düzeyi, kontrol grubu ile benzer bulunmuştur. Laktik asit miktarının 36.31-42.50 (g/kg KM) arasında olması silaj fermantasyon kalitesinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalarda elde edilen laktik asit değerleri, Kung, (2010) tarafından bildirilen oranlara benzer bulunmuştur. Silo fermantasyonu esnasında ortamda bulunan homofermantatif laktik asit bakterileri şekerlerden birincil ürün olarak laktik asit oluştururken, heterofermantatif laktik asit bakterileri ise birincil ürün olan laktik asidin yanı

sıra, etil alkol, asetik asit, diasetil ve karbondioksit gibi ikincil ürünleri de üretirler (Holzapfel ve Wood, 1995, Blandino ve ark., 2003; Kung, 2008).

Farklı seviyelerde PTK ilavesi ile hazırlanan silajlarda propiyonik asit miktarının PTK ilavesinin artışına paralel bir şekilde artarak 0.51-1.30 gr/kg KM değer aralığında olduğu belirlenmiştir. Carpintero ve ark., (1979) kötü kalitede silaj fermentasyonunda propiyonik asit oluşumunu 3-5 g/kg KM sınır değeri olarak bildirmektedir. Bu çalışmada elde edilen propiyonik asit değerleri, Carpintero, (1979)'nın bildirdiği değerlerden düşük bulunmuştur. Colostridial bakterilerin bazı türlerinin son ürünü olarak ortaya çıkabilen propiyonik asit, yaygın olarak kötü fermente olmuş silajlarda >3-5g/kg KM düzeyinde görülmektedir (Kung, 2008; Kung, 2010).

Kontrol ile karşılaştırıldığında %2 ve %4 PTK ilave edilen gruplarda asetik asit değerlerinin azaldığı gözlenmiştir. %6 ve %8 PTK ilaveli silajlarda asetik asit düzeyindeki artış, yüksek azot miktarına bağlı olarak tamponlama kapasitesi nedeniyle devam eden fermentasyon ve heterofermantatif bakteri varlığından kaynaklandığı düşünülmekte olup (Kung, 2010), Türemiş ve ark. (1997) süt olum döneminde biçilen mısır silajlarına ağırlık esasına göre % 1 üre, % 2 melas ya da % 5 tahıl kırmacı ilave etmiş ve en yüksek asetik asit değerlerinin üre ilavesiyle ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Silajda asetik asit konsantrasyonunun artmasının küf oluşumunu engellediği ve silajın aerobik stabilitesinin yükselttiği bildirilmiştir (Sucu ve İsmail, 2006). Sunulan bu çalışmada silajların asetik asit içerikleri kaliteli silajlar için maksimum %3 (30 g/kg KM) düzeyinde olması gerektiği bildiriminden düşük bulunmuştur (Kung, 2010).

Bu çalışmada PTK ilave edilerek hazırlanmış silajlarda bütirik asit tespit edilememiştir. Çalışmada bütirik asit tespit edilmemesi kaliteli silaj fermentasyonunun oluştuğunun bir göstergesi olarak düşünülmektedir (Zhang ve ark. 2013).

Çalışmalardan PTK ilave edilerek elde edilen silajların tamamında İVMPÜ, Rumen sıvısı NH3N ve rumen sıvısı pH değerleri, kontrol silajından elde edilen değerden yüksek bulunmuştur. Kontrol ile karşılaştırıldığında %8 PTK ilave edilen grupta İVGSOM, rumen sıvısı bütirik asit ve asetik asit değerlerin azaldığı gözlenmiştir. Sunulan çalışmada artan PTK ilavesi mikrobiyal protein üretimini pozitif yönde etkilemiştir. Protein içeriği yüksek silajlarla beslenen hayvanlarda mikrobiyal protein üretiminin, arttığı farklı araştırmacılar tarafından da bildirilmektedir (Blümmel ve ark., 2003; Karabulut ve ark., 2007).

Sonuç olarak, mısır hasılına %4 arpa ile birlikte %8'e PTK ilave edilerek besi sığırlarının enerji ve protein ihtiyacını karşılayacak kalitede silaj

hazırlanabileceği sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

HÜBAK tarafından 16007 proje numarası ve "Farklı Seviyelerde Protein ve Enerji Kaynağı İlave Edilerek Hazırlanan Mısır Silajların Kalitelerinin Belirlenmesi" ismiyle desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Açıköz E, Turgut İ, Filya İ, 2002: Silaj bitkileri yetiştirme ve silaj yapımı. Hasat Yayınları, İstanbul, 584.
- Alçiçek A, 1995: Silo yemi; önemi ve kalitesini etkileyen faktörler. EÜ ZF Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi Yayını, No: 22, İZMİR.
- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC) 2005: Official Methods of Ana-lysis of AOAC 2005 International, 18th ed. *Association of Official Analytical Chemists*, Washington DC, USA.
- Blandino A, Al-Aseer ME, Pandiella SS, Cantero D, Webb C, 2003: Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 36, 527-543.
- Blümmel M, Makkar HPS, Becker K, 1997: In vitro gas production: A technique revisited. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 77, 24-34.
- Blümmel M, Karsli A, Russell JR, 2003: Influence of diet on growth yields of rumen microorganisms in vitro and in vivo: influence on growth yield of variable carbon fluxes to fermentation products. *Br J Nutr*, 90, 625-634.
- Cao Y, Takahashi T, Horiguchi K, Yoshida N, 2010: Effect of adding lactic acid bacteria and molasses on fermentation quality and in vitro ruminal digestion of total mixed ration silage prepared with whole crop rice. *Grassland Science*, 56, 19-25.
- Carpintero CM, Henderson AR, McDonald P, 1979: The effect of some pre-treatments on proteolysis during the ensiling of herbage. *Grass Forage Science*, 34, 311-315.
- Colombini S, Rapetti L, Colombo D, Galassi G, Crovetto GM, 2010: Brown midrib forage sorghum silage for the dairy cow: nutritive value and comparison with corn silage in the diet. *Italian J Anim Sci*, 9(53): 273-277.
- Demirel M, Celik S, Temur C, Guney M, Celik S, 2009: Determination of fermentation properties and digestibility characteristics of combination of corn-soybean and corn silages. *J Animal and Veterinary Advances*, 8(4): 711-714.
- Denek N, Can A. 2006: Feeding value of wet pomece ensiled with wheat straw and wheat grain for Avassi sheep. *Small Ruminant Research*; 65, 260-265.
- Hart SP, 1990: Effects of altering the grain content of sorgum silage on its nutritive value. *J Anim Sci*, 63, 3832-3842.
- Holzapfel WH, Wood BJB, 1995: Lactic acid bacteria in contemporary perspective, (wood b.b. and holzapfel wh, editors), the general of lactic acid bacteria, Vol: II, Blackie Academic-Professional, London, 1-6.

- Huyen NT, Wanapat M, Navanukraw, C, 2012: Effect of mulberry leaf pellet (MUP) supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility in beef cattle fed on rice straw-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 175, 8-15.
- Kaiser AG, Piltz JW, 2003: 12. Feed testing: assessing silage quality. Pp. 24 in Successful Silage. A.G. Kaiser, J.W. Piltz, H.M. Burns and N.W. Griffiths, Eds. Dairy research and development corporation and NSW agriculture, Australia.
- Karabulut A, Canbolat O, Kalkan H, Gurbuzol F, Sucu E, Filya I, 2007: Comparison of in vitro gas production, metabolizable energy, organic matter digestibility and microbial protein production of some legume hays. *Asian-Aust J Anim Sci*, 204, 517-522.
- Kılıç A, Yalçın S, Yılmaz A, 2000: Ruminant beslemede kaba yem kaynaklarında yapılabilecek iyileştirmeler. TUYEM 5. Uluslararası Yem Kongresi ve Yem Sergisi. 1-2 Mayıs, Antalya.
- Kılıç A, 2006: Kaba Yemlerde Niteliğin Saptanması. *Hasat Yayıncılık*, İstanbul, 159.
- Kökten K, Boydak E, Kaplan M, Seydeşoğlu S, Kavurmacı Z, 2013: Bazı Soya Fasulyesi (*Glycine max* L.) Çeşitlerinden Yapılan Silajların Besin Değerlerinin Belirlenmesi. *Türk Dağa ve Fen Dergisi*, 2(2): 7-12.
- Kung JRL, 2008: Silage fermentation end products and microbial populations: Their relationships to silage quality and animal productivity. Proceeding Annual Conference of the American Association of Bovine Practitioners, Charlotte, NC, 25-27.
- Kung JRL, 2010: Understanding the biology of silage preservation maximize quality and protect the environment. In Proceeding California Alfalfa and Forage Symposium, Visalia, 41-54.
- Makkar HPS, Blümmel MK, Becker K, 1995: Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implications in gas production and true digestibility in in vitro techniques. *Br J Nutr*, 73, 897-933.
- Makkar HPS, Blümmel M, Becker K, 1997: In vitro rumen apparent and true digestibilities of tannin-rich forages. *Anim Feed Sci Technol*, 67, 245-251.
- Markham R, 1942: Distillation apparatus suitable for microkjeldahl analysis. *Biochem J*, 36, 790.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, 1979: The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 93(1): 217-222.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, 1988: Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal research and development*, 28(1):7-55.
- Moisio T, Heikonen M, 1994: Lactic acid fermentation in silage preserved with formic acid. *Anim. Feed Sci and Tech*, 47, 107-124.
- Orosz S, Szementy L, Szabo Z, Kazinczy S, Gallo J, 2012: XVI. International Silage Conference Hameenlinna, Finland, 2-4 July, 440-443.
- Polan CE, Stieve DE, Garrett JL, 1998: Protein preservation and ruminal degradation of ensiled forage treated with heat, formic acid, ammonia, or microbial inoculant. *Journal of Dairy Science*, 81(3):765-776.
- Savrunlu M, Denek N, 2016: Farklı seviyelerde yaş domates posası ilavesi ile hazırlanan mısır silajının kalitesinin araştırılması. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 5, 5-11.
- SPSS, 1996. SPSS for windows release 10.01, SPSS Inc Chicago, IL, USA.
- Sucu E, Filya I, 2006: Effects of homofermentative lactic acid bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability characteristics of low dry matter corn silages. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 30(1): 83-88.
- Suzuki M, Lund CW, 1980: Improved Gas Liquid Chromatography for Simultaneous Determination of Volatile Fatty acids and Lactic Acid in Silage. *Agric Food Chem*, 28(5): 1040-1041.
- Şakalar B, Kamalak A, 2016: Melaslı kuru şeker pancarı posasının yonca bitkisinin silolanmasında kullanılması. *Anadolu Tarım Bilim, Derg*, 31, 157-167.
- Touno E, Kaneko M, Uozumi S, Kawamoto H, Deguchi S, 2014: Evaluation of feeding value of forage soybean silage as a substitute for wheat bran in sheep. *Animal Science Journal*, 85, 46-52.
- Türemiş A, Kızıllı Ş, Kızıl S, İnal İ, Sağlamtimur T, 1997: Bazı katkı maddelerinin çukurova koşullarında yetiştirilebilen bazı yazlık yem bitkileri ve karışımlarından yapılan silajlar üzerine etkilerinin saptanması üzerinde bir araştırma. Türkiye Birinci Silaj Kongresi, Hasat Yayıncılık, 166-175.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA, 1991: Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597.
- Weiss WP, Frobase DL, Koch ME, 1997: Wet tomato pomace ensiled with corn plants for dairy cows. *J Dairy Sci*, 80, 2896-2900.
- Zhang XQ, Jin YM, Zhang YJ, Yu Z, YanWH, 2013: Silage quality and preservation of *Urtica cannabina* ensiled alone and with additive treatment. *Grass and Forage Science*, 69, 405-414.

***Yazışma Adresi:** Mehmet AVCİ

Harran Üniversitesi, Eyyübiye Kampüsü, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

E-mail: mavci@harran.edu.tr

Clinical Toxoplasmosis in Cats: A Cohort Study

Sinem ULGEN^{1,a}, Alev AKDOĞAN KAYMAZ^{1,b}, Alper BAYRAKAL^{1,c,*}, Mustafa ASLAN^{2,d},
Lora KOENHEMSI^{1,e}, Utku BAKIREL^{1,f}

¹Istanbul University-Cerrahpasa, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Istanbul, Turkey

²Istanbul University-Cerrahpasa, Cerrahpasa Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology, Istanbul, Turkey

^aORCID: 0000-0002-2198-6396, ^bORCID: 0000-0003-4457-6856, ^cORCID: 0000-0003-4002-435X,

^dORCID: 0000-0002-4530-3190, ^eORCID: 0000-0002-4979-170X, ^fORCID: 0000-0001-7536-6435

Geliş Tarihi: 21.01.2019

Kabul Tarihi: 16.12.2019

Abstract: *Toxoplasma gondii*, which can cause a variety of symptoms, is a protozoan widely distributed around the world. Due to a suppressed immune response, reactivation of this disease can cause mortality. We designed a cohort study for the alterations in clinical course, laboratory findings, and presence of FeLV and FIV. We created two groups (Groups I and II). Group I contained 11 cats diagnosed with clinical toxoplasmosis. Group II included 15 healthy seronegative cats. We based our diagnosis of toxoplasmosis on the presence of the following clinical signs: a fourfold increase in immunoglobulin G for *Toxoplasma gondii*, presence of clinical signs, differential diagnosis of other causes and positive response to treatment with clindamycin hydrochloride. We found significant differences in erythrocyte, leukocyte, hemoglobin, and hematocrit levels between the groups (respectively $P = 0.05$, $P < 0.001$, $P < 0.05$, $P < 0.01$). The mean leukocyte counts of Group I was 37985 μ L. After treatment, we determined significant differences in leukocyte ($P < 0.05$) and trombocyte ($P < 0.05$). Although all cats in Group I were found negative for FeLV and FIV, six cats had other disorders. As a result, we concluded that severe clinical signs might occur in the absence of FIV and FeLV more frequently than previously thought. Further research must be performed on the diagnostic utility of resistant and severe leukocytosis in clinical toxoplasmosis.

Keywords: Cat, Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*.

Kedilerde Klinik Toksoplazmoz: Bir Kohort Araştırması

Özet: *Toxoplasma gondii* tüm dünyada yaygın olarak bulunan çok çeşitli klinik tablolara neden olabilen bir protozondur. Özellikle immün yanıtı baskılanmış olanlarda re-aktivasyonlara bağlı olarak mortaliteye neden olan bir paraziter hastalıktır. Çalışmamızda aktif toksoplazmoz tanısı almış kedilerde, immün sistemi baskılayan Feline leukemia virus (FeLV) ve Feline immunodeficiency virus (FIV) varlığı araştırılmış ve bu olguların tedavi öncesi ve sonrasındaki klinik ve laboratuvar bulgularının değişimini saptamaya yönelik bir kohort çalışma yapılması amaçlanmıştır. Bu amaçla iki grup (grup I ve II) oluşturuldu. Grup I klinik toksoplazmoz tanısı almış 11 kediden oluştu. Sağlıklı seronegatif kediler (n=15) ise kontrol grubuna (grup II) dahil edildi. Toksoplazmozun tanısı; klinik bulguların varlığına, serolojik olarak *Toxoplasma gondii* IgG titrasyonundaki en az 4 kat artışa ve ayrıca seropozitif olduğu belirlenen kedilere uygulanan anti paraziter klindamisin hidroklorid kemoproflaksisine olumlu yanıt alınmasına dayandırılarak yapıldı. Hastaların hemogram sonuçları değerlendirildiğinde; olguların eritrosit, lökosit, hemoglobin ve hematokrit seviyelerinde gruplar arası belirgin farklılık saptandı (sırasıyla $P=0.05$, $P<0.001$, $P<0.05$, $P<0.01$). Grup I'e ait ortalama lökosit sayısı 37985 μ L olarak bulundu. Klindamisin tedavisinin 14. gününde, grup I'e ait kedilerden kan alınarak total kan sayımı ve serum biyokimyasal analizler yapıldı. Tedavi sonrası, lökosit ($P<0.05$) ve trombosit ($P<0.05$) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Grup I'deki tüm kediler FeLV ve FIV yönünden FIV Ab/FeLV Ag Antigen test ile negatif olarak saptandı. Sonuç olarak; toksoplazmoza ait şiddetli klinik bulguların varlığı FIV, FeLV yokluğunda sanıldığından daha sık ortaya çıktığı ve dirençli ve şiddetli lökositozun kedilerin aktif toksoplazmoz için diagnostik açıdan faydasını araştırarak başka çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Kedi, Toksoplazmoz, *Toxoplasma gondii*.

Introduction

Toxoplasmosis is caused by the obligate intracellular protozoan parasite *Toxoplasma gondii*, which is the most common type of parasite in animals worldwide (Dubey, 1994; Lappin, 2005; Lappin, 2009). The agent completes the sexual stage in the feline host, and the oocysts are shed by the cat's feces (Berday et al., 2000; Lappin, 2009). Final and intermediate hosts become infected by oral ingestion of sporozoites, tachyzoites, and bradyzoites of *T. gondii*. Each stage of the development of *T. gondii* occurs in the cat;

bradyzoite and tachyzoite phases can only be seen in intermediate hosts (Dubey and Lappin, 2006). Bradyzoites can remain in tissues of humans, dogs, and cats for life unless medical treatment is applied (Lappin, 2009). *Toxoplasma gondii* infection takes an active state in cases of immunosuppressive therapy with corticosteroids or cyclosporine, and immunosuppressive diseases as caused by the feline immunodeficiency virus (FIV) (Dubey and Frenkel, 1974).

Diagnosis of toxoplasmosis in cats is very difficult. General clinical signs initially include depression and fever; afterwards, hypothermia, anorexia, peritoneal effusion, icterus, and dyspnea. But, clinical findings may not always be detectable (Lappin, 2005). The presence of specific antibodies of *T. gondii*-specific antibodies, antigens, immune complex and *T. gondii* DNA can give a positive result in both previously exposed cats (clinically normal) and cats with clinical (active) toxoplasmosis. However, in cats with clinical toxoplasmosis, for serological diagnosis, elevated levels of *T. gondii*-specific antibodies (IgG, IgM) are useful (Lappin, 2009). The antemortem diagnosis of clinical toxoplasmosis can be done by a method offered by Lappin (Lappin, 2005; Lappin, 2009). It should be based on a combination of (Dubey, 1994) the presence of clinical signs of disease, (Lappin, 2005) the positivity of antibodies in serum, which demonstrates exposure to *T. gondii*, (Lappin, 2009) the demonstration of IgM titer > 1 : 64 or a fourfold increase in IgG titer, which suggest recent or active infection, (1) a differential diagnosis for common causes of clinical syndrome, and (Dubey and Lappin, 2006) a positive response to appropriate treatment within a few days (Lappin, 2005; Lappin, 2009). Depending on this method, we aimed to research the clinical course and laboratory findings of cats with clinical toxoplasmosis and the presence of other diseases or conditions leading to immunosuppression.

Materials and Methods

Animal collection: Two groups of cats were used for the study, including diseased and healthy cats. Group I included 11 cats ranging in age from 1-17 years old and diagnosed with clinical toxoplasmosis. Group I consisted of four male and seven female cats of different breeds [Turkish Angora (n=3), Siamese (n=1), mixed breed (n=7)]. Healthy seronegative cats (n=15) over the age of 1 year were included in the control group (Group II). The procedure followed were in accordance with ethical standards. Diagnosis of clinical toxoplasmosis was based on a combination of (Dubey, 1994) the presence of some of the clinical signs (anorexia, depression, hyperthermia or hypothermia, diarrhea, peritoneal effusion, icterus, muscular hyperesthesia, seizure, paresis); and (Lappin, 2005) an approximate fourfold increase in IgG (> 4.0 immune status ratio) for *T. gondii* titer. The animals providing these parameters, but having no positive response to clindamycin treatment in 5 days and associated with other diseases by differential diagnosis, were excluded from the

study. Group II consist of the cats that had no clinical symptoms and mainly came for vaccination.

General examination and treatment procedure: After detailed anamnesis, general examinations were performed. The whole history, clinical signs, and, if present, primary disorders were recorded. Clindamycin hydrochloride (12.5 mg/kg *bid*) treatment was applied intramuscularly. Clinical signs were monitored for 15 days and recovery of clinical signs within 5 days was stated as one of the inclusion criteria.

Blood sample collection: Blood samples were taken prior to any treatment via venipuncture from vena jugularis or vena cephalica antebrachii by aseptic technique. The blood samples were collected into different tubes: EDTA tubes for hematological examination, standard biochemistry tubes for biochemistry, snap testing, and serology. To prepare the serum prior to analysis, blood samples were centrifuged at 3000 g. All examinations were carried out within 1 hour after collection.

Total blood count testing: Blood testing was performed on all cats. Total blood counts were analyzed using the Mindray BC-2800 Vet (Shenzhen, China) hematology analyzer. Total blood count levels of red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), hematocrit (PCV), hemoglobin (Hb), mean cell volume (MCV), mean cell hemoglobin (MCH), and mean cell hemoglobin concentration (MCHC) were analyzed. This test was performed on all cats (n=26) prior to treatment and on the 14th day of treatment of the animals (n=7) of which the owners had given the permission for blood testing.

Blood Biochemistry profile: Biochemical profiles were analyzed using the Tokyo Boeki Prestige 24i (Tokyo, Japan) chemistry analyzer. Blood urea nitrogen (BUN), ALT, AST, creatinine, and glucose levels were measured. Serum biochemistry analysis was also performed on the animals (n=6) of which the owners had let the analysis after the 14th day of treatment.

Snap testing: For detection of feline immunodeficiency, virus antibodies, and feline leukemia virus antigen in the animals, either serum or whole blood (heparinized or EDTA) samples were used for the FIV Ab/FeLV Ag Anigen test (Korea); these tests were performed following the manufacturer's instruction.

Toxoplasma gondii-specific IgG titration by enzyme-linked immunoassay (ELISA): The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (EVL Feline Toxoplasma Antibody, The Netherlands) for detection of *T. gondii*-specific immunoglobulin G titration was performed as per the manufacturer's instruction manual. To standardize the ELISA test, positive, negative, and cutoff serum samples were

used. In order to confirm appropriate test conditions, the positive control should give an extinction higher than 1.000 optical density (OD) units; the negative control should give an OD of \leq 0.400 units. An OD of 0.500 was designated by the manufacturer as the cutoff for a positive reaction. For each specimen, an immune status ratio (ISR) was calculated by dividing the specimen optical density to cutoff optical density. The specimen was considered as positive if the result was at least 1.10 ISR. The results over 4.0 ISR were included in the study.

Other testing: ELISA testing for detection of the feline coronavirus antibody and blood smear testing for the diagnosis of *Mycoplasma haemofelis* were also applied in suspected cases.

Statistical analysis: The results of total blood counts and serum biochemistry analysis between groups were evaluated by an independent samples t-test. The results of the total blood count and serum biochemistry analysis pre- and after-treatment of seven cats were compared statistically by a paired-samples t-test. Differences were considered significant when the p-value was \leq 0.05.

Results

Clinical signs and history of animals: Depending on general examinations and anamnesis, obtained data are given in Table 1.

Table 1. Distribution of clinical signs of cats in Group I before treatment.

Clinical signs of Group I	Number of cats
Gastrointestinal signs	5
Respiratory signs	5
Hyperthermia	5
Anorexia	4
Neurologic signs	3
Anisocoria	3
Behavioural signs	3
Icterus	2
Hypothermia	2
Muscular signs	1

Generally, diarrhea was not present in animals. Respiratory signs included auscultated interstitial and wheezy lung sounds. Various neurological findings were present. We recorded lameness, muscle tenderness and hyperesthesia (n=1), seizure (n=1), peripheral neuropathy (n=1), mild incoordination, and head tilt (n=1) in Group I. Three animals showed symptoms of behavioral disorders. Acute onset aggression (n=2) and excessive vocalization (n=1) were diagnosed. All symptoms began to improve after the fifth day. The seven cats of Group I had been referred to our university clinic for unresponsiveness to treatment with long term antibiotherapy.

Laboratory results: There was highly significant leukocytosis in total blood count analysis of Group I (Table 2). The mean result of WBC was 37985 μ L. Leukocytosis ranged between 27000 - 62040 μ L and was seen predominantly in the 10 cats of Group I (n=11). There were also elevations in serum ALT levels in two cats (ranging between 92 IU/L - 150 IU/L). The mean results of Groups I and II are given in Table 2.

We measured the mean levels of IgG titers for *T. gondii* as 5.518 ISR (ranged between 4.2 - 8.4 ISR). Results of snap testing for FIV/FeLV were negative in all animals. We performed ELISA testing for feline coronavirus antibody on five cats (with neuropathy and icterus) although there was no effusive sign. None of them were positive. The presence of *Mycoplasma haemofelis* was investigated in five cats with hyperthermia and anemia, but no organism was identified in a stained blood smear under light microscopy.

Secondary disorders: Secondary disorders had been recently present in eight cats. Ovarian hysterectomy operation (n=3), feline lower urinary tract disease (n=2), stage 2 of chronic kidney disease (n=1), hyperthyroidism (n=1), and boarding stress (n=1) identified by anamnesis at least three weeks previous to the first examination.

Statistical analysis of pre- and after-treatment: We found significant differences in RBC, WBC, Hb, and PCV values between groups (respectively, $P = 0.05$, $P < 0.001$, $P < 0.05$, $P < 0.1$) (Table 2). After treatment, we determined a significant decline in the WBC value ($P < 0.05$) and an increase in the PLT value ($P < 0.05$) (Table 3).

Discussion and Conclusions

As clinical toxoplasmosis is rarely seen and very difficult to diagnose, many cases may be overlooked in practice. Practical methods are needed in veterinary practice. Lappin's method of antemortem diagnosis (Lappin, 2005) of clinical toxoplasmosis offers easy and useful criteria for veterinarians. However, clinical toxoplasmosis may be present in cases with lower titration of immunoglobulins.

The limit of this study is the inability to distinguish whether the infection is due to first exposure or reactivation. According to data from human immunodeficiency virus (HIV) studies, *T. gondii* can be reactivated after a long time (Davidson et al., 1993). Primary exposure to *T. gondii* is known to cause disseminated disease with pneumonia, myocarditis, and myositis, as well as express neurologic signs (Muray, 1991). However, it is not clear whether primary exposure will lead to severe infections (Davidson et al., 1993). Davidson

Table 2. Mean values of total blood count and serum biochemistry analysis of Group I and II before treatment (NS: not significant).

Parameters	Group	N	Mean	Std. Deviation	P value
RBC	Group I	11	6.8727	1.96341	P=0.05
(x10 ⁶ µL)	Group II	15	8.3840	1.76010	
WBC	Group I	11	37.9855	13.32231	P<0.001
(x10 ³ µL)	Group II	15	12.2000	4.49253	
Hb	Group I	11	9.418	2.1283	P<0.05
(g/dl)	Group II	15	11.873	2.4970	
PCV	Group I	11	28.1791	7.04236	P<0.01
(%)	Group II	15	37.1333	8.42502	
PLT	Group I	11	376.09	235.138	NS
(x10 ³ µL)	Group II	15	258.33	192.569	
BUN	Group I	11	81.36	136.483	NS
(mg/dl)	Group II	15	42.47	13.005	
Crea	Group I	11	2.173	3.8619	NS
(mg/dl)	Group II	15	1.060	0.3312	
AST	Group I	11	30.30	18.142	NS
(IU/L)	Group II	15	67.67	75.370	
ALT	Group I	11	40.55	44.225	NS
(IU/L)	Group II	15	62.53	55.411	

Table 3. Laboratory results of pre- and after-treatment of Group I statistically (NS: not significant).

Parameters	Time	N	Mean	Std. Deviation	P value
RBC	initial	7	7.7029	1.90856	NS
(x10 ⁶ µL)	after	7	9.0071	1.68148	
WBC	initial	7	37.0143	10.61970	P<0.05
(x10 ³ µL)	after	7	19.34	8.531	
Hb	initial	7	10.514	1.8578	NS
(g/dl)	after	7	12.114	1.4871	
PCV	initial	7	31.7143	6.07493	NS
(%)	after	7	36.86	3.805	
PLT	initial	7	360.57	270.194	P<0.05
(x10 ³ µL)	after	7	490.29	174.600	
BUN	initial	6	52.83	20.595	NS
(mg/dl)	after	6	47.50	31.021	
Crea	initial	6	0.950	0.5394	NS
(mg/dl)	after	6	1.133	0.3777	
AST	initial	6	29.67	21.201	NS
(IU/L)	after	6	29.83	32.585	
ALT	initial	6	46.50	53.590	NS
(IU/L)	after	6	68.00	89.525	

et al. (1993) demonstrated that severe tachypnea, dyspnea, and tachycardia were apparent in primary infections of *T. gondii* in FIV-infected cats. Although there is not enough research on this topic, seropositivity of *T. gondii* infection is estimated by Tutuncu et al. (2003) to be higher in cats in Turkey. However, symptomatic toxoplasmosis is relatively uncommon (Parker et al., 1981). Parker et al. (1981) have conducted research on experimental models of acute feline toxoplasmosis and shown that the density of organisms like the liver, lungs, and spleen was 10-fold to 10,000-fold higher than that of the heart and brain, causing severe and fatal pneumonitis in cats. We also found severe and apparent respiratoric signs (n=4) in our study. However, we detected icterus in two cats, of which one of them had a higher value of ALT (150 IU/L). According to the study results of Davidson et al. (1993), eight cats with *T. gondii* and FIV infection showed hyperthermia and severe respiratory distress. Central nervous system signs showed in only one cat. A mild clinical disease characterized by anorexia, lethargy, and chorioretinitis occurred in only *T. gondii*-infected cats (Davidson et al., 1993). It is known that effective immune response to *T. gondii* occurs in most cases unless the immune system is compromised by FIV infection (Davidson et al., 1993; Dubey and Frenkel, 1974; Lappin, 2005; Lappin, 2009; O'neil et al., 1991). We found severe forms of clinical toxoplasmosis in cats without FIV and FeLV infections unlike these studies. We defined neurological signs in three cats in Group I. Also, biweekly seizures (recovered by clindamycin therapy) were present in one cat. Apparent respiratoric distress, anorexia and gastrointestinal findings were common in Group I. We found all cats in our study to be negative for FIV and FeLV infections. However, we detected secondary disorders in eight of 11 cats in Group I. The presence of recent secondary diseases and conditions might lead to immunosuppression as well. A 16-year-old cat had mild neurological signs, and a 17-year-old cat had neuropathy in one hind limb and respiratory distress. Geriatrics is also an important factor for the progressive weakening of immune functions (Fortney, 2004). Besides, *T. gondii* infection can be immunosuppressive. Infection with FIV apparently does not destroy the animal's immunity, it may delay the antibody class shift from IgM to IgG (Lappin et al., 1989). In our study, the presence of higher titers of IgG was one of the inclusion criteria, but no FIV positivity was found in the cats in Group I. However, Lappin et al. (1989) reported that they did not find higher titers of IgG in clinical toxoplasmosis cats without FIV.

Javadi et al. (2010) searched for hematological changes of cats with *T. gondii*-specific antibodies

and higher IgM titers and found significance in PCV, RBC, and monocyte values which should be considered for toxoplasmosis (Javadi et al., 2010). Oppositely, in our study, we detected significant declines in values of RBC and PCV in Group I (respectively, $P = 0.05$, $P < 0.01$). Although we found no significance in PLT values between groups, PLT levels increased after treatment in Group I ($P < 0.05$). However, Javadi et al. (2010) defined increased PCV as an incompatible finding and attributed it to possible dehydration. Similarly, Lappin et al. (1989) diagnosed clinical toxoplasmosis in 15 cats and reported neutrophilic leukocytosis in four of 15 cats. Severe and resistant leukocytosis was apparent in our study with a mean value of WBC as 37985 μ L. Seven cats in Group I had a history of poor response to treatment with various broad spectral antibiotherapy. Several studies searched for diagnostic and clinical aspects of toxoplasmosis (Dubey and Carpenter, 1993; Javadi et al., 2010; Lappin et al., 1989; O'Neil et al., 1991); one report conducted comparisons of complete blood count results with lower and higher values of antibodies to *T. gondii* (Javadi et al., 2010). Veterinarians need practical diagnostic signs to identify *T. gondii* infection in cats to prevent public health risks and the possibility of overlooking clinically diseased cats (Javadi et al., 2010).

While Dubey and Carpenter (1993) did not report kidney disease as a cause of death, they determined *T. gondii* stages in 11 of 61 kidneys of cats. According to our data, chronic renal failure had been recently identified in two cats (2/11) of Group I. Hsu et al. (2011) found no association in the aetiological role of *T. gondii* and progression of chronic renal failure (Hsu et al., 2011). Also, in our study, behavioral alterations, including acute onset aggression (n = 2) were recorded in three cats. Experimental studies conducted on rodents suggest that *T. gondii* infection can cause behavioral alteration in its hosts. The mechanism of action is unknown, but it may also be associated with schizophrenia in human infections (Webster, 2007). In our study, all cats responded quite well to treatment with clindamycin hydrochloride on the 14th day. In another study by Lappin et al. (1989), 13 of 15 cats responded well to treatment. One of the cats responded poorly to treatment and was also infected with FIV.

O'Neil et al. (1991) detected higher seroprevalence to *T. gondii* in FIV-infected cats. However, Zimmerman (1961) found no association between them. So, it is not fully understood why some animals develop clinical toxoplasmosis whereas others do not. Correlatively, the prevalence and results of primary infection and reactivations are not well defined (Davidson and

English, 1998). As a result of this study, further studies should be conducted on the diagnostic relevance of severe and resistant leukocytosis in clinical feline toxoplasmosis as veterinarians need easy and practical laboratory results to evaluate the active *T. gondii* infection in cats. Researchers have noted that clinical feline toxoplasmosis may also frequently develop in the absence of FIV and that FeLV, as the mechanism leading to immunosuppression, may occur in the presence of other secondary disorders and conditions.

References

- Berdoy M, Webster JP, Macdonald DW, 2000: Fatal attraction in rats infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc Biol Sci*, 267, 1591-1594.
- Davidson MG, English RV, 1998: Feline ocular toxoplasmosis. *Vet Ophthalmol*, 1, 71-80.
- Davidson MG, Rottman JB, English RV, Lappin MR, Tompkins MB, 1993: Feline Immunodeficiency Virus Predisposes Cats to Acute Generalized Toxoplasmosis. *Am J Pathol*, 143, 1486-1497.
- Dubey JP, Carpenter JL, 1993: Histologically confirmed clinical toxoplasmosis in cats: 100 cases (1952-1990). *J Am Vet Med Assoc*, 203, 1556-1566.
- Dubey JP, Frenkel JK, 1974: Immunity to feline toxoplasmosis: modification by administration of corticosteroids. *Vet Pathol*, 11, 350-379.
- Dubey JP, Lappin MR, 2006: Toxoplasmosis and Neosporosis. In "Infectious Disease of The Dog and Cat" Ed; Greene CE, St Louis, USA: Saunders, p.754.
- Dubey JP, 1994: Toxoplasmosis. *JAVMA*, 205, 1593-1598.
- Fortney WD, 2004: Geriatrics and Aging. In "Geriatrics and Gerontology of the Dog and Cat" Ed; Hoskins JD, Saunders, Missouri, USA, pp.1-4.
- Hsu V, Grant DC, Zajac AM, Witonsky SG, Lindsay DS, 2011: Prevalence of IgG antibodies to *Encephalitozoon cuniculi* and *Toxoplasma gondii* in cats with and without chronic kidney disease from Virginia. *Vet Parasitol*, 176, 23-26.
- Javadi S, Asri Rezaci S, Tajik H, Hadian M, Shokouhi F, 2010: Haematological changes of cats with *Toxoplasma gondii*-specific antibodies. *Comp Clin Pathol*, 19, 307-310.
- Lappin MR, Greene CE, Winston S, Toll SL, Epstein ME, 1989: Clinical toxoplasmosis: serologic diagnosis and therapeutic management of 15 cases. *J Vet Med*, 3, 139-143.
- Lappin MR, 2009: Protozoal and miscellaneous infections. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine 6th ed." Ed; Ettinger SJ, Feldman EC, Saunders, St Louis, USA, pp. 639-642.
- Lappin MR, 2009: Toxoplasmosis. In "Kirk's Current Veterinary Therapy 14th ed" Ed; Bonagura JD, Saunders, St Louis, USA, pp.1254-1259.
- Murray HW, 1991: Toxoplasmosis. In "Harrison's Principles of Internal Medicine" Ed; Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Mc Graw-Hill, New York, USA, p.795.
- O'Neil SA, Lappin MR, Reif JS, 1991: Clinical and epidemiological aspects of feline immunodeficiency virus and *Toxoplasma gondii* coinfections in cats. *JAAHA*, 27, 211-220.
- Parker GA, Lanoloss JM, Dubey JP, Hoover A, 1981: Pathogenesis of acute toxoplasmosis in specific-pathogen-free cats. *Vet Pathol*, 18, 786-803.
- Tutuncu M, Akkan HA, Karaca M, Ağaoğlu Z, Berktaş M, 2003: Prevalence of toxoplasmosis in Van cats in Turkey. *Indian Vet J*, 80, 730-732.
- Webster JP, 2007: The Effect of *Toxoplasma gondii* on animal behavior: playing cat and mouse. *Schizophrenia Bulletin*, 33(3), 752-756.
- Zimmerman LE, 1961: Ocular pathology of toxoplasmosis. *Surv Ophthalmol*, 6, 832-867.

*Corresponding autor: Alper BAYRAKAL

Istanbul University-Cerrahpasa, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Istanbul, Turkey

e-mail: alper.bayrakalistanbul.edu.tr

Kızıl Tilkilerde (*Vulpes vulpes*) Arteria Celiaca ve Dalları Üzerinde Bir Çalışma *

Gülseren Kırbaş Doğan^{1,a,**}, Semine Dalga^{1,b}, Yalçın Akbulut^{2,c}, Kadir Aslan^{1,d}

¹Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

²Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Kars, Türkiye

^aORCID: 0000-0003-3770-9956, ^bORCID: 0000-0001-7227-2513, ^cORCID: 0000-0003-4661-2224, ^dORCID: 0000-0002-7617-0175

Geliş Tarihi: 15.05.2019

Kabul Tarihi: 13.11.2019

Özet: Sunulan çalışmada kızıl tilkilerde arteria celiaca ve dallarının araştırılması amaçlandı. Çalışmada 6 adet kızıl tilki kullanıldı. Arteria celiaca'nın 1. lumbal vertebra hizasında aorta abdominalis'ten ayrıldığı ve ilk ayrılan dalın ise arteria hepatica olduğu belirlendi. Arteria hepatica'dan ortalama 8.48 mm sonra kalın olan arteria lienalis ve daha ince olan arteria gastrica sinistra'nın ortak bir kök halinde başlangıç aldığı görüldü. Arteria gastroduodenalis'in arteria pancreaticoduodenalis cranialis ve arteria gastroepiploica dextra'ya ayrılarak sonlandığı görüldü. Arteria lienalis'ten biri dalağın extremitas dorsalis'ine, diğeri extremitas ventralis'ine giden iki damar ayrıldığı tespit edildi. Extremitas dorsalis'e giden arteria lienalis'in arteriae gastricae breves dallarının midenin fundus bölümünde sonlandığı görüldü. Arteria lienalis'in extremitas ventralis'e giden arteria gastroepiploica sinistra dalı önce 3 dala daha sonra çok sayıda dallara ayrılarak midenin curvatura major'unda arteria gastrica dextra ile anastomoz yaptığı belirlendi. Extremitas ventralis'e giden ana daldan pankreas'ı besleyen 2-3 ince dalın ayrıldığı görüldü. Sonuç olarak sunulan bu araştırmanın bulgularının evcil ve yaban hayvanı olan carnivorlar üzerinde yapılacak olan splenektomi, mide ve karaciğer operasyonlarına destek olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, Arteria celiaca, Carnivor, Kızıl tilki.

A Study on Arteria Celiaca and Branches in Red Foxes (*Vulpes vulpes*)

Abstract: This study aimed to conduct a research on arteria celiaca and its branches in Red foxes (*Vulpes vulpes*). Six red foxes were used. It was determined that arteria celiaca was separated from the aorta abdominalis in the line of first lumbal vertebrae and arteria hepatica was the first branch derivated from arteria celiaca. The thick branch (arteria lienalis) and the thin branch (arteria gastrica sinistra) were found to derivate as a common root with a mean distance of 8.48 mm from arteria hepatica. Arteria gastroduodenalis was found to be terminated by giving branches such as arteria pancreaticoduodenalis cranialis and arteria gastroepiploica dextra. Arteria lienalis was found to have separated two vessels leading to the extremitas dorsalis and the extremitas ventralis of spleen. The branches of the arteria lienalis called as arteriae gastricae breves were found to terminated in the fundus part of the stomach are by leading to the extremitas dorsalis. Arteria gastroepiploica sinistra, which is the branch of arteria lienalis leading to the extremitas ventralis, was found to gave first 3 branches and then divided into a large number of branches by giving anastomosis with arteria gastrica dextra in the line of curvature of the stomach. It was seen that 2-3 thin branches feeding the pancreas were derivated from the main branch of the extremitas ventralis. We believe that the results of this study will provide further data supporting splenectomy, stomach and liver operations on domestic and wild carnivores.

Keywords: Anatomy, Arteria celiaca, Carnivora, Red fox.

Giriş

Veteriner anatomi alanında, karşılaştırmalı hayvan anatomisi değişik hayvan ırkları ve türleri arasındaki farklılıkları ortaya koyma açısından öneme sahiptir. Evcil hayvanlarda tür ve ırk bazında bu farklılıklar çoğunlukla ortaya konulmuştur (Gezici ve Dursun, 1999; Silva ve ark., 2018; Yousefi, 2017). Bir yaban hayvanı olan Kızıl tilki köpekgiller (*Canidae*) familyasındadır. Kızıl tilki'nin Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Amerika kıtasında yaşayan türleri vardır. Tilkiler kulakları sivri ve büyük, kuyruğu uzun, zekâ ve hilesiyle ünlü bir etçildir (Şekil 1) (Larivière ve Pasitschniak-Arts, 1996).



Şekil 1. Kızıl tilki (Anonim, 2018).

Canlı için gerekli olan besin maddelerinin hücrelere taşınması ve oluşan metabolizma artıklarının uzaklaştırılması dolaşım sistemi sayesinde olmaktadır. Kalp ve damarlar dolaşım sisteminin en önemli elemanlarıdır. Bu önem dahilinde farklı hayvan türlerinde organları besleyen damarların seyri hayati önem taşımaktadır (König ve Liebich, 2015).

Arteria (a.) celiaca, diaphragma'nın crus'ları arasında, son sırt veya ilk bel omuru düzeyinde aorta abdominalis'in alt yüzünden tek olarak (Sission ve Grossman, 1964) çıkan ilk visceral daldır (Dursun, 2008; Miller, 1964). Mide, karaciğer, dalak ve pankreas ile ince barsakların başlangıç kesimlerinin beslenmesini sağlayan ortak bir köktür. Yaklaşık 4 mm çapında ve 20 mm uzunluğundadır (Nickel ve ark., 1981). Arteria gastrica sinistra, a. hepatica ve a. lienalis olmak üzere üç dala ayrılır (Dursun, 2008; König ve Liebich, 2015; Miller, 1964; Sission ve Grossman, 1964). Arteria lienalis a. celiaca'dan ayrılan üç dalın en kalın olanıdır. Bazı carnivorlarda üçüncü dal olarak değil a. celiaca'nın devamı olarak tanımlanır. Arteria gastrica sinistra ise bu dalların en incesidir (Dursun, 2008; Sission ve Grossman, 1964).

Diğer carnivor türlerinde a. celiaca üzerinde yapılan çalışmalar (Borelli ve Boccalleti, 1974; Yılmaz ve ark., 2004; Yousefi, 2017) mevcut olmasına rağmen yaban hayvanı olan kızıl tilkilerde böyle bir çalışmaya rastlanmadı. Bu nedenle gerek ilgili bölge üzerinde yapılacak uygulamalarda, gerekse kızıl tilki ile diğer evcil ve yabani carnivorlar arasında yapılacak karşılaştırma işlemlerinde ihtiyaç duyulacak bilgi eksikliğini gidermek için bu çalışma planlandı.

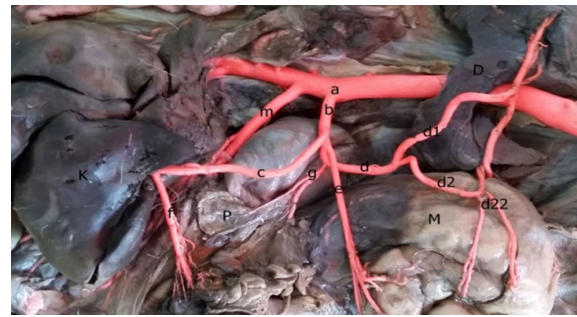
Materyal ve Metot

Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nden gerekli izinler alındıktan sonra bu çalışma yürütüldü (E.892955). Çalışmada Kafkas Üniversitesi Yaban Hayatı Kurtarma ve Rehabilitasyon Merkezi'nden temin edilen, cinsiyet farkı gözetilmeksizin erişkin 6 adet kızıl tilki kullanıldı. Çalışma materyalini, ateşli silahlarla veya trafik kazalarıyla ciddi şekilde yaralanmış ve tüm müdahalelere rağmen kurtarılamamış tilkiler oluşturdu. Aorta abdominalis tespit edildikten sonra ligatüre edildi. Tilkilerin arteriyel sistemine aorta'dan önce fizyolojik tuzlu su sonra kırmızı boya ile renklendirilmiş latex (Polytek marka) perfüze edildi. 10 gün soğutucuda bekletildi. Latex'in katılaşması sağlandıktan sonra arterler diseke edildi. Diseksiyonla elde edilen bulgular Kodak Digital Camera M 320 fotoğraf makinası ile fotoğraflandı. Damarların isimlendirilmesinde Nomina Anatomica Veterinaria (2017) referans

alındı. Ölçümler damarların ayrılma noktasından digital kumpas (Stainless 0-150 mm) kullanılarak alındı. Damarların uzunluk ve çaplarının ortalama ve standart sapma değerleri SPSS (20.0 version) paket programında hesaplandı.

Bulgular

Arteria celiaca'nın birinci lumbal omur hizasında aorta abdominalis'ten ayrıldığı, a. celiaca'dan ilk ayrılan dalın ise a. hepatica olduğu belirlendi. Arteria celiaca'nın dalı olan a. hepatica'dan ortalama 8.48 mm sonra kalın olan a. lienalis ve daha ince olan a. gastrica sinistra'nın ortak bir kök halinde başlangıç aldığı görüldü (Şekil 2).



Şekil-2. Kızıl tilkilerde arteria celiaca'nın dallanması (K: Hepar, D: Lien, M: Gaster, P: Pancreas, a: Aorta abdominalis, b: a. celiaca, c: a. hepatica, d: a. lienalis, e: a. gastrica sinistra, f: a. gastroduodenalis, g: rami pancreatici, d1: a. lienalis'in dalağın extremitas ventralis'ine giden dalı, d2: a. lienalis'in dalağın extremitas dorsalis'ine giden dalı, d22: aa. gastricae breves, m: a. mesenterica cranialis)

Arteria hepatica'nın karaciğer ve mide sınırında iki dala ayrıldığı, bu dallardan birinin ramus dexter lateralis, ramus dexter medialis ve ramus sinister olmak üzere üç dala ayrılarak karaciğeri beslediği tespit edildi. Diğer dalların ise mide ile onikiparmak bağırsağı arasından geçip midenin curvatura major'unda dağılan a. gastrica dextra ve a. gastroduodenalis olduğu belirlendi. A. gastroduodenalis'in a. pancreaticoduodenalis cranialis ve a. gastroepiploica dextra'ya ayrılarak sonlandığı görüldü. Arteria lienalis'ten biri dalağın extremitas dorsalis'ine, diğeri extremitas ventralis'ine giden iki damar ayrıldığı tespit edildi. Extremitas dorsalis'e giden a. lienalis'in aa. gastricae breves isimli dalları midenin fundus bölümünde sonlandığı görüldü. Arteria lienalis'in extremitas ventralis'e giden a. gastroepiploica sinistra dalı önce üç dala daha sonra 7 dala ayrılarak midenin curvatura major'unda a. gastrica dextra ile anastomoz yaptığı belirlendi. Extremitas ventralis'e giden ana daldan pankreas'ı besleyen birkaç ince dalın ayrıldığı görüldü. Arteria gastrica sinistra'dan ilk olarak başlangıç alan rami esophagei'nin,

esophagus'un pars abdominalis bölümünü beslediği tespit edildi.

Arteria celiaca'nın ortalama uzunluğu 14.37±2.55 mm, çapı ise 2.11±0.23 mm olarak ölçüldü (Tablo 1).

Tablo 1. Kızıl tilkilerde a. celiaca'ların uzunluk ve çapları.

A. celiaca	Uzunluk(mm)	Çap(mm)
KT1	11.50	2.45
KT2	18.85	1.95
KT3	12.50	1.90
KT4	15.12	2.30
KT5	14.05	1.92
KT6	14.19	2.15

KT: Kızıl tilki

Arteria hepatica, a. lienalis ve a. gastrica sinistra'nın ortalama çap değerleri sırasıyla 1.64±0.13 mm, 1.33±0.91 mm ve 1.10±0.08 mm olarak ölçüldü (Tablo 2).

Tablo 2. Kızıl tilkilerde a. celiaca'nın dallarının çapları.

Kızıl tilkiler	A.hepatica'nın çapı (mm)	A.lienalis'in çapı (mm)	A.gastrica sinistra'nın çapı (mm)
KT1	1.60	1.45	1.10
KT2	1.88	1.20	0.95
KT3	1.53	1.30	1.15
KT4	1.64	1.28	1.17
KT5	1.55	1.34	1.13
KT6	1.62	1.41	1.10

KT: Kızıl tilki

Tartışma ve Sonuç

Arteria celiaca, diaphragma'nın crus'ları arasında, on üçüncü thoracal veya ilk lumbal vertebra (Abidu-figueiredo ve ark., 2008; Nickel ve ark., 1981) düzeyinde aorta abdominalis'in alt yüzünden tek olarak (Abidu-figueiredo ve ark., 2005; Awal ve ark. 2001; Sission ve Grossman, 1964) çıkan ilk visceral daldır (Dursun, 2008; Miller, 1964). Kızıl tilkilerde de a. celiaca'nın birinci lumbal vertebra hizasında aorta abdominalis'ten ayrılan ilk dal olduğu görüldü. Brezilya dövüş tilkisinde de a. celiaca ilk daldır (Silva ve ark., 2018). Fakat porsukta ilk visceral dal a. phrenica caudalis'tir (Yılmaz ve ark., 2004). Arteria celiaca mide, karaciğer, dalak ve pancreas ile ince barsakların başlangıç kesimlerinin beslenmesini sağlayan ortak köktür. Arteria gastrica sinistra, a. hepatica ve a. lienalis olmak üzere üç dala ayrılır (Dursun, 2008; Miller, 1964; Sission ve Grossman, 1964). A. lienalis, a. celiaca'dan ayrılan

üç dalın en kalını, a. gastrica sinistra en incesi (Dursun, 2008; Sission ve Grossman, 1964) olarak bildirilirken kızıl tilkilerde a. hepatica en kalını (1.64 mm), a. gastrica sinistra en incesi (1.10 mm) olarak dikkat çekti. A. celiaca'nın en kalın dalı bulgumuz uyuşmaz iken en ince dal bulgumuz aynıdır. Arteria gastrica sinistra; kedide (Nickel ve ark., 1981) ve Yeni Zelanda tavşanında (Abidu-figueiredo ve ark., 2008) a. celiaca'dan, köpekte ise a. lienalis'ten köken alır (Nickel ve ark., 1981). Kedilerde yapılan başka bir araştırmada (Borelli ve Boccalletti, 1974) a. celiaca'dan ayrılan ilk dalın çoğunlukla (%90) a. hepatica olduğu görülmüştür. Bazı durumlarda (%8) a. hepatica ve a.gastrica sinistra'nın ortak bir kök olarak çıktığı da belirlenmiştir. Sadece bir hayvanda a. hepatica, a. lienalis ve a. gastrica sinistra'nın ortak bir kökten çıktığı tespit edilmiştir. Köpeklerde yapılan çalışmada (Abidu-figueiredo ve ark., 2005) %56.7 oranında a. hepatica'nın tek dal olarak truncus gastrolienalis'in de ayrı bir dal olarak çıktığı belirlenirken %33.3'ünde üç damarın da tek bir kökten ayrıldığı rapor edilmiştir. Köpeklerdeki yüksek orana (Abidu-figueiredo ve ark., 2005; Awal ve ark. 2001) benzer olarak merkepte de aynı dallanma tespit edilmiştir (Karakurum ve Dursun, 2010). Kangal köpeklerinde ise üç damarın da a. celiaca'dan ayrı ayrı çıktığı belirlenmiştir (Gezici ve Dursun, 1999). Bizim çalışmamızda tüm materyallerde a. celiaca'dan ilk olarak a. hepatica'nın çıktığı, a. lienalis ve a. gastrica sinistra'nın ise tek kökten çıktığı görüldü. Bulgumuzun literatürde (Abidu-figueiredo ve ark., 2005; Borelli ve Boccalletti, 1974) bildirilen damarların çoğunun seyriyle benzer olduğu anlaşılmaktadır.

Köpekte a. lienalis'in; ramus pancreaticus, a. gastricae breves ve a. gastroepiploica sinistra dallarına ayrıldığı rapor edilmiştir (Budras ve ark., 2009; Dursun, 2008; Evans ve de Lahunta, 2013; N.A.V., 2017). Kızıl tilkilerde a. lienalis'ten iki damar ayrıldığı tespit edildi. Bunlardan extremitas dorsalis'e giden a. lienalis'in aa. gastricae breves isimli dalları, a. lienalis'in extremitas ventralis'e giden a. gastroepiploica sinistra dalı önce 3 dala daha sonra çok sayıda dallara ayrılarak midenin curvatura major'unda a. gastrica dextra ile anastomoz yaptığı gözlemlendi. Extremitas ventralis'e giden ana daldan pankreas'ı besleyen 2-3 ince dalın (rami pancreatici) ayrıldığı tespit edildi. Ağaç sansarında a. lienalis'in üç dala ayrıldığı bildirilirken (Yousefi, 2017) kızıl tilkilerde iki dala ayrıldığı görüldü.

Literatürde carnivor'larda a. hepatica'nın; ramus dexter lateralis, ramus dexter medialis, ramus sinister, a. gastrica dextra ve a. gastroduodenalis'e ayrıldığı, a. gastroduodenalis'in ise a. pancreaticoduodenalis ve a. gastroepiploica

dextra'yı verdiği bildirilmiştir. (Budras ve ark., 2009; Dursun, 2008; N.A.V., 2017). Kızıl tilkilerde de a. hepatica'nın ramus dexter lateralis, ramus dexter medialis, ramus sinister, a. gastrica dextra ve a. gastroduodenalis'e ayrıldığı fakat a. pancreaticoduodenalis cranialis ve a. gastroepiploica dextra'nın a. gastrica dextra'nın devamı şeklinde olduğu ortaya konuldu.

A. celiaca'nın ortalama uzunluğu carnivorlarda yapılan bazı çalışmalarda 20 mm (Dyce, 1987; Evans ve Lahunta, 2013; Nickel ve ark., 1979), sincapta (Akgöl ve Aydın, 2016) 30 mm, köpekte yapılan çalışmalarda 9.8 mm (Abidu-figueiredo ve ark., 2005) ile 16 mm (Ghiringhelli ve ark. 2016), Alman çoban köpeğinde 13-15 mm (Özcan ve ark., 2001), Kangal köpeğinde 20-25 mm (Gezici ve Dursun, 1999) olarak belirlenmiştir. Kızıl tilkilerde bu değer 14.37 ± 2.55 mm olarak ölçüldü. Literatür taramalarında a. celiaca'nın ortalama uzunluğu minimum 9.8 mm (Abidu-figueiredo ve ark., 2005) maksimum 30 mm (Akgöl ve Aydın, 2016) olarak ölçülmüştür. Minimum ve maksimum değerler dikkate alındığında kızıl tilkilerde a. celiaca uzunluğunun ortalama değerler arasında olduğu kanısına varıldı. Arteria celiaca'nın ortalama çapı köpeklerde 5.33 mm (Ghiringhelli ve ark. 2016) iken kızıl tilkilerde 2.11 mm olarak belirlendi. Roza ve ark., (2012)'nin köpekte yaptığı çalışmada damar uzunlukları a. hepatica'nın 27 mm, a. lienalis'in 21 mm, a. gastrica sinistra'nın 20 mm olarak tespit edilmiştir. Kızıl tilkilerde damar çapları uzunluğu sırasıyla 1.64 ± 0.13 , 1.33 ± 0.91 ve 1.10 ± 0.08 mm olarak belirlendi. Damar çaplarının uzunluk değerleri farklı olmasına rağmen en kalın damarların sırasıyla a. hepatica, a. lienalis ve a. gastrica sinistra olması bulgumuz aynıydı.

Carnivor'lar hiperaktif hayvanlar oldukları için travma ve trafik kazaları çok sık görülmektedir (Björnstig ve ark. 1991). Bu vakalar sonucunda dalak parçalanabilmekte ve splenektomi operasyonu gerekmektedir (Berland ve VanDyke). Splenektomi sırasında mideye gelen kan miktarının azalmasını engellemek için a. lienalis'in seyirini bilmek gerekmektedir. Evcil hayvanlara müdahale sırasında a. lienalis'in seyri bilindiği için sorun yaşanmamaktadır (Awal ve ark. 2001, Borelli ve Boccalletti 1974, Ghiringhelli ve ark. 2016). Fakat yaban hayvanlarından kızıl tilkilerde bu seyir bilinmemektedir. Sunulan çalışmada kızıl tilkilerde a. celiaca'nın morfometrisi, dalları ve seyirleri belirlendi. Sonuç olarak sunulan bu araştırmanın bulgularının evcil ve yaban hayvanı olan carnivor'lar üzerinde yapılacak olan splenektomi, mide ve karaciğer operasyonlarına destek olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Abidu-figueiredo M, Dias GP, Cerutti S, Carvalho-de-souza B, Maia RS, Babinski MA, 2005: Variations of celiac artery in dogs: Anatomic study for experimental, surgical and radiological practice. *Int J Morphol*, 23, 37-42.
- Abidu-figueiredo M, Xavier-Silva B, Cardinot TM, Babinski MA, Chages NA, 2008: Celiac artery in New Zealand rabbit: Anatomical study of its origin and arrangement for experimental research and surgical practice. *Pesq Vet Bras*, 28, 237-240.
- Akgöl B, Aydın A, 2016: Sincaplarda (*Sciurus vulgaris*) arteria celiaca'nın dağılımı. *Journal of Bahri Dagdas Animal Research*, 5, 1-11.
- Anonim, 2018: <http://altinotu.blogspot.com/2012/12/kzl-tilki-red-fox.html>, Erişim tarihi; 09.05.2018.
- Awal MA, Asaduzzaman M, Anam MK, Prohdan MAA, Kurohmaru M, 2001: Arterial supply to the stomach of Indigenous dog (*Canis familiaris*) in Bangladesh. *Exp Anim*, 50, 349-352.
- Berland LL, VanDyke JA, 1985: Decreased splenic enhancement on CT in traumatized hypotensive patients. *Radiology*, 156 (2), 469-47.
- Budras KD, Fricke W, Richter R, 2009: Veteriner Anatomi Atlası (Köpek). Çev.: Kürtül İ, Düzler A, Çevik Demirkan A, Atalgın ŞH, Bozkurt EÜ, Aksoy G, Eyo E, Özcan S, Sancak AA, Medipress matbaacılık yayıncılık, Ltd. Şti., Malatya, 62.
- Borelli V, Boccalletti D, 1974: Ramificação das aa. celiaca e mesentérica cranial no gato (*Felis catus domestica*). *Rev Fac Med Vet Zootec Univ*, 11, 263-270.
- Björnstig U, Eriksson A, Ornehult L, 1991: Injuries caused by animals. *Injury*, 22, 295-298
- Dursun N, 2008: Veteriner Anatomi II, Medisan Yayınevi, Ankara, 242-245.
- Dyce KM, 1987: Textbook of Veterinary Anatomy. W.B. Saunders Company, New York.
- Evans HE, de Lahunta A, 2013: Miller's Anatomy of the Dog. Fourth edition WB Sanders Company, Philadelphia, 367-386.
- Gezici M, Dursun N, 1999: Kangal köpeğinde a. celiaca'nın dağılımı. *Vet Bil Derg*, 15, 15-21.
- Ghiringhelli M, Brizzola S, Acocella F, Coretti D, 2016: Clinical anatomy of the celiac trunk in the dog: application for elective surgery or surgical emergency. S.I.S.V.E.T.-S.I.C.V., Palermo.
- Karakurum E, Dursun N, 2010: Merkepte (*Equus asinus L.*) midenin arterial vaskularizasyonu. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 143-418. DOI:10.9775/kvfd.2009.845.
- König HE, Liebich HG, 2015: Veteriner Anatomi (Evcil Memeli Hayvanlar), Systema cardiovasculare, Çev.: Özel Ö, Halıgür A, Karakurum E, Medipres, 6. baskı, 470.
- Larivière S, Pasitschniak-Arts M, 1996: Mammalian Species *Vulpes vulpes*. A S M. 537, 1-11.
- International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature. Nomina Anatomica Veterinaria (NAV), 2017: World Association of Veterinary Anatomists, 6th ed, Hanover, Germany.
- Miller ME, 1964: Anatomy of the Dog. Philadelphia : W. B. Saunders Company, 345-349.

- Nickel R, Schummer A, Seiferle E, 1981: The Anatomy of the Domestic Animals. Vol. 3, Verlag Paul Parey, Berlin, 159.
- Özcan S, Kürtül İ, Aslan K, 2001: Alman çoban köpeklerinde midenin arteriyel vaskülarizasyonu. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg*, 27(2), 487-494.
- Roza MS, Marinho GC, Pereira JA, Salvador-Gomes M, Abidu-Figueiredo M, 2012: Celiac artery with a pulmonary branch in dog: a rare variation. *J Morphol Sci*, 29(4), 253-255.
- Silva DRS, Silva MD, Assunção MPB, Chacur EP, Silva DCO, Barros RAC, Silva Z, 2018: Anatomy of the abdominal aorta in the hoary fox (*Lycalopex vetulus*, Lund, 1842). *Braz J Vet Res Anim Sci*, 55(4), 1-6.
- Sission SB, Grossman JD, 1964: The Anatomy of the Domestic Animals. 4th edition, Philadelphia London, W. B. Saunders Company, 673-675.

- Yılmaz S, Atalar Ö, Aydın A, 2004: The branches of the arteria celiaca in Badger. *Indian Vet J*, 183-187.
- Yousefi MH, 2017: Ramification of celiac artery in the pine marten (*Martes martes*). *Iran J Veterinary Sci Technol*, 8(2), 60-65.

*Bu çalışmanın özeti 1st International Veterinary Anatomy Congress' te (Sandıklı / TÜRKİYE), 13-16.09.2017 tarihlerinde poster olarak sunuldu.

****Sorumlu Yazar:** Gülseren Kırbaş Doğan

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Kars, Türkiye.

e-mail: glsrn36@gmail.com

Development of Selective Enrichment Medium for Clinical Isolates of *Vibrio vulnificus* Based upon Virulence Correlating Genes

Sedat CAM^{1,a,*}, Robin BRINKMEYER^{2,b}

¹Department of Biology, Harran University, Sanliurfa, Turkey

²Department of Marine Biology, Texas A&M University at Galveston, Texas, USA

^aORCID: 0000-0001-9030-6713, ^bORCID: 0000-0001-5058-8103

Geliş Tarihi: 11.06.2019

Kabul Tarihi: 04.12.2019

Abstract: The objective of this study was to find out if different enrichment media would influence the selection of clinical and environmental strains of *Vibrio vulnificus*. Therefore, traditional enrichment and maintenance medium for *V. vulnificus* were tested for selective preference for clinical or environmental strains. In the laboratory, Alkaline Peptone Water (APW) and Brain Heart Infusion Broth (BHIB), with adjusted salinity to that of APW, were inoculated with equal concentrations of clinical and environmental strains and incubated for 20 hr at 35 °C. BHIB selected for clinical strains (85%) as indicated by percentage of *vcgC* to *vvhA* genes, enumerated with quantitative PCR. In APW, the ratio of clinical (47%) to environmental strains (53%) was roughly equal. Enrichments of seawater with BHIB, APW, and Luria Bertani broth (LB) resulted in higher percentage of clinical strains in BHIB but not in APW or LB, in most samples. However seasonal differences in predominance of clinical or environmental strains in the seawater samples influenced the enrichment process. Our study suggests that BHIB10 might be advantageous for studying virulence factors and APW10 could be suitable for isolation and MPN enumeration in *V. vulnificus*. The selective preference of the BHIB10 medium for clinical strains indicates that iron plays an important role in the infection of the human host.

Keywords: *Vibrio vulnificus*, Selective enrichment, *vcgC*, *vvhA*.

Vibrio vulnificus Klinik İzolatlarının Virülens Genlerine Dayalı Olarak Selektif Zenginleştirme Ortamının Geliştirilmesi

Özet: Bu çalışmanın amacı, farklı zenginleştirme besiyerlerinin *V. vulnificus*'un klinik ve çevresel suşlarının seçimini etkileyip etkilemediğini bulmaktır. Bu nedenle, geleneksel zenginleştirme ve koruyucu besiyerlerinin selektif özellikleri, *V. vulnificus*'un klinik ve çevresel suşları için test edildi. Laboratuarda, aynı tuz konsantrasyonuna sahip Alkali Peptonlu Su (APW) ve Beyin Kalp İnfüzyon Broth (BHIB) eşit konsantrasyonlarda klinik ve çevresel suşlar ile ekimi yapıldı ve 35 °C' de 20 saat boyunca inkübe edildi. Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) sayım sonuçları; BHIB' de geliştirilen suşların %85' ini klinik suşlar olduğunu göstermiştir. Bu oran *vcgC* geninin *vvhA* genine yüzdelik hesaplamalarıyla belirlenmiştir. APW' de klinik suşların (47%) çevresel suşlara (53%) oranı neredeyse eşitti. BHIB, APW ve Luria Bertani (LB) broth ile zenginleştirilen deniz suyu numunelerinin büyük kısmında, klinik suşlarının toplam suşlara oranı BHIB'de yüksek çıkarken, APW ve LB'de çıkmamıştır. Ancak, deniz suyu örneklerinde klinik veya çevresel suşların birbirine oranında mevsimsel farklılıklar zenginleşme sürecini etkilemiştir. Çalışmamız BHIB10'un virülans faktörlerini çalışmak için avantajlı olabileceğini ve APW10'un *V. vulnificus*'ta izolasyon ve MPN sayımı için uygun olabileceğini göstermektedir. Tuzluluk oranı %10 olan BHIB besiyerinin klinik suşlar için selektif özelliği, demirin insanlarda oluşturduğu infeksiyonlarda önemli bir rol oynadığını gösterir.

Anahtar Kelimeler: *Vibrio vulnificus*, Selektif zenginleştirme, *vcgC*, *vvhA*.

Introduction

Life-threatening, halophilic, Gram-negative marine bacterium *Vibrio vulnificus* was first isolated by the Centers for Disease Control (CDC) in 1964 (Strom and Paranjpye, 2000), since then, tremendous threats to human health as well as seafood industry have been documented (Jones and Oliver, 2009; Strom and Paranjpye, 2000). This opportunistic human pathogen, among the most severe of all foodborne infections, causes primary septicemia and severe necrotizing wound infections with a mortality rate exceeding 50%, mostly in

susceptible individuals having an underlying disease such as hemochromatosis, immune disorders, and diabetes. Infection is mainly caused by ingestion of raw or undercooked oysters but can also be the result of exposure of pre-existing wounds to seawater or seafood products (Gulig et al., 2005; Strom and Paranjpye, 2000). Death occurs in one or two days after the onset of disease unless an effective treatment can be implemented (Gholami et al., 1998; Strom and Paranjpye, 2000).

V. vulnificus biotype 1, primarily infecting humans, has been demonstrated to have degrees of virulence. Strains isolated from hospital patients, referred to as 'clinical,' are highly virulent, whereas strains isolated from seawater, oysters, fish, and sediments, referred to as 'environmental,' are typically less virulent with some exceptions (DePaola et al., 1994; Hlady, 1997; Oliver et al., 1983; Potasman et al., 2002; Starks et al., 2000; Strom and Paranjpye, 2000; Wright et al., 1996). Human tissue appears to select for more virulent clinical strains of *V. vulnificus* while those isolated from oysters exhibit a high level of virulence diversity (Jackson et al., 1997).

Most studies of the virulence of *V. vulnificus* have relied upon isolate cultures. In the clinical environment *V. vulnificus* from tissues and blood are isolated on blood agars (Abbott et al., 2011). Isolation methods for environmental samples involve an overnight enrichment in alkaline peptone water (APW), having a salinity of 10 PSU, that selects for halophilic bacteria (Elliot et al., 1995). Enrichment is followed by streaking onto differential-selective agars. For several decades, thiosulfate-citrate-bile salts-sucrose (TCBS) agar was used to select for and isolate pathogenic *Vibrio* species (Kobayashi et al., 1963). Superior differential-selective media agars specific for *V. vulnificus* have since been developed and are now standard method. The first, cellobiose-polymyxin B-colistin (CPC) agar utilizes the resistance of *V. vulnificus* to colistin and polymyxin B for selection (Masad and Oliver, 1987). Other standard agars are modifications of CPC. Tamplin et al. (1991) modified CPC (mCPC) by reducing the amount of colistin to improve isolation success from environmental samples. Høi et al. (1998) was able to significantly increase the isolation rates of *V. vulnificus* from seawater and sediments by removing polymyxin B from CPC to make CC agar.

Because of the discovery of clinical and environmental strains it is important to know if standard methods for isolation (i.e. enrichment in liquid media followed by selective/differential agars) select for one strain over the other. Warner and Oliver (2007) determined through genotyping of the virulence correlating gene (*vcgC*) that CPC and mCPC agars select preferentially for clinical strains. We were interested in knowing if the prior overnight enrichment step with liquid media could preferentially select for clinical versus environmental strains of *V. vulnificus*. We compared APW, the traditional enrichment broth for *V. vulnificus* and other *Vibrios* (Kaysner and DePaola, 2004), to media employed for maintenance of *V. vulnificus* isolate cultures in the laboratory such as brain heart infusion broth (BHIB) (Rosche et al.,

2005; Warner and Oliver, 1999), and Luria Bertani broth (Campbell and Wright, 2003; Randa et al., 2004; Sanjuán et al., 2009).

Since standard isolation methods for *V. vulnificus* utilizes agars (i.e. CPC and mCPC) that select for clinical strains, we opted to use quantitative PCR (qPCR) assays to detect clinical strains directly in the enrichment media. QPCR allows for rapid detection of targeted sequences without the requirement of time-intensive isolation and has been used to examine *V. vulnificus* in the environment and in experimental settings (Campbell and Wright, 2003; Chase and Harwood, 2011; Gordon et al., 2008). Moreover, qPCR can quantify cells that might be excluded during isolation methods. We quantified the hemolysin/cytolysin gene-*vvhA* that is present in all *V. vulnificus* for total cell counts. Panicker et al. (2004), who developed the assay, found it to have absolute specificity for *V. vulnificus* and high correlation ($R^2 = 0.98$) with plate counts. The clinical variant of the virulence correlated gene (*vcgC*) was used to quantify clinical strains of *V. vulnificus* (Han et al., 2011). The *vcgC* gene clinical variant has a 90% detection rate in clinical isolates (Rosche et al., 2005). Two studies observed a high correlation ($R^2=0.98$; $R^2=0.99$, respectively) with the 16S rRNA type B gene (Çam et al., 2019; Han et al., 2009) that is also present in clinical isolates.

We hypothesized that different enrichment media will influence the selection for *V. vulnificus* clinical and environmental strains. Furthermore, we hypothesized that BHIB, which contains whole cells of calf brains and heart and has a higher iron concentration (24.5 μM) than other media we tested ($\sim 7 \mu\text{M}$) (Cam, 2016a), is most like human blood that selects for more virulent clinical strains. Normal iron concentrations of human serum are 14-32 μM in males and 10-28 μM in females and in persons with hemochromatosis 40 to 50 μM (Huebers et al., 1987; Nwafia et al., 2006). The purpose of the current study was to determine if the standard enrichment media APW is selective and would consequently influence the ratio of environmental versus clinical strains on differential-selective agars.

Materials and Methods

Isolate enrichments: This experiment was designed to test if clinical or environmental isolates were preferentially selected in enrichment media. Ten ml (3 replicates) of APW broth having a salinity of 10 PSU ('APW10') and BHIB with an adjusted salinity of 10 PSU ('BHIB10') were inoculated with equal volumes (10 μl) of log phase ($\text{OD}_{600} = 0.6$) clinical (BUF7211) and environmental (98-640)

strains of *V. vulnificus* (obtained from the U.S. FDA Gulf Coast Seafood Laboratory) and incubated for 20 hr at 35 °C with shaking at 100 rpm. After incubation, a 2 ml aliquot was transferred into 2 ml tubes, centrifuged for 10 min at 10.000 rpm (4 °C) to obtain a bacterial cell pellet and the supernatant was removed.

Seawater enrichments: This experiment was designed to determine if enrichment media preferentially enriched clinical versus environmental *V. vulnificus* from environmental samples. Five ml (3 replicates) of APW having a salinity of 10 PSU, APW with 1/2 concentration of NaCl ('APW5'; 5 PSU), BHIB ('BHIB5'; 5 PSU), BHIB modified to a salinity of 10 PSU, and Luria Bertani broth ('LB10'; 10 PSU), were inoculated with five ml of seawater, collected from six locations in Galveston Bay (GB4 lat 29.576801°/lon -94.934458°; GB6 lat 29.407004°/lon -94.806573°; GB12 lat 29.478671°/lon -94.757890°; GB17 lat 29.231857°/lon -94.989873°; GB25 lat 29.697525°/lon -94.783926°; GB29 lat 29.649323°/lon -94.811337°) in March, September, and November 2012 and vortexed then incubated for 20 hr at 35 °C with shaking at 100 rpm. After incubation, a 2 ml aliquot was transferred into 2 ml tubes, centrifuged for 10 min at 10.000 rpm (4 °C) to obtain a bacterial cell pellet and the supernatant was removed.

DNA extraction: CTAB (Cetyltrimethylammonium Bromide, 3%) method was followed for DNA extraction modified by Çam et al. (2019).

Quantitative PCR: To determine total *V. vulnificus*, we quantified *V. vulnificus* specific hemolysin (*VvhA*) genes with a SYBR Green quantitative PCR (qPCR) assay (Panicker et al., 2004). Total volume was 25 µL which contained 12.5 µL SYBR green Supermix (BioRad), 1 µM *vvh-L* primer (5'-TTCCAACCTCAAACCGAACTATGA-3'), 1 µM *vvh-R* primer (5'-ATTCCAGTCGATGCGAATACGTTG-3'), 2.5 mM MgCl₂, 1 X BSA, and 2 µL of template DNA. The PCR reaction was performed in a SmartCycler (Cepheid) at 94 °C for 2 minutes, followed by 45 cycles of at 94 °C for 15 seconds, at 56 °C for 15 seconds and at 72 °C for 25 seconds. Melt curve analysis was conducted from 60 °C to 94°C at increments of 0.2 °C per second. PCR positive control for qPCR runs and construction of standard curve was clinical strain BUF7211 obtained from the U.S. FDA Gulf Coast Seafood Laboratory.

To determine clinical strains, we used a SYBR Green qPCR assay that quantifies the clinical variant of the virulence correlating gene (*vcg*) (Han et al., 2011). Total volume was 20 µL which contained 10 µL SYBR green Supermix (BioRad), 1 µM of each primers; VCGF3 (5'-CGCCTTGTGTCAGTGTGCA-3') and VCGB3 (5'-TAACGCGAGTAGTGAGCCG-3'), 2.5

mM MgCl₂, 1 X BSA, and 2 µL of DNA template. The PCR reaction was performed in a SmartCycler (Cepheid) at 95 °C for 2 minutes for initial denaturation, followed by 45 cycles at 95 °C for 20 seconds and 60 °C for 30 seconds and 72 °C for 25 seconds. Melt curve analysis was conducted from 60 °C to 94°C at increments of 0.2 °C per second. PCR positive control for qPCR and for construction of standard curve was clinical strain BUF7211 obtained from the U.S. FDA Gulf Coast Seafood Laboratory.

Two sample T-test and One-way ANOVA (P<0.05) was conducted with STATA 13.1 (StataCorp). For ANOVA Bartlett's test was conducted *a priori* to ensure equal variances. Bonferroni *post hoc* test was used to determine differences in means (P<0.05).

Results

Isolate enrichments: *VvhA* concentration, as a proxy for *V. vulnificus* cells, was the same in enrichment media APW10 ($1.5 \times 10^6 \pm 3.7 \times 10^5$ CFU/ml) and BHIB10 ($1.6 \times 10^6 \pm 3.6 \times 10^5$) (Figure 1) (Two-sample T-test; P=0.8695). Percent *vcgC* genes were higher in the BHIB10 medium (85.6±3.4%) than in the APW10 medium (47.3±7.6%) (Two-sample T-test; P=0.0234) (Figure 1).

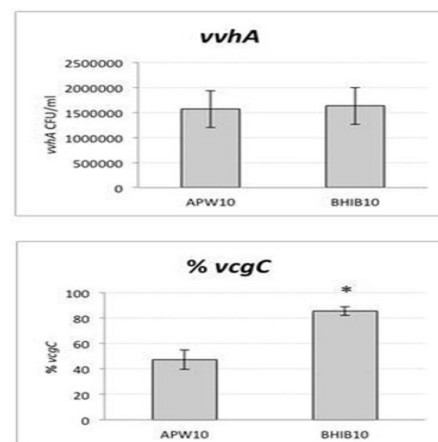


Figure 1. Concentration of *vvhA* (CFU/ml) and % *vcgC* genes in enrichment media APW10 and BHIB10. Asterisk denotes significant difference P<0.05.

Seawater enrichments: *VvhA* concentrations (CFU/ml) are presented in Figure 2 according to sampling date and station numbers. For samples collected on 3.22.12, no significant differences were observed between enrichments in samples GB12 and GB25 (ANOVA; P=0.748, P=0.245, respectively). Concentrations in sample GB17 enrichments APW5 and BHIB5 were significantly lower than APW10, BHIB10, and LB10 (ANOVA; P=0.0097). Total *V. vulnificus* (i.e. *vvhA* CFU/ml) in all samples ranged from 76±11 to 275±44 CFU/ml.

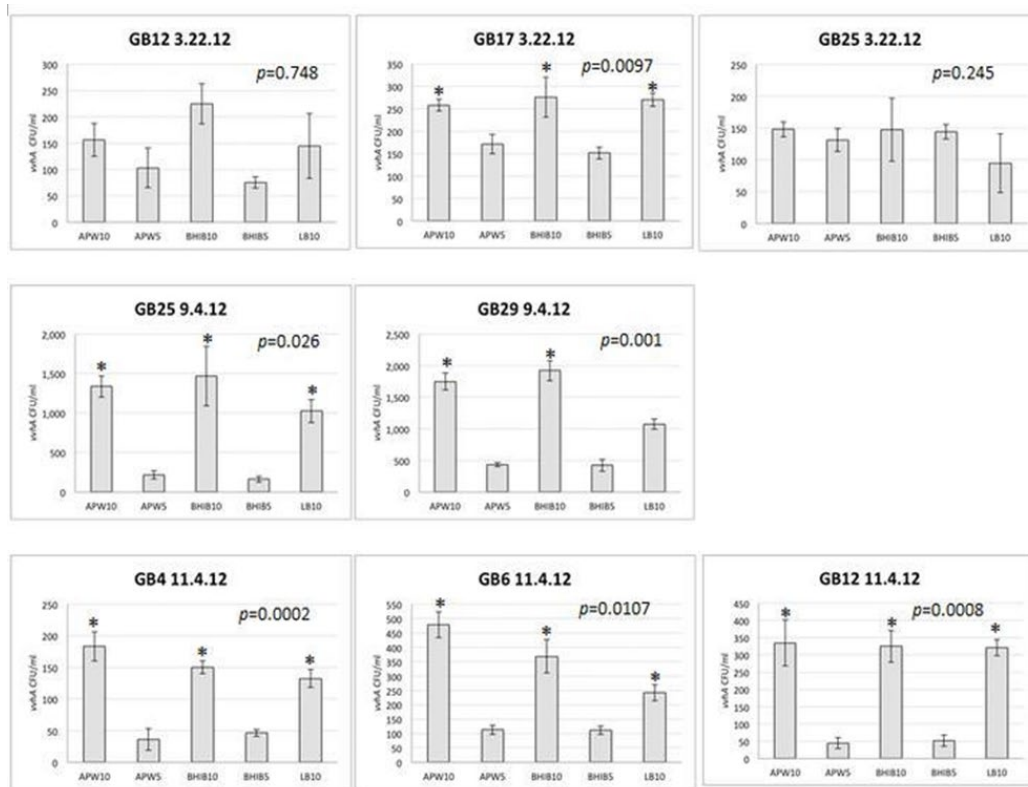


Figure 2. VvhA CFU/ml in seawater enriched with APW10, APW5, BHIB10, BHIB5, and LB10 for samples collected 3.22.12, 9.4.12, and 11.4.12 analyzed with one-way ANOVA, P<0.05. Asterisk denotes significance of P<0.05 in Bonferroni post hoc test.

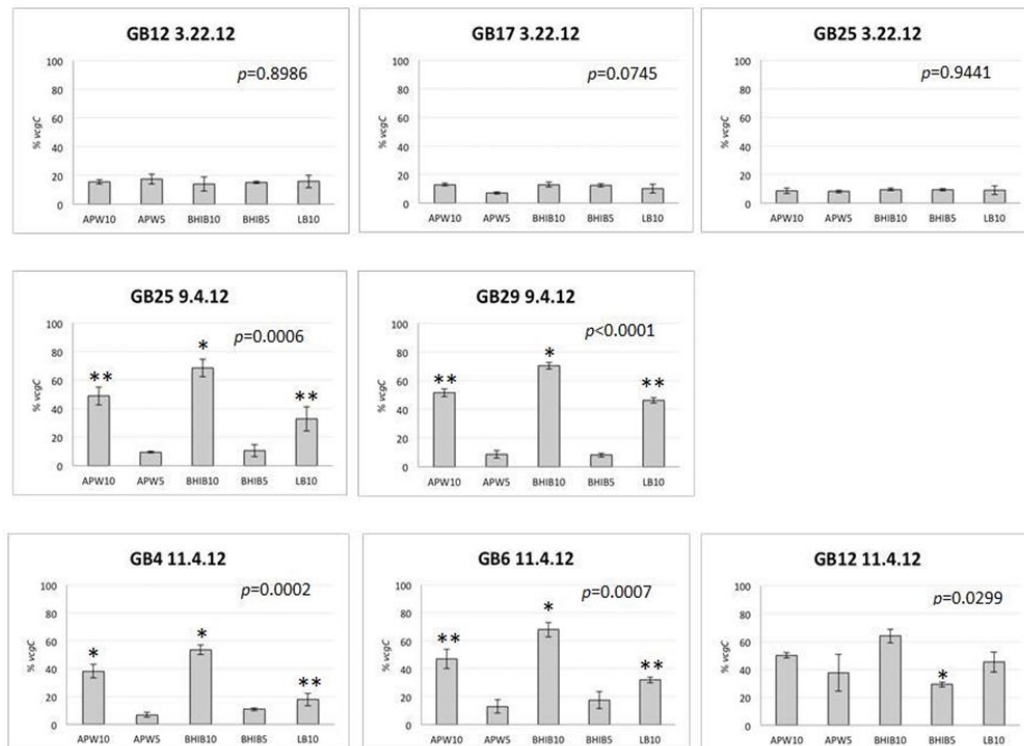


Figure 3. Percent vgc in seawater enriched with APW10, APW5, BHIB10, BHIB5, and LB10 for samples collected 3.22.12, 9.4.12, and 11.4.12 analyzed with one-way ANOVA, P<0.05. Asterisk denotes significance of P<0.01 and double asterisk P<0.05 in Bonferroni post hoc test.

For sample GB25, collected on 9.4.12, vvhA concentrations in enrichments APW10 (1,335±133 CFU/ml), BHIB10 (1,469±376 CFU/ml) and LB10 (1,026±145 CFU/ml) were not significantly different

from each other however they were approximately 4 to 6 fold higher (ANOVA; P=0.0026) than the other enrichments with APW5 and BHIB5. Enrichments APW10 (1,747±134 CFU/ml) and BHIB10

(1,920±158) in sample GB29, collected on the same day, had significantly higher *vvhA* concentrations than all other enrichments (ANOVA; $P=0.0001$). Enrichment LB10 (1,076±81) had significantly higher concentrations than APW5 (435±32 CFU/ml) and BHIB5 (422±92 CFU/ml) (Bonferroni *post hoc* test; $P=0.020$ and $P=0.018$, respectively).

For samples collected on 11.4.12, GB4, GB6, and GB12, *vvhA* concentrations in the APW10 (183±23, 335±66, 478±45 CFU/ml, respectively), BHIB10 (150±10, 368±57, 324±46 CFU/ml, respectively), and LB10 (132±14, 242±27, and 321±13 CFU/ml, respectively) enrichments were not significantly different from each other but were approximately 3 to 4 fold higher ($P=0.0002$, $P=0.0107$, and $P=0.0008$, respectively) than the other enrichments, APW5 and BHIB5. The percentage of *vcgC* gene counts out of total *V. vulnificus* cell counts (i.e. *vvhA*) are presented in Figure 3. according to sampling date and station numbers. All samples collected on 3.22.12 had low percentages (<20%) of the *vcgC* gene with no significant differences between enrichments.

Sample GB25 collected on 9.4.12 had significantly higher *vcgC* percentages in enrichment BHIB10 (68±6; $P<0.01$ Bonferroni *post hoc* test) than APW10 and LB10 (49±6 and 33±9%, respectively), that were higher ($P<0.05$, Bonferroni *post hoc* test) than the other enrichments having ~10% (ANOVA; $P=0.0006$). Percent *vcgC* genes in the BHIB10 enrichment (70±3%; $P<0.01$ Bonferroni *post hoc* test) from sample GB29 was significantly greater than all other enrichments APW10 (52±3%), APW5 (9±3%), BHIB5 (8±2%) and LB10 (46±2%) (ANOVA; $P<0.0001$).

Percent *vcgC* genes in enrichment BHIB5 from sample GB12 collected on 11.4.12 were significantly lower (ANOVA; $P=0.03$) than the other enrichments, which were equal to each other ($P<0.05$ Bonferroni *post hoc* test). While in samples GB4 and GB6, no differences in % *vcgC* was determined between enrichments APW10 and BHIB10 ($P<0.01$ Bonferroni *post hoc* test), but they were significantly greater than LB10 ($P<0.05$) that was higher than APW5 and BHIB5 (ANOVA; $P=0.0002$ and $P=0.0007$, respectively).

Discussion and Conclusions

In literature, liquid media typically used to maintain *V. vulnificus* isolate cultures or to enrich for *V. vulnificus* prior to plating on selective-differential agars for selective enrichment of clinical versus environmental strains. Standard isolation methods for *V. vulnificus* involve a prior enrichment step with Alkaline Peptone Water (APW) followed by streaking onto selective-differential agars. The

question is whether APW selects preferentially for clinical or environmental strains and whether Brain Heart Infusion Broth with its high iron content selects preferentially for clinical strains similar to the human host. As hypothesized, the BHIB10 medium selected for clinical strains of *V. vulnificus* likely due to the high iron content. Percent *vcgC* genes were higher in the BHIB10 medium (85%) in isolate enrichments as well as in seawater enrichments up to 70%. This selection could be advantageous for studying virulence factors in *V. vulnificus*. Similar to our findings, selective-differential agars have also been found to enrich clinical over environmental strains. Warner and Oliver (2007) determined through genotyping of the virulence correlating gene (*vcgC*) that CPC and mCPC preferentially select for clinical strains. But, there has been no study stating the preference of clinical over environmental strains in liquid media until the current study. The ratio of clinical (47%) to environmental strains (53%) in APW10 was roughly equal in isolate enrichments. Similar results were also obtained from seawater enrichments, indicating that APW10 could be suitable for isolation and MPN enumeration. Based upon the isolate enrichment results (Figure 1), we can conclude that ratios of clinical to environmental strains in the seawater enrichments were reflective of the actual starting concentrations when using the APW10 medium.

For seawater, the lack of significant differences between enrichments having different salinities observed in samples collected in March (Figure 1) might be explained by seasonal strain predominance differences (i.e. clinical versus environmental). Previous studies of Galveston Bay (Lin and Schwarz, 2003) have found that 'environmental' strains (i.e. 16S rRNA type A) predominate (up to 100%) in seawater and oysters from the early spring (March) to early summer (June) as water temperatures rise from below 10 °C up to ~25 °C and salinities are low (<10 PSU). Concentrations of *V. vulnificus* are also low in March (non-detectable to <10) and increase gradually with increasing water temperatures. Between late June and October, as temperatures increase to >25 °C and salinities increase up to 30 PSU, there is a shift to a predominance (>70%) of 'clinical' strains (i.e. 16S rRNA type B, *vcgC* positive). Concentrations of *V. vulnificus* are also highest in oysters (10^3 - 10^4 CFU/g) and seawater (~ 10^2 CFU/ml) during this time. Then as temperatures begin to decrease again in early November (<20 °C) but salinities are still >20 PSU, the ratio of clinical to environmental strains is roughly even. In November, concentrations of *V. vulnificus* also decline rapidly with decreasing temperatures. The

low concentration of *V. vulnificus* and the low percentage of clinical strains (i.e. % *vcgC*) in the March enrichments agree with the findings of these studies and we detected <20% *vcgC* genes for all enrichment types (Figure 3) indicating a predominance (>80%) of environmental strains.

Salinity appeared to be the key factor that influenced the concentration of *V. vulnificus* in the enrichments from seawater samples collected in September and November. These samples when enriched with the higher salinity broths (APW10, BHIB10, and LB10), had higher *vcgC* gene percentages than the broths having 5 PSU. The question is whether salinity is selecting for clinical strains or if clinical strains were already predominant in the original sample. The answer may be both. Ambient salinities in the seawater used for these enrichments were 10 to 18 PSU higher than in the March samples (~10 PSU). Moreover, Lin and Schwarz (2003), who examined 16S rRNA types (A/B) in Galveston Bay seawater and oysters, found a predominance of 16S rRNA type B strains in August to November with salinities ranging from 21 to 29 PSU and temperatures ranging from 23 °C to 30 °C. Similar observations were also made when examining clinical versus environmental strains in Galveston Bay oysters (Çam et al., 2019). The 5 PSU salinity in the enrichment broths APW5 and BHIB5 may have selected for environmental strains (i.e. 16S rRNA type A) or may have limited growth of clinical strains as percent *vcgC* genes were lower in these treatments. Chase and Harwood (2011), who examined the influence of temperature and salinity on clinical strains of *V. vulnificus*, found that highest growth rate (3.97 generations/hr) was achieved at temperature of 37 °C and salinity of 25 PSU. Growth rate at the same temperature but at a lower salinity of 5 PSU was significantly lower (2.03 generations/hr). At 10 PSU, growth rate (3.24 generations/hr) was still significantly higher than at 5 PSU.

Enrichment with BHIB10 selected for a higher percentage of virulent clinical strains (i.e. *vcgC* positive) than the other enrichment media in the September samples. Percent clinical strains in the BHIB10 medium was ~20% higher than in the APW10 medium and ~30% higher than in the LB10 medium. All of these media contain 1% oligopeptides derived from digests of protein, but BHIB also contains 50% infusions of calf brains and beef hearts that increase the iron content by 17.5 µM. The high iron content in BHIB stimulates cytolysin/hemolysin activity of *V. vulnificus* (Kim et al., 2009; Tison and Kelly, 1984) and induces production of flagellar proteins that are integral for

adhesion and biofilm formation in *V. vulnificus* (Alice et al., 2008). This trend was weakly continued in the November samples with only one sample (GB6; Figure 2) having significantly higher percent clinical strains in the BHIB10 medium. It is apparent that salinity also plays a role in selecting for clinical strains since the BHIB5 medium with lower salinity had 50-60% lower percent clinical strains than BHIB10.

Different enrichment media selected for different ratios of clinical to environmental strains. Seasonality of *Vibrio vulnificus* clinical and environmental isolates influenced the starting inoculum and ultimately the selective enrichment for clinical strains in all media tested. The enrichment of seawater results indicated that not only does the starting ratio matter, so does the salinity of the seawater inoculum. In other words, seasonal differences in predominance of clinical or environmental strains in seawater influence the enrichment process. The selective preference of the BHIB10 medium for clinical strains indicates that iron plays an important role in the infection of the human host.

Acknowledgements

This study was supported by Texas A&M University at Galveston, Galveston, TX, USA.

References

- Abbott SL, Janda M, Farmer JJ, 2011: *Vibrio* and related organisms. In "Manual of Clinical Microbiology", Ed; Versalovic J, Carroll KC, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC, Landry ML, Warnock DW Inc., 10th ed. Washington, D.C. ASM Press. pp. 666-76.
- Alice AF, Naka H, Crosa JH, 2008: Global gene expression as a function of the iron status of the bacterial cell: Influence of differentially expressed genes in the virulence of the human pathogen *Vibrio vulnificus*. *Infect Immun*, 76, 4019-37.
- Çam S, 2016a: Environmental Influences on Virulence Factors in *Vibrio Vulnificus*. PhD thesis, Texas A&M University, USA, pp. 67-99
- Campbell MS, Wright AC, 2003: Real-time PCR analysis of *Vibrio vulnificus* from oysters. *Appl Environ Microbiol*, 69, 7137-44.
- Chase E, Harwood VJ, 2011: Comparison of the effects of environmental parameters on growth rates of *Vibrio vulnificus* biotypes I, II, and III by culture and quantitative PCR analysis. *Appl Environ Microbiol*, 77, 4200-7.
- Çam S, Brinkmeyer R, Schwarz JR, 2019: Quantitative PCR enumeration of *vcgC* and 16S rRNA type A and B genes as virulence indicators for environmental and clinical strains of *Vibrio vulnificus* in Galveston Bay oysters. *Can J Microbiol*, 65, 613-621.

- DePaola A, Capers GM, Alexander D, 1994: Densities of *Vibrio vulnificus* in the intestines of fish from the U.S. Gulf Coast. *Appl Environ Microbiol*, 60, 984-8.
- Elliot EL, Kaysner CA, Jackson HJ, Tamplin ML, 1995: *V. cholerae*, *V. vulnificus*, and other *Vibrio* spp. FDA Bacteriological Analytical Manual. Arlington, USA.
- Gholami P, Lew SQ, Klontz KC, 1998: Raw shellfish consumption among renal disease patients. A risk factor for severe *Vibrio vulnificus* infection. *Am J Prev Med*, 15, 243-5.
- Gordon KV, Vickery MC, DePaola A, Staley C, Harwood VJ, 2008: Real-time PCR assays for quantification and differentiation of *Vibrio vulnificus* strains in oysters and water. *Appl Environ Microbiol*, 74, 1704-9.
- Gulig PA, Bourdage KL, Starks AM, 2005: Molecular pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *J Microbiol*, 43, 118-31.
- Han F, Pu S, Hou A, Ge B, 2009: Characterization of clinical and environmental types of *Vibrio vulnificus* isolates from Louisiana oysters. *Foodborne Pathog Dis*, 6, 1251-8.
- Han F, Wang F, Ge B, 2011: Detecting potentially virulent *Vibrio vulnificus* strains in raw oysters by quantitative loop-mediated isothermal amplification. *Appl Environ Microbiol*, 77, 2589-95.
- Hlady WG, 1997: *Vibrio* infections associated with raw oyster consumption in Florida, 1981-1994. *J Food Prot*, 60, 353-7.
- Huebers HA, Eng MJ, Josephson BM, Ekpoom N, Rettmer RL, Labbe RF, Pootrakul P, Finch CA, 1987: Plasma iron and transferrin iron-binding capacity evaluated by colorimetric and immunoprecipitation methods. *Clin Chem*, 33, 273-7.
- Høi L, Dalsgaard I, Dalsgaard A, 1998: Improved isolation of *Vibrio vulnificus* from seawater and sediment with cellobiose-colistin agar. *Appl Environ Microbiol*, 64, 1721-4.
- Jackson JK, Murphree RL, Tamplin ML, 1997: Evidence that mortality from *Vibrio vulnificus* infection results from single strains among heterogeneous populations in shellfish. *J Clin Microbiol*, 35, 2098-101.
- Jones MK, Oliver JD, 2009: *Vibrio vulnificus*: Disease and pathogenesis. *Infect Immun*, 77, 1723-33.
- Kaysner CA, DePaola A, 2004: *Vibrio*. In "Bacteriological Analytical Manual", Ed; Hammack T, Davidson MW, Feng P, Gharst G, Ge B, Jinneman K, Regan PM, Kase J, Orlandi P, Burkhardt W, U.S. Food and Drug Administration, Washington, D.C..
- Kim CM, Chung YY, Shin SH, 2009: Iron differentially regulates gene expression and extracellular secretion of *Vibrio vulnificus* cytolysin-hemolysin. *J Infect Dis*, 200, 582-9.
- Kobayashi T, Enomoto S, Sakazaki R, Kuwahara S, 1963: A new selective isolation medium for *Vibrio* group on a modified Nakanishi's medium (TCBS agar medium). *Jpn J Bacteriol*, 18, 387-92.
- Lin M, Schwarz JR, 2003: Seasonal shifts in population structure of *Vibrio vulnificus* in an estuarine environment as revealed by partial 16S ribosomal DNA sequencing. *FEMS Microbiol Ecol*, 45, 23-7.
- Masad G, Oliver JD, 1987: New selective and differential medium for *Vibrio cholerae* and *Vibrio vulnificus*. *Appl Environ Microbiol*, 53, 2262-4.
- Nwafia WC, Aneke JO, Okonji CU, 2006: Serum iron and total iron binding capacity levels among the ABO blood groups in Enugu, South Eastern Nigeria. *Niger J Physiol Sci*, 21, 9-14.
- Oliver JD, Warner RA, Cleland DR, 1983: Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting *Vibrios* in the marine environment. *Appl Environ Microbiol*, 45, 985-98.
- Panicker G, Myers ML, Bej AK, 2004: Rapid detection of *Vibrio vulnificus* in shellfish and Gulf of Mexico water by real-time PCR. *Appl Environ Microbiol*, 70, 498-507.
- Potasman I, Paz A, Odeh M, 2002: Infectious outbreaks associated with bivalve shellfish consumption: A worldwide perspective. *Clin Infect Dis*, 35, 921-8.
- Randa MA, Polz MF, Lim E, 2004: Effects of temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* population dynamics as assessed by quantitative PCR. *Appl Environ Microbiol*, 70, 5469-76.
- Rosche TM, Smith DJ, Parker EE, Oliver JD, 2005: A rapid and simple PCR analysis indicates there are two subgroups of *Vibrio vulnificus* which correlate with clinical or environmental isolation. *Microbiol Immunol*, 49, 381-9.
- Sanjuán E, Fouz B, Oliver JD, Amaro C, 2009: Evaluation of genotypic and phenotypic methods to distinguish clinical from environmental *Vibrio vulnificus* Strains. *Appl Environ Microbiol*, 75, 1604-13.
- Starks AM, Schoeb TR, Tamplin ML, Parveen S, Doyle TJ, Bomeisl PE, Escudero GM, Gulig PA, 2000: Pathogenesis of infection by clinical and environmental strains of *Vibrio vulnificus* in iron-dextran-treated mice. *Infect Immun*, 68, 5785-93.
- Strom MS, Paranjpye RN, 2000: Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Microb Infect*, 2, 177-88.
- Tamplin ML, Martin AL, Ruple AD, Cook DW, Kaspar CW, 1991: Enzyme immunoassay for identification of *Vibrio vulnificus* in seawater, sediment, and oysters. *Appl Environ Microbiol*, 57, 1235-40.
- Tison DL, Kelly MT, 1984: Factors affecting hemolysin production by *Vibrio vulnificus*. *Curr Microbiol*, 10, 181-4.
- Warner E, Oliver JD, 2007: Refined medium for direct isolation of *Vibrio vulnificus* from oyster tissue and seawater. *Appl Environ Microbiol*, 73, 3098-100.
- Warner JM, Oliver JD, 1999: Randomly amplified polymorphic DNA analysis of clinical and environmental isolates of *Vibrio vulnificus* and other *Vibrio* species. *Appl Environ Microbiol*, 65, 1141-4.
- Wright AC, Hill RT, Johnson JA, Roghman M-C, Colwell RR, Morris JG, 1996: Distribution of *Vibrio vulnificus* in the Chesapeake Bay. *Appl Environ Microbiol*, 62, 717-24.

Corresponding author: Sedat CAM, Department of Biology, Harran University, 63100, Şanlıurfa, Turkey.
E-mail: sedatcam@harran.edu.tr

Aydın Yöresindeki Sığırlarda Mavidil Enfeksiyonunun (BTV serotip 4, 9 ve 16) Serolojik Araştırılması

İrfan ÖZGÜNLÜK^{1,a,*}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

^aORCID: 0000-0002-6003-8612

Geliş Tarihi: 16.07.2019

Kabul Tarihi: 21.08.2019

Özet: Bu çalışmada, Aydın ili sığırlarında mavidil enfeksiyonunun serolojik tespiti ve farklı yaş grupları arasında seropozitiflik oranlarının dağılımının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, Aydın ilinde bulunan dört özel çiftlikten, yaşları 1 gün ile 9 yıl arasında değişen sığırlardan toplanan serum örnekleri kullanıldı. Sığırlar, yaşlarına göre on grupta sınıflandırıldı. *Bluetongue virus* (BTV) karşı spesifik antikör tespiti amacıyla mikro nötralizasyon tekniğinden faydalanıldı. Çalışmada kullanılan toplam 288 serum örneğinin yapılan laboratuvar tetkikleri neticesinde, BTV tip 4, 9 ve 16 için sırası ile %33.33 (96/288), %51.04 (147/288) ve %24.65 (71/288) seropozitiflik oranları belirlendi. BTV seropozitifliği %64.24 (185/288) olarak tespit edildi. Örneklenen tüm hayvanlarda BTV'nin bir, iki veya her üç tipi için seropozitif hayvanların sayı ve oranları sırasıyla 91 (%31.60), 59 (%20.49) ve 35 (%12.15) olarak tespit edildi. Test sonuçlarına uygulanan istatistiksel sonuca dayanarak, bu üç serotipin varlığı ile yaş arasında anlamlı ilişki görülmedi. Sonuçlar, sığırların yaşlarına bakılmaksızın BTV'ye duyarlı olduklarını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Bluetongue, Sığır, Seroloji, Aydın.*

Serological Investigation of Bluetongue Infection (BTV type 4, 9 and 16) in Cattle in Aydın Province in Turkey

Abstract: In this study we aimed to serologically determine *Bluetongue Virus* (BTV) infections and to assess the distribution of seropositivity rates between different age groups in cattle in Aydın province in Turkey. For this purpose, sera samples collected from cattle whose ages ranged from 1 day to 9 years old, in four private farms, found in Aydın province were used. The cattle were classified in ten groups based on their ages. A total of 288 sera were tested for antibodies against the serotypes BTV 4, BTV 9 and BTV 16 by using micro neutralization technique. Seropositivity rates in sampled population for BTV serotype 4, 9 and 16 were found to be 33.33% (96/288), 51.04% (147/288) and 24.65% (71/288), respectively. Seroprevalence for BTV were detected as 64.24% (185/288). Out of all sampled animals, the number and rates of seropositive animals for one, two or three serotypes of BTV were 91 (31.60%), 59 (20.49%) and 35(12.15%), respectively. Based on the statistical results applied to the test results, no statistically significant correlation was found between the presence of these three serotypes and age. The results suggested that cattle are sensitive to BTV irrespective of the age.

Keywords: *Bluetongue, Cattle, Serology, Aydın.*

Giriş

Mavidil hastalığı (MD); uluslararası terminolojide *Bluetongue Disease* (BT) olarak isimlendirilen, *Culicoides* (bitting midgs) cinsi sinekler ile nakledilen, evcil ve vahşi ruminantların *arboviral* bir enfeksiyonudur (Ducheyne ve ark., 2007; Saif, 2011). Hastalığın etkeni olan *Bluetongue Virusunun* (BTV), birbiriyle yakın antijenik yakınlığı bulunan 27 serotipi bildirilmiştir (Mertens, 1999; Saif, 2011; Jenckel ve ark., 2015). BTV koyunlarda beden ısısında artış, ağız mukozasında konjesyon, ödem, hemoraji, hiperemi ve ülserler, koronitis ve topallık ile karakterize bir enfeksiyona neden olur (Maclachlan, 2011; Roy, 2002; Saif, 2011). Buna ilaveten, BTV sığırlarda fötal ölüm, kongenital anomaliler ve yavru atmalarına da sebep olarak döl veriminin düşmesine neden olmaktadır

(Maclachlan, 2011; Murphy ve ark., 1999; Sperlova ve Zendulkova, 2011).

BTV ilk kez 19. yüzyılda Afrika'da görülmesine rağmen ancak 1902'de tanımlanmıştır (Herald, 1954) ve Afrika dışında varlığının bildirildiği ilk yerlerden biride 1943'te Türkiye'ye oldukça yakın bir ada olan Kıbrıs olmuştur. Türkiye'de 1944-1947 yılları arasında Hatay'da ilk kez varlığı rapor edilmiştir. Hatay'da görülen bu salgın, alınan ciddi önlemler sayesinde sonlandırılmıştır. Ancak ikinci salgın 1977'de Ege Bölgesi'nde gözlemlendikten (Urman ve ark., 1979) sonra Marmara ve Akdeniz Bölgelerinde de görülmüş ve bu enfeksiyonlarda etkenin *BTV Tip-4* olarak izolasyon ve identifikasyonu yapılmıştır (Yonguc ve ark., 1982). Türkiye'de, BTV enfeksiyonunun daha sonraki salgınlarından günümüze dek yapılan birçok çalışma

ile etken olarak (serolojik ve/veya virolojik) *BTV Tip-4, 9 ve 16* tespiti yapılmıştır (Erturk ve ark., 2004).

Bir koyun hastalığı olan mavidil enfeksiyonu, koyunlarda ciddi enfeksiyonlara neden olsa da BT virusunun tek memeli rezervuarı sığırlar olup hastalığın epidemiyolojisinde önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmada, Aydın ilindeki sığırlarda mavidil enfeksiyonunun prevalansının tespiti ve BTV'nin 4, 9 ve 16 serotiplerinin dağılımının araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Serum örneklerinin toplanması ve hazırlanması: Çalışmada kullanılan numuneler Aydın yöresinde bulunan sütçü sığır yetiştiriciliği yapılan işletmelerden temin edildi. Bu amaçla, Aydın il sınırları içinde bulunan 4 farklı süt sığırı işletmesine gerçekleştirilen seyahatler neticesinde toplam 288 sığırdan kan numunesi alındı. Toplanan kan numuneleri laboratuvarında işlenerek serum elde edildi (Tablo 1). Bu amaçla, öncelikle sığırların vena jugularisinden bir kanül yardımı ile vakumlu ve silikon içeren tüplere alınan kan 1 gün buzdolabında bekletildi. Bu sürenin sonunda pıhtılaşan kan tüpleri 3000 devirde santrifüj edildi. Silikon tabaka ile kan hücrelerinden ayrılan ve üstte kalan serum bir Pasteur pipeti yardımı ile steril stok tüplerine alındı. Bütün serumlar 56°C 30 dakika süre ile inaktive edildi ve testte kullanıncaya kadar -20°C derin dondurucuda muhafaza edildi. Bu çalışmada örneklenen hiçbir sığır aşıları değildi ve herhangi bir klinik semptom göstermemekteydi.

Virüsler: Nötralizasyon testinde mavidil virüsünün serotipleri (BTV 4, BTV-9 ve BTV-16) kullanıldı. Çalışmada kullanılan kontrol virus suşları Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalından temin edildi.

Hücre kültürü: Virüslerin üretilmesi, titrelerinin belirlenmesi ve nötralizasyon testinin bütün aşamalarında Vero hücre kültüründen kullanıldı. Hücre üretme ortamı olarak %10 fetal dana serumu (FCS) ilave edilmiş DMEM (Dulbecco's minimal essential medium)'dan faydalanıldı.

Serum nötralizasyon testi (SNT): Serolojik teknik olarak kullanılan Serum Nötralizasyon Testi (SNT) önceden bildirildiği şekilde yapıldı (Karaoglu ve ark., 2007). SNT serotip spesifik bir test olup serolojik çalışmalarda oldukça hassas ve güvenilir olduğu bildirilen bir tekniktir (Sperlova ve Zendulkova, 2011). BTV-4, BTV-9 ve BTV-16 spesifik antikor varlığının tespiti için serum örnekleri 1:10 oranında DMEM ile sulandırıldı. Mikro nötralizasyon tabletleri üzerinde her serum numunesi için yan yana iki kuyucuk ayrıldı ve numaralandırıldı. Sulandırılan her serum örneği kendisi için ayrılan ve numaralandırılan bu kuyucuklara 50 µl konulduktan

sonra serum örneklerinin konulduğu kuyucukların üzerine eşit hacimde (50 µl) BTV (100DKID₅₀ oranında sulandırılmış) ilave edildi. Virüs kontrol (100 µl 100DKID₅₀ oranında sulandırılmış virustan konuldu) ve hücre kontrol (100 µl DMEM konuldu) için dörder kuyucuk ayrıldı. Mikro nötralizasyon tabletleri %5 CO₂'li ve 37°C'lik ortama sahip etüvde bir saat bekletildi. İnkubasyonun sonunda mikro nötralizasyon pleytlerinin tüm kuyucuklarına 300.000 hücre/ml hücre süspansiyonundan (Vero) 50 µl konuldu ve tekrar aynı koşullarda inkübatöre kaldırıldı. Her gün hücre kontrol ve virus kontrol invert ışık mikroskobu ile gözlemlendi. Yapılan kontrollerle 4-5. gün sonunda CPE oluşumuna göre test sonuçları değerlendirildi. Öncelikle hücre kontrolde 4/4 CPE negatif, virüs kontrolde ise 4/4 CPE pozitif gözlemlendi. Testte kullanılan bütün BTV serotipleri sitopatolojik etki (CPE) yaparak çoğalmakta idi. Bu sebeple CPE gözlemlenmeyen gözlerde virüsün serum numunesinde bulunan spesifik antikorlar tarafından nötralize edildiği şeklinde yorumlandı ve bu serum numuneleri seropozitif olarak kabul edildi.

İstatistiksel analiz: Mavi dil seropozitivite ve yaş grupları arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi için SPSS 22.0 programında chi-square (χ²) testinden yararlanıldı.

Bulgular

Test edilen 288 serum örneğinin 185 (%64.24) adedi BTV'nin bir veya birkaç serotipine karşı seropozitif olduğu belirlendi. Sadece 103 hayvan (%35.76) BTV'nin hiçbir serotipine karşı spesifik antikor bulundurmadığı tespit edildi (Tablo 1). Tablo 1 incelendiğinde tek bir tip, 2 tip ve her 3 tipe karşı antikor pozitif hayvanların sayısı ve oranları sırası ile 91/288 (%31.60), 59/288 (%20.49) ve 35/288 (%12.15) olduğu görüldü. Bir veya birden fazla BTV serotipine karşı spesifik antikor bulunduran serum örnekleri Tablo 1'de gösterildi. Örneklenen hayvanların yaş dağılımı ve BTV 4, 9 ve 16 tiplerine karşı pozitiflik oranları Tablo 2'de özetlendi. Bütün hayvanlar BTV'nin üç serotipine karşı ayrı ayrı yapılan SNT sonucunda, BTV 4, 9 ve 16 serotipleri için seroprevalans sırası ile %33.33, %51.04 ve %24.65 olarak bulundu (Tablo 2).

Tablo 2'deki veriler incelendiğinde bütün yaş grupları için seropozitifliğin belirlendiği görülmektedir. Serum örneklerinin 76 adedi 6 veya altı yaşından küçük yavrulara ait idi ve bu hayvanlar için BTV serotip 4, 9 ve 16 seropozitiflik oranları sırası ile 19 (%25.00), 26 (%34.21) ve 11 (%14.47) olarak tespit edildi. Serum örneklenen hayvanların 212 adedi ise 7 ay ile 9 yıl arasında değişen yaşta idi ve bu hayvanların 77 (%36.32)'sinde BTV serotip 4 için, 121 (%57.08) adedinde için BTV serotip 9 için

ve 60 (%28.30) adedi için BTV serotip 16 spesifik antikor varlığı belirlendi (Tablo 2). Yaş grupları arasında seropozitivlik chi-square (χ^2) testi ile

değerlendirildiğinde istatistiksel olarak fark önemsiz olarak ($P>0.05$) tespit edildi.

Tablo 1. BTV serotip 4, 9 ve 16 için (tekli, ikili ve üçlü) seropozitif hayvan sayısı ve prevalansları.

Toplam hayvan sayısı	Tekli enfeksiyon Adet (%)			İkili enfeksiyon Adet (%)			Üçlü enfeksiyon Adet (%)
	BTV-4	BTV-9	BTV-16	BTV-4-9	BTV-4-16	BTV-9-16	BTV-4-9-16
	19(6.60)	63(21.86)	9(3.13)	32(11.11)	10(3.47)	17(5.90)	35(12.15)
288	91/288(31.60)			59/288(20.49)			35/288(12.15)
Toplam pozitif hayvan sayısı ve oranı (%)							185(64.24)
Toplam negatif hayvan sayısı ve oranı (%)							103(35.76)

Tartışma ve Sonuç

Türkiye için büyük ve küçükbaş hayvan yetiştiriciliği, ulusal hayvan varlığının giderek azalması, hızlı nüfus artışı ve dolayısıyla başta et olmak üzere hayvansal ürünlere olan talebin artması sebebiyle, giderek önem kazanmaktadır. Bazı viral etkenlerin hayvan yetiştiriciliği üzerine etkisi önemli olmaktadır (Murphy ve ark., 1999). Mavidil enfeksiyonu evcil hayvanlar için önem arz eden bir enfeksiyondur. Çalışmamızda BTV antikorlarının tespitinde faydalandığımız SNT

oldukça duyarlı ve hızlı sonuç alınan bir test olduğu bildirilmektedir (Sperlova ve Zendulkova, 2011). BTV'nin 27 serotipinden üçünün Türkiye'de varlığı rapor edilmiş (Erturk ve ark., 2004) ve benzer bir coğrafik dağılım gösteren bu 3 serotipin hedef konak olan sığır, koyun ve keçilerde yüksek seroprevalansta görüldüğü vurgulanmaktadır (Burgu ve ark., 1992; Erturk ve ark., 2004). Mavidil hastalığı endemik bölgelerde sığır, koyun ve keçi yetiştiriciliğinde verimliliği düşürerek ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Murphy ve ark., 1999).

Tablo 2. Sığırların yaş dağılımı ve yaş gruplarına göre BTV 4, 9 ve 16 serotiplerinin seroprevalansı.

Yaş (Yıl)	Hayvan sayısı	BTV 4		BTV 9		BTV 16	
		Adet	%	Adet	%	Adet	%
≤0.5	76	19	25.00	26	34.21	11	14.47
>0.5-1	12	5	41.67	8	66.67	1	8.33
2	42	10	23.81	22	52.38	6	14.29
3	49	15	30.61	21	42.86	12	24.49
4	38	19	50.00	21	55.26	13	34.21
5	30	11	36.67	17	56.67	11	36.67
6	15	5	33.33	13	86.67	8	53.33
7	14	8	57.14	10	71.43	5	35.71
8	7	4	57.14	6	85.71	2	28.57
9	5	0	0.00	3	60.00	2	40.00
Toplam	288	96	33.33	147	51.04	71	24.65

İklim koşullarının uygun olması nedeniyle tropik ve subtropik bölgede yaşayan 1400'den fazla *Culicoides* türü bulunmaktadır (Coetzee ve ark., 2012; Tabachnick, 2004). Ancak sadece bunlardan

30 kadarının mavidil hastalığının epidemiyolojisinde direkt etkili oldukları bildirilmektedir (Coetzee ve ark., 2012; Gibbs ve Greiner, 1994; Hawkes, 1996; Tabachnick, 2004). Vektörün habitatına bağlı olarak

mavidil hastalığı vektörün yoğun bulunduğu tropik ve subtropik bölgede 34° güney ve 53° kuzey enlemleri arasında yaşayan ruminantlarda görülmektedir (Coetzee ve ark., 2012; Tabachnick, 2004). Türkiye’de, *Culicoides* türlerinin mavidil hastalığı etkeninin bulaştırılmasından sorumlu oldukları belirtilmekte ve 59 türünün identifiye edildiği bildirilmektedir (Dik ve ark., 2017; Ozgunluk, 2009).

Mavidil hastalığı, döl veriminde düşme, abortlar ve kongenital malformasyonlara neden olan ruminantların önemli bir enfeksiyonudur (Murphy ve ark., 1999). Enfeksiyonunun epidemiyolojisinde rezervuar hayvanlar, vektör ve iklimsel koşullar gibi 3 büyük bileşen belirleyicidir. Nadiren klinik semptom gösteren sığır en önemli rezervuardır (Ducheyne ve ark., 2007; Gibbs ve Greiner, 1994; Gorman, 1990; Lunderbold ve ark., 2003). Koyunlarda viremi 30 gün kadar iken (Goldsmıt ve ark., 1975) sığırlarda bu süre 100 gün kadardır (Luedke ve ark., 1977). Sığırlarda vireminin bu kadar uzun sürmesi sığırların yalnızca rezervuar olup koyunlar için bir virüs kaynağı olmanın ötesinde bir etki yaratır. Şöyle ki; mavidil enfeksiyonunun biyolojik vektörleri olan *Culicoides*ler soğuk iklim koşulları nedeniyle kışın aktif değildir ve dolayısı ile etken sirkülasyonunun olmadığı bu dönemi virüs sığırlarda viremi şeklinde geçirerek (overwintering, kışı atlatmak) sonraki ilk baharda aktif olan vektör için virüs kaynağı oluşturur (Ducheyne ve ark., 2007; Goldsmıt ve ark., 1975; Luedke ve ark., 1977; Tabachnick, 2004). Bu nedenle BTV’nin sığırlardaki durumu önem kazanmakta ve çalışmamızda elde ettiğimiz %64.24 seropozitiflik oranı oldukça yüksek olup, sığırların bölgede risk faktörü olmaya devam ettiğini düşündürmektedir.

Mavidil hastalığının, Antarktika kıtası hariç bütün dünyada yaygın olduğu bilinmektedir. Mavidil epizootileri Akdeniz havzası, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Ortadoğu Asya ve Avustralya’da varlığı bildirilmiştir (Saif, 2011). Dünyada yapılan serolojik çalışmalarda BTV enfeksiyonunun seroprevalansının farklı ülkelerde %1.5 (Boyer ve ark., 2007) ile %90 (Uhaa ve ark., 1990) arasında bir dağılım gösterdiği bildirilmektedir. Türkiye coğrafik konumu itibarıyla Asya ve Avrupa’yı bağlayan bir köprü konumunda olması nedeniyle kritik bir öneme sahiptir. Ducheyne ve ark. (2007), *culicoides*lerin rüzgarın da yardımı ile BTV’yi uzun mesafelere taşıyacağını bildirmektedir. Bu durum komşu ülkelerde var olan enfeksiyonun Türkiye için risk taşıdığı gibi, bu çalışmanın yapıldığı Ege bölgesi de Avrupa’ya komşu olması nedeniyle kritik öneme sahip olduğuna işaret etmektedir.

BTV için Türkiye’nin farklı lokasyonlarında yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. BTV

enfeksiyonu genellikle ülkemizin Güneydoğu, Güney (Akdeniz bölgesi), Batı (Ege Bölgesi) ve Kuzeybatı (Marmara bölgesin) bölgelerinde görülmektedir. Türkiye’de yapılan çalışmalarda sığırlarda mavidil enfeksiyonunun seroprevalansı bölgeler arasında farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Bolat (1986) Elâzığ ili sığırlarında yaptığı çalışmada mavidil enfeksiyonu için seropozitiviteyi %3.53 olarak bildirirken, Girgin ve Yonguç (1988) yaptıkları çalışmada ege bölgesi için seropozitiviteyi %16 olarak bildirmektedir. Türkiye’nin Güney, Güneydoğu ve Ege Bölgesi sığır, koyun ve keçilerden elde ettikleri serum örneklerinde yapılan bir çalışmada sığırlar için BTV seroprevalansını %25.5 olarak tespit etmişlerdir (Burgu ve ark., 1992). Ertürk (1994) Türkiye’nin farklı yerleşim birimlerinden toplamış olduğu sığır serumlarının %1’inde BTV spesifik antikor varlığı saptamışlardır. Erturk (2004) yaptığı diğer bir çalışmada ise sığırlar için BTV seroprevalansını %57 olarak tespit etmiştir. Yapılan bir çalışmada Güneydoğu Anadolu bölgesinde BTV tip 4 için %52.58 seropozitiflik rapor edilmiştir (Özgülük, 2003). Ülkemizin kuzeydoğusunda bulunan 8 ildeki sığırlardan elde ettikleri serumları BTV-4 için tetkik ettikleri bir çalışmada Yıldırım ve Burgu (2005) seropozitifliği %48.02 olarak elde etmişlerdir. Karaoglu ve ark. (2007) Trakya’daki sığırlarda yaptıkları çalışmada BTV-4, BTV-9 ve BTV-16 için seropozitifliği sırası ile %69.04, %71.38 ve %80.20 olarak belirtmişlerdir. Ozgunluk (2009) Güneydoğu Anadolu bölgesindeki bütün illerden yaptığı örnekleme ile sığırlarda BTV tip 9 ve BTV tip 16 için sırası ile %20.00 ve %22.03 seropozitivite bildirmektedir. Yapılan başka bir araştırmada ise Yıldırım ve Yılmaz (2010) Türkiye’nin kuzeydoğusunda bulunan iller için BTV-4, BTV-9 ve BTV-16 için seropozitifliği sırası ile %72.16, %42.05 ve %36.93 olarak bildirmektedir. Albayrak ve Ozan (2010) ise Orta Karadeniz Bölgesi için seropozitifliği %11 olarak tespit belirlemişlerdir. Karaoglu ve ark. (2012), Güneydoğu ve Kuzeydoğu Bölgelerinden toplamış oldukları toplam 1440 kan serumu örneğinde yaptıkları tetkiklerde, %0.48 ile %35.18 arasında değişen oranlarda olduğunu tespit etmişlerdir. Yılmaz ve ark. (2012), Kars yöresinde yaptıkları çalışmada sığırlar için %15.5 seropozitiflik oranını belirlemişlerdir. Kulaç ve ark. (2016) Rize yöresindeki sığırlarda yaptıkları çalışmada seropozitifliği %25 olarak bildirmektedir.

Daha önce çalışmamızın da yapıldığı Ege Bölgesi ve Türkiye’nin diğer bölgelerinde yapılan çalışmalarda bildirilen veriler, BTV’nin üç serotipinde Türkiye’nin tüm bölgelerinde aktif ve sirküle olmaya devam ettiklerini göstermektedir. Bu görüşümüzü destekleyen diğer bir veri ise, bu çalışmada BTV’nin her üç serotipi için bulunan yüksek seroprevalansın (BTV serotip 4 için %33.33,

BTV serotip 9 için %51.04 ve BTV serotip 16 için %24.65) yanında, bütün yaş gruplarında yüksek seropozitivitenin tespit edilmiş olmasıdır. İstatistiksel sonucun ışığında, bu durumun yaşa bağlı duyarlılığın arttığı veya azaldığına yönünde değil, BTV ve duyarlı konakçıların varlığı ile vektörün durumu ve ilişkilendirmenin daha doğru bir yaklaşım olacağını düşünmekteyiz. Bu tespite ek olarak, Aydın ilinin *Culicoideslerin* aktivitesi için uygun olduğunu ve *Culicoideslerin* vektör olduğu diğer enfeksiyonlar için de risk taşıyabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda mavidil hastalığının etkeni olan *Bluetongue virus*'un BTV-4, BTV-9 ve BTV-16 tiplerine karşı spesifik antikor varlığı bütün yaş gruplarında tespit edildi. Bu sonuç değerlendirildiğinde, iklim şartları da göz önünde bulundurulduğunda, Türkiye'nin batı bölgeleri insektlerin yaşamlarını sürdürmeleri için oldukça uygundur. Bu koşullar altında ciddi önlemler alınmadığı taktirde *Culicoides* türleri ile nakledilen BTV enfeksiyonu daha da yaygınlaşarak neden olduğu ekonomik kayıpların çok daha yüksek maliyetlere çıkabileceği kaçınılmaz olur.

Sonuç olarak, büyükbaş hayvancılıkta önemli ekonomik kayıplara neden olan BTV, Aydın ilindeki sığırlar arasında yaygın olduğu belirlendi. Türkiye subtropikal bölgede bulunması nedeniyle ülkemizin bütün bölgeleri *Culicoideslerin* yaşamı için uygun ekolojik şartlara sahip ise de çalışmayı yaptığımız Ege Bölgesi vektör için en konforlu alandır. Vektörleri hedef alan mücadele çok zor ve pratikte her zaman başarı getirmeyebilir. Ayrıca Türkiye'ye komşu ülkelerin BTV ile birlikte tespit edilmiş veya henüz bildirilmemiş birçok insekt vektör kaynaklı egzotik hastalığın varlığı ve bunların her an sınırı geçip ülkemizde enfeksiyonlara neden olabilme riski bulunmaktadır.

Bu şartlar altında, insekt mücadelesi vakaları biraz düşürse de en etkili mücadele yönteminin mavi dil enfeksiyonu için aşılama olabileceğini düşünmekteyiz. Ülkemizde birden fazla serotipin var olduğu ve bu serotiplerin tam bir çapraz koruma sağlayacak kadar çok antijenik yakınlık göstermediği göz önünde bulundurularak polivalan aşılardan formüle edilmesi gerekmektedir. Bu çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar aşılardan en az trivalan olması gerektiğini göstermektedir.

Kaynaklar

Albayrak H, Ozan E, 2010: Orta Karadeniz Bölgesinde Ruminant ve Tek Tırnaklılarda Kan Emici Sineklerle Nakledilen Bazı Arboviral Enfeksiyonların Seroprevalansı, *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (1), 33-36.

- Bolat Y, 1986: Investigation of antibody of the bluetongue disease in sera of cattle and goat in Elazığ. *DOGA Tr Vet Sci*, 10, 235-238.
- Boyer TC, Ward MP, Wallace RL, Singer RS, 2007: Regional seroprevalence of bluetongue virus in cattle in Illinois and western Indiana. *Am J Vet Res*, 68 (11), 1212-1219.
- Burgu I, Urman HK, Akça Y, Yonguç AD, Mellor PS, Hambling C, 1992: Serologic survey and vector surveillance for bluetongue in southern Turkey. In *"Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbivirus"*, Eds; Walton TE, Osburn BI, CRC Press Inc, Boca Raton, Fladelpia, USA. pp. 168-174.
- Coetzee P., Stokstad M., Venter EH., Myrmel M., Van Vuuren M., 2012. Bluetongue: A historical and epidemiological perspective with the emphasis on South Africa. *Virology Journal*, 9, 198.
- Dik B, Kuçlu Ö, Öztürk R, 2017: *Culicoides* Latreille, 1809 (Diptera: Ceratopogonidae) species in the Western Black Sea Region of Turkey, new records for the Turkish fauna. *Turk J Vet Anim Sci*, 41, 228-237
- Ducheyne E, De Deken R, Becu S, Codina B, Nomikou K, Mangana-Vougiaki O, Georgiev G, Purse BV, Hendrickx G, 2007: Quantifying the wind dispersal of *Culicoides* species in Greece and Bulgaria. *Geospatial Health*, 1, 177-189.
- Ertürk A, 1994: Çesitli serumlarda (koyun, keçi, sığır) mavidil antikorlarının agar-jel presipitasyon testi ile araştırılması. *Etlik Vet Mikrob Derg*, 7(5), 1-19.
- Erturk A, Tatar N, Kabaklı O, İncöğlü S, Çizmecici SG, Barut FM, 2004: The current situation of bluetongue in Turkey. *Vet Ital*, 40 (3), 137-140.
- Gibbs, EP, Greiner EC, 1994: The epidemiology of bluetongue. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 17(3-4), 207-220.
- Girgin H, Yonguc AD, 1988: Serological, etiological and pathological investigation of bluetongue infection in sheep in Turkey. *Etlik Vet. Mikrob. Derg*, 6, 13-24.
- Goldsmith L, Barzilai E, Tarmor T, 1975: The comparative sensitivity of sheep and chicken embryos to bluetongue virus and observations on viremia in experimentally infected sheep. *Aust Vet J*, 51, 190-196.
- Gorman BM, 1990: The bluetongue viruses. *Curr Top Microbiol Immunol*, 162, 1-19.
- Hawkes RA, 1996: The global distribution of bluetongue. In: "Bluetongue disease in Southeast Asia and the Pacific", Eds; St. Geore, TD and Kegao P, ACIAR Proc. No. 66. pp. 6-14.
- Herald RC, 1954: Bluetongue. *Bacteriol Rev.* 1954, 18(4), 239-253.
- Jenckel M, Breard E, Schulz C, ve ark. 2015. Complete coding genome sequence of putative novel bluetongue virus serotype 27. *Genome Announc.* 12; 3(2): e00016-15.
- Karaoglu T, Ozgunluk I, Demir B, Ozkul A, Burgu I, 2007: Seroprevalence of culicoides-borne disease in cattle in European Turkey. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 54, 121-125.
- Karaoglu T, Özgünlük I, Yıldırım Y, Güngör E, Oğuzoğlu Ç, Bilge SD, Özkul A, Alkan F, Akça Y, Burgu I, 2012.: Seroepidemiology of bluetongue virus infection in

- Northeast and Southeast Anatolia, Turkey, *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 59, 289-294.
- Kulaç E, Kırmızıgül AH, Yıldırım Y, 2016: Rize Yöresindeki Sığırlarda Mavi Dil Enfeksiyonunun Seroprevalansı. *Atatürk Üniv Vet. Bil. Derg*, 11(2), 151-158.
- Luedke AJ, Jochi MM, Jones RH, 1977: Bluetongue in cattle: effects of Culicoides variipennis transmitted bluetongue virus on pregnant heifers and their calves. *Am J Vet Res*, 38(11), 1687-1695.
- Lundervold M, Milner-Gulland EJ, O'callaghan CJ, Hamblin C, 2003: First evidence of bluetongue virus in Kazakhstan. *Veterinary Microbiology*, 92, 281-287.
- MacLachlan NJ, 2011: Bluetongue: history, global epidemiology, and pathogenesis. *Preventive Veterinary Medicine*, 102, 107-111.
- Mertens PPC, 1999: Orbiviruses and Coltiviruses. In: *“Encyclopedia of Virology”*, Eds; Granoff A and Webster RG, second edition. Vol 2, Harcourt Science and Technology Comp, Academic Press, San Diego, California, USA. pp: 1043-1061
- Murphy FA, Gibbs JEP, Horzineck CM, Studdent MJ, 1999: Reoviridae. *Veterinary Virology*, 3th ed., Academic Press, New York, USA. pp: 391-404.
- Ozgunluk I, 2009: A Serologic Investigation of Blue Tongue Virus Serotypes (BTV-9, BTV-16) in Cattle in the Southeastern Anatolia Project Area in Turkey, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(12), 2613-2616.
- Özgünlük İ, 2003. Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) kapsamındaki bölgede sığırlarda mavidil (BT), akabane (AKA) ve ibaraki (IBA) enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Roy P, 2002: Orbivirus. In: *“The Springer Index of viruses”*, Eds; Tidona CD, Darai G, 1th edition, Springer-Verlag, Berlin, Germany. pp: 957-963.
- Saif LJ, 2011: Reoviridae. In *“Fenner’s Veterinary Virology”*, Eds; MacLachlan NJ, Dubovi EJ, 4th Editions, Elsevier Science Publishers. Chapter 15, pp 269-285.
- Sperlova A, Zendulkova D, 2011: Bluetongue: a review. *Veterinary Medicine*, 56, 430-452.
- Tabachnick WJ, 2004: Culicoides and the global epidemiology of bluetongue virus infection. *Veterinaria Italiana Series*, 40, 145-150.
- Uhaa IJ, Riemann HP, Thurmond MC, Franti CE, 1990: A seroepidemiological study on bluetongue virus in dairy cattle in the central valley of California. *Vet Res Commun*, 14(2), 99-112.
- Urman HK, Milli U, Mert N, Berkin S, Kahraman MM, Yuce H, Avvuran H, 1979: Congenital Bovine epizootic arthrogryposis and hydranencephaly in Turkey. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 26, 287-292.
- Yıldırım Y, Burgu İ, 2005: Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki sığırlarda mavidil (BT), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 52, 113-117.
- Yıldırım Y, Yılmaz V, 2010: Seroprevalence of bluetongue virus 4, 9 and 16 serotypes in cattle in various North-eastern provinces of Turkey, *Revue Méd Vét*, 161, 8-9, 372-375.
- Yılmaz V, Yıldırım Y, Otlı S, 2012: The seroprevalance of bluetongue virus infection in cattle in Kars district of Turkey. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 67, 232-236.
- Yonguc AD, Taylor WP, Csonton L, Worrall E, 1982: Bluetongue in western Turkey. *Vet Rec*, 111, 144-146.

***Yazışma Adresi:** İrfan ÖZGÜNLÜK

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Viroloji Anabilim Dalı, Eyyubiye kampüsü, 63200, Şanlıurfa, Türkiye.

E-mail: ozgunluk@harran.edu.tr

Natural Formation and Pathological Effects of *Branchiomyces* Species in Farm-grown African Catfish (*Clarias gariepinus*) in Ilorin Metropolis

Ibrahim ADESHINA^{1,a,*}, Phebe Omolara AMOKA^{1,b}, Lateef Oloyede TIAMIYU^{1,c},
Musa Idi-ogede ABUBAKAR^{1,d}, Ojo ADESANMI^{2,e}

¹Department of Aquaculture and Fisheries, University of Ilorin, Nigeria

²Department of Agricultural Education, Kwara State College of Education, Ilorin, Nigeria

^aORCID: 0000-0002-2404-2556, ^bORCID: 0000-0003-3121-4621, ^cORCID: 0000-0001-3421-4627,

^dORCID: 0000-0002-3331-302X, ^eORCID: 0000-0001-4451-5602

Geliş Tarihi: 10.06.2019

Kabul Tarihi: 25.11.2019

Abstract: *Branchiomyces* species are the fungi responsible for branchiomycosis in fish. Branchiomycosis in fish is manifested by necrosis of the gills, and high incidences of mortality. It is a highly feared fungal disease of fishes in fish raising farms. This study is to investigate the occurrence and histopathological effect of *Branchiomyces* species in farm raised *Clarias gariepinus* in Ilorin metropolis. Thirty-six (36) farms were selected randomly from Ilorin metropolis. A total number of 108 gills were collected from 36 fish and examined for the presence of *Branchiomyces* species. Furthermore, histological examination was carried out on infected gills by using standard methods. Eleven out of 57 samples from males representing 19.30% were infected with *Branchiomyces* species while 17 out of 51 samples from females representing 33.33% were infected. Also, females had higher load of *Branchiomyces* species (5.0×10^3 cfu/g) and males had 4.0×10^3 cfu/g. There was significant difference in the percentage of the infection between males and females ($p = 0.003$). Males had higher lamellae length and width than the females ($p > 0.05$). The gills show an observable lesion, diffuse infiltrate, sanguineous congestion dilation of marginal vascular channel and disorganization of secondary gill lamellae. The study indicated that *Branchiomyces* species showed a high presence in farm-raised African catfish. The gills of infected fishes showed early stage of alterations. The gill histomorphometry, indicated that the lamellae were affected which could lead to respiratory disorder.

Keywords: *Branchiomyces* species, *Clarias gariepinus*, gill, infection.

Ilorin Metropolünde *Branchiomyces* Türlerinin Çiftlikte Yetiştirilen Afrika Yayın Balıklarında (*Clarias gariepinus*) Doğal Oluşumu ve Patolojik Etkileri

Özet: *Branchiomyces* türleri, balıklarda branchiomycosis'ten sorumlu mantarlardır. Balıklardaki dalıyomikoz solungaçların nekrozu ve yüksek ölüm oranları ile kendini gösterir. Çiftlikte yetiştirilen balıklarda çok korkulan bir fungal hastalıktır. Bu çalışma, Ilorin metropolünde *Clarias gariepinus* yetiştiriciliği yapılan çiftliklerde *Branchiomyces* türlerinin oluşumunu ve histopatolojik etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Ilorin metropolünden rastgele otuz altı (36) çiftlik seçildi. 36 balıktan toplam 108 adet solungaç toplanmış ve *Branchiomyces* türlerinin varlığı incelenmiştir. Ayrıca standart yöntem kullanılarak enfekte solungaç üzerinde histolojik inceleme yapıldı. % 19,30'u temsil eden erkeklerden 57 örneğin 11'inde *Branchiomyces* türü bulunurken, % 33,33'ü temsil eden 51 örnekten 17'sinin enfekte olduğu belirlenmiştir. Ayrıca dişi balıklar *Branchiomyces* türlerinin daha fazlasını bulundurmaktaydı (dişilerde 5.0×10^3 cfu/g, erkeklerde 4.0×10^3 cfu/g). Erkek balıklar dişilerden daha uzun ve geniş lamellere sahiptir ($p > 0.05$). Erkek dişi lamel uzunluğuna ve genişliğine sahiptir ($p > 0.05$). Solungaçlarda, gözlemlenebilir lezyon, yaygın çoğalma, marjinal damar kanalının kanlı yoğun genişlemesi ve sekonder solungaç lamellalarının düzensizliği görülmüştür. Çalışma, çiftlikte yetiştirilen Afrika yayın balıklarında *Branchiomyces* türlerinin varlığının yüksek olduğunu göstermiştir. Enfekte balıkların solungaçları değişikliklerin erken safhalarını içermektedir. Solungaç histomorfometrisi, lamellerin etkilendiğini ve bu durumun solunum bozukluğuna yol açabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Branchiomyces* türleri, *Clarias gariepinus*, solungaç, enfeksiyon.

Introduction

African catfish, *Clarias gariepinus* is one of the most widely distributed and cultured fish species in tropical Africa (Adeshina et al., 2016) because of its high flesh quality and tolerance to wide range of water quality parameters, fast growth, and economic value (Fred and Jordan, 2011).

Branchiomycosis caused by fungi of *Branchiomyces* species, is manifested by necrosis of the gills, and high incidences of mortality (Paperna and Smirnova, 1997; Post, 1987) and mostly occur in warm climatic region (Ramaiah, 2006). The fungi have become an organism of concern because it is housed on the primary organs such as gill and skin.

Scholz (1999) has reported that *Branchiomyces* is responsible for more than 60% loss of total investment in a farm when plagued. Presence of branchiomycosis has been reported in fish from Egypt and Israel (Post, 1987), Germany, Poland, Italy, and Hungary (Fred and Jordan, 2011), Brazil and Taiwan (Scholz, 1999). Although *branchiomyces* species has not been reported in Nigeria, but its occurrence might be going on unreported, hence the need for this study.

Necrotic effect of *Branchiomyces* on the gills renders the fish to be susceptible to predation, infections from opportunistic pathogens and mortality. Fish with grossly infected gills will have difficulty in breathing, resulting to loss of appetite, body imbalance and death. Therefore, *Branchiomyces* must be avoided and attended to when noticed, to ensure profitability in aqua-business. This study investigated the occurrence and histopathological effect of *Branchiomyces* species in farm raised *Clarias gariepinus* in Ilorin metropolis.

Materials and Methods

Description of the study area

Ilorin, the capital of Kwara state, is located on the coordinates 8°30'N5°00'E, covering an area of 765Km² with sixteen (16) local government areas with population of 856 900 in 2015 (KWADEP, 2015). The four agro-ecological zones of Kwara State were adopted for this study (KWADEP). Farms in each zone were stratified into large, medium and small scales as described by Adeshina et al. (2016) and Fagbenro and Adebayo (2005). Five percent (5%) of the registered farms were randomly selected.

Collection and identification of fish: A total number of 36 adult fish of *Clarias gariepinus* were collected (3 fish x 3 scale of farming x 4 zones). The choice of this size is because it forms the most stage that have more contact with human from consumption, processing and transportation. Sex identification was carried out by considering the presence of genital papillae.

Gill collection: A total of thirty-six (36) gill was collected from the selected fish samples in replicate of three and subjected to full clinical signs, postmortem (PM) lesions and mycological examination in addition to histopathological study.

Clinical examination: The clinical examination of collected gill samples was performed according to Amlacher (1970) and Auatin (1987). Gill examination was performed by lifting the operculum and examining with naked eye. Gills from both sides kept in a petri dish containing

normal saline 9.0 % and examined under a dissecting microscope. A wet mount of gill filaments were prepared and examined under a light microscope for detection of spores and hyphae (Chien et al., 1978; Yanong, 2003).

Isolation and identification of *Branchiomyces* species

The samples were disinfected with a swab of cotton moistened with 70% ethyl alcohol (Amlacher, 1970). All positive samples examined by direct microscopy was cultured on Sabouraud's dextrose agar (SDA). The inoculated plates were incubated at 28°C for 7 days (Finegold et al., 1986) and sub-cultured on SDA plates at 38°C for 5 days (Eli et al., 2011; Ellis, 1977). Lactophenol cotton blue stain (Refai and Abd El-alim, 1987) was applied, for examination of fungal growth on microscopic slide. The shape, diameter of hyphae and spores were measured following the gross morphological examination. Percentage of infection was determined as

$$\text{Percentage of Infection} = \frac{\text{Infected samples}}{\text{Total Number of samples examined}} \times 100,$$

Mycological examination

Direct examination of the gills was done by mounting the slides under light microscope to revealed and observe the spores characteristics of *Branchiomyces* species.

Histopathological examination

Gills specimens were examined for histopathological changes. The specimen was rapidly fixed in 10% natural formalin buffered phosphate for 24 hours, washed under running tap water and dehydrated through ascending grads of ethanol. It was cleaned in chloroform and embedded in paraffin wax at 60°C. The sections of 5 µm thickness were stained by Hematoxylin and eosin stain (Adeshina et al., 2019; Eyarefe et al., 2008).

Gill morphometry and fungal density

Lamella length and breadth was measured using microscale meter (Eyarefe et al., 2008). The number of colony forming units (CFU) per gram of the weight (CFU/g) was estimated for the fungal species.

Statistical analysis

The data obtained were analyzed using descriptive statistics. Significant difference in the percentage of infection between males and females was performed using chi-square test. Mann-Whitney *U* test ($p > 0.05$) for independent samples was utilized for the comparison of means between males and females with the aid of IBM SPSS version 20.

Results

It was found that 19 of the samples used in our study were males and 17 of them were females (Table 1). There were no significant differences in the body weight, total length and standard length

of males and females ($p > 0.05$). The mean body weight of the males was 333.18 ± 13.11 g while the females had the mean of 363.00 ± 15.57 g. Males had total length of 34.64 ± 0.69 cm and standard length of 34.64 ± 0.69 cm while the females had a total length and standard length 30.33 ± 0.77 and 31.57 ± 0.53 cm, respectively (Table 1).

Table 1. Relationship between the sexes of fish.

Parameters	Males (Mean \pm SE)	Females (Mean \pm SE)	Total (Mean \pm SE)	p-value
Number of Fish	19	17	36	
Body Weight (g)	333.18 ± 13.11	363.00 ± 15.57	347.38 ± 10.39	0.073
Total Length (cm)	34.64 ± 0.69	34.73 ± 0.65	34.68 ± 0.46	0.907
Standard Length (cm)	30.33 ± 0.77	31.57 ± 0.53	30.92 ± 0.48	0.200

Note: There is no significant difference between the mean of the body weight, total length and standard length.

Occurrence of *Branchiomyces* species

The occurrence of *Branchiomyces* species in farm raised African catfish in relation to sex revealed that about 19.30% of males were infected with *Branchiomyces* species while 33.33% of females were infected (Table 2).

Also, females had higher load of *Branchiomyces* species (5.0×10^3 cfu/g) than the males (4.0×10^3 cfu/g). There was significant difference in percentage of infection between males and females ($p = 0.003$).

Table 2. Occurrence of *Branchiomyces* species in farm raised African catfish in relation to sex.

Parameters	Males	Females	Total	p-value
Number of all samples	57	51	108	
Number of infected samples	11	17	28	
Number of fungi (CFU /g)	4.0×10^3	5.0×10^3	9.0×10^3	
Percentage of Infection (%)	19.30	33.33	25.93	0.003

Gill histomorphometry of African catfish naturally infected with *Branchiomyces* species was presented in Table 3. Males had higher lamellae length 175.69 ± 9.27 mm than the females (164.32 ± 8.77). Similarly, lamellae width and area of

absorption were higher in males than the females. However, there were no significant differences in lamellae length, lamellae width and areas of absorption of infected African catfish.

Table 3. Gill morphometry of African catfish naturally infected with *Branchiomyces* species.

Parameters	Males	Females	p-value
Lamellae Length (mm)	175.69 ± 9.27	164.32 ± 8.77	0.39
Lamellae Breadth (mm)	60.22 ± 6.22	50.86 ± 6.125	0.31
Area of Absorption (mm ²)	10646.00 ± 1285.24	8704 ± 1345.92	0.32

Note: Area of absorption = Lamellae length \times Lamellae Breadth. There was no statistically significant difference between the lamellae length, lamellae breadth and area of absorption.

Histopathological examination

Histopathologically, the gills showed an observable lesion with normal primary lamellae and pillar cells. There was diffuse infiltrate in the lamellae, sanguineous congestion dilation of marginal vascular channels. Furthermore, moderate to mild lamellae hyperplasia, increasing respiratory epithelium fusion and disorganization of secondary gill lamellae were noticed (Figure 1).

Discussion and Conclusions

Presence of *Branchiomyces* species in the gill of fish have been reported to cause infection (Branchiomycosis). This disease resulted in respiratory disorder and high mortality (Khalil et al., 2015; Noga, 2010). Noga (2010) has reported that *B. sanguinis* and *B. demigrans* are the most

common species in fish. This study showed the presence of *Branchiomyces* species in farm-raised

African catfish, *Clarias gariepinus*. More so, females fishes have higher infection than the male ones.

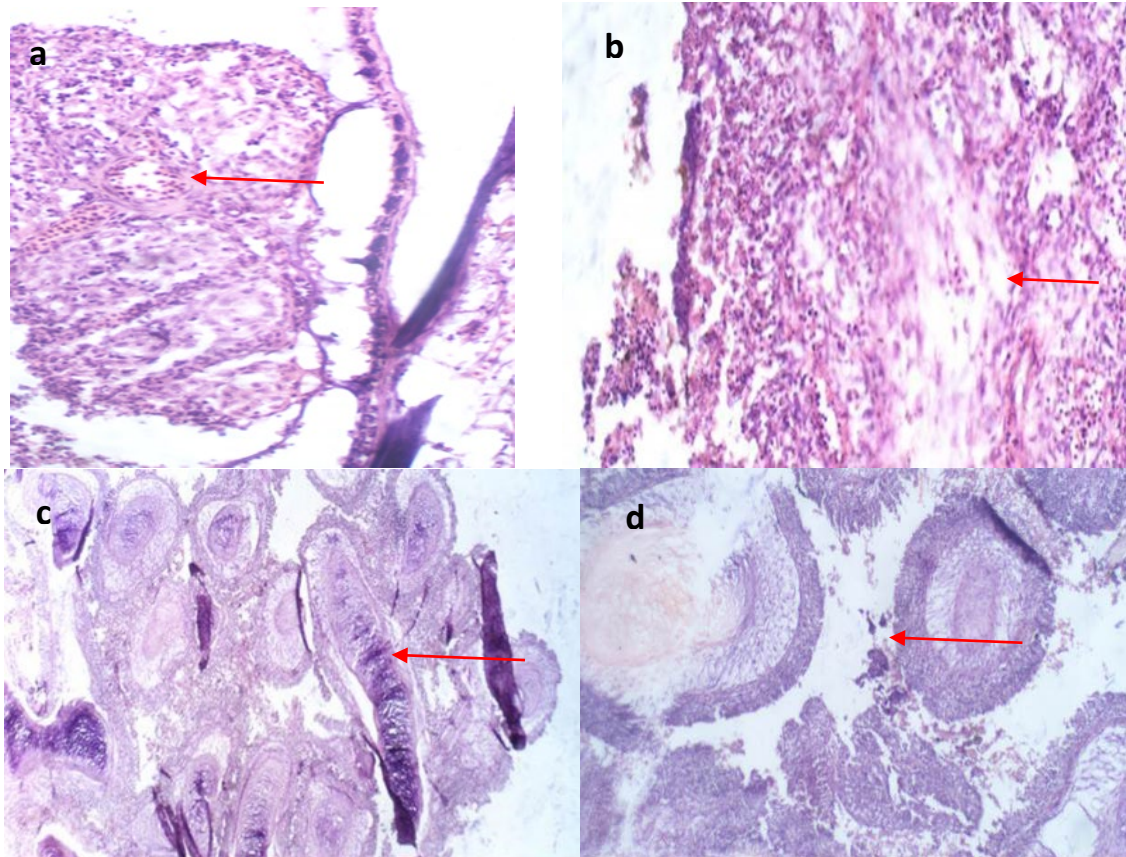


Figure 1. Histological section of gill of *Clarias gariepinus* infected with *Branchiomyces*. (a) There is observable lesion, the primary lamellae and pillar cells are normal, (b) There is diffuse infiltrate in the lamellae, sanguineous congestion dilation of marginal vascular channels, (c) There is moderate to mild lamellae hyperplasia, (d) Lifting of respiratory epithelium fusion and disorganization of secondary gill lamellae. Shortening of secondary lamellae was observed. All images were HE $\times 40, 100$.

Body weight, total length and standard length were identified as factors associated with occurrence of *Branchiomyces* species in this study ($P > 0.05$). The results of the present study were in agreement with the finding of (El-Bouhy and Heba, 2014; Riad et al., 2015) who reported the presence of *Branchiomyces* species in common carp and *Oreochromis niloticus*. Branchiomycosis, an emerging acute infection of the gills and is able to cause high mortality and respiratory discomfort in many species of freshwater fish such as *Oreochromis niloticus*, *Cyprinus carpio*, the eel, and the bass (El-Bouhy and Heba, 2014). Its occurrence has been reported majorly in different localities in Egypt (Riad et al., 2015), and also in Europe and the southeast USA.

The histological examination of infected gills show that *Branchiomyces* species created lesions on the gills of infected fish. Primary lamellae and pillar cells were normal. There was a diffuse infiltrate in the lamellae and sanguineous congestion dilation of marginal vascular channels. Furthermore, moderate to mild lamellae hyperplasia with increased

respiratory epithelium fusion and disorganization of secondary gill lamellae were noticed. Flores and Thomas (2011) have reported that there are three stages of alterations caused by Branchiomycosis. Stage 1 shows hypertrophy and hyperplasia of gill epithelium, sanguineous congestion, dilation of marginal vascular channels, lifting of respiratory epithelium, fusion and disorganization of secondary gill lamellae, shortening of secondary lamellae and leukocyte infiltration of gill epithelium. The findings of this study fall within the stage 1 as described by Flore and Thomas (2011). This further suggests *Branchiomyces* species has established itself in the sampled fish and is likely to move the next stage which could be more dangerous and devastating.

Therefore, this study indicated that there was a high incidence of *Branchiomyces* species in farm-raised African catfish in Ilorin metropolis. The gills of infected fish showed early stage of alterations. The gill histomorphometry, indicated that the lamellae were affected which could lead to respiratory disorder.

Compliance with Ethical Standard

This study was funded by Unilorin (Grant Number SDA 2015).

Conflict of Interest

Authors declare that there are no conflicts of interest.

Ethical Approval

The study was approved by animal care use and research committee of University of Ibadan (ACUREC/UI/App/2016/006).

References

- Adeshina I, Emikpe BO, Jenyo-Oni A, Ajani EK, Abdel-Tawwab M, 2019: Stimulatory Effect of Dietary Clove, *Eugenia caryophyllata* Bud Extract on Growth Performance, Nutrient Utilization, Antioxidant Capacity, and Tolerance of African Catfish, *Clarias gariepinus* B., to *Aeromonas hydrophila*. *J World Aquacul Soc*, 49, 1-16.
- Adeshina I, Jenyo-Oni A, Ajani EK, Adewale AY, 2016: Natural occurrence of Diplostomum spp. In farm raised African catfish (*Clarias gariepinus*) from Oyo state, *Nig Intl J Vet Sci Med*, 4, 41-45.
- Amlacher E, 1970: Textbook of Fish Diseases. 1st ed., Times Educational Supplement Publication, New Jersey, USA.
- Auatin BA, 1987: Bacteria Fish Pathogens Diseases in Farmed and Wild fish. 2nd ed., Ellis Harwood Limited, England.
- Chien CH, Miyazaki T, Kubota SS, 1978: The Histopathological of Branchiomycosis of eel in Taiwan. *J Comm Commun Res Fish Ser*, 34, 97-98.
- El-Bouhy M, Heba H, 2014: Branchiomycosis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Behiera Governorate with Trials for Treatment. *Zag Vet J*, 42(3), 29-42.
- Eli A, Briyai JF, Abowei A, 2011: A Review of Some Fungi Infection in African fish Saprolegniasis, Dermal Mycoses; Branchiomyces infections, Systemic Mycoses and Dermocystidium. *Asian J Med Sci*, 3, 198-205.
- Ellis AE, 1977: The leucocytes of fish: A review. *J Fish Biol*, 11, 453-491.
- Eyarefe OD, Emikpe BO, Arowolo FO, 2008: Small bowel responses to enteral honey and glutamine administration following massive small bowel resection in rabbit. *The Afric J Med Sci*, 37, 309-314.
- Fagbenro OA, Adebayo OT, 2005: Aquaculture in Nigeria: history, status and prospects. 1st ed., FAO World Fish Centre, Rome, Italy.
- Finegold SM, Baron EJ, 1986: Bailey and Scoll's Diagnostic Microbiology. 3rd ed., The Cv-Mosby co, St. Louis, England.
- Flores-Lopes, Thomaz AT, 2011: Histopathological alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. *Brazil J Biol*, 71, 179-188.
- Fred MP, Jordan AR, 2011: Branchiomycosis: A New Fungal Diseases of North American Fishes. *The Progr Fish Cult*, 35, 74-77.
- Khalil RH, Talaat T, Saad TAM, Abo Selema H, Abdel-Latif MR, 2015: *Branchiomyces demigrans* Infection in Farm-Reared Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) and Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) at Different Localities in Egypt, With Special Emphasis to the Role of Environmental Stress Factors. *Intl J Innov Stud Aqua Biol Fish*, 1, 15-23.
- KWADEP 2015: <http://www.kwstate.gov.ng/ministries-departments-and-agencies/local-government-andchieftaincy-matters/local-government-chairmen/>, Accession date; 12.12.2018.
- Noga EJ, 2010: Fish disease: Diagnosis and treatment. 2nd ed., Wiley Blackwell, USA.
- Paperna I, Smirnova M, 1997: Branchiomyce- like Infection in a cultured tilapia (*Oreochromis* hybrid, Cichlidae). *Dis Aquat Org*, 31, 233-238.
- Post G, 1987: Revised and Expanded Textbook of Fish Health. 1st ed., T.H.F Publication Inc., New York, USA.
- Ramaiah N, 2006: A Review on Fungal Diseases of Algae, Marine Fishes, Shrimps and Corals. India. *Indian J Mar Sci*, 35, 380-387.
- Refai MK, Abd El-alim A, 1987: Studies on Aspergillomycosis in Catfish. Salzburg: *Vet Path*, 2, 32-27.
- Riad HK, Talaat TS, Talal AM, Abo S, Hany M, Abdel-Latif R, 2015: *Branchiomyces demigrans* Infection in Farm-Reared Common Carp (*Cyprinus carpio*) and Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) at Different Localities in Egypt, With Special Emphasis to the Role of Environmental Stress Factors. *Intl J Innov St Aqua Biol Fish*, 1, 15-23.
- Scholz T, 1999: Parasites in Cultured and Feral Fishes. *Vet Part I*, 84, 317-335.
- Yanong RP, 2003: Necropsy Techniques for Fish. In "Practical Gross Necropsy of Exotic Animal Species", Ed; Echols S and Saunders WB, Philadelphia Co., Philippine.

***Corresponding Author:** Ibrahim ADESHINA, Ph.D
Department of Aquaculture and Fisheries, University of Ilorin, Nigeria.
e-mail: adesina.i@unilorin.edu.ng

Dimetil Benzantrazen Uygulanan Ratlarda Tunceli Dağ Sarımsağı (*Allium tuncelianum*) ve Vitamin E'nin Bağırsak Dokusundaki Lipit Peroksidasyonu ve Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkisi*

Kasım Takım^{1,a,**}, Türkan Kutlu^{2,b}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

²İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Malatya, Türkiye

^aORCID:0000-0003-4631-1982, ^bORCID:0000-0002-1501-9930

Geliş Tarihi: 19.07.2019

Kabul Tarihi: 03.12.2019

Özet: Bu çalışmada; 7,12-dimethyl benzantracene (DMBA) ile indüklenen ratlara Tunceli Dağ Sarımsağı (*Allium tuncelianum*) ve vitamin E uygulamasının, rat bağırsak dokusundaki lipit peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışmada, Wistar albino tipi dişi ratlar kullanıldı. Her grupta 8 adet (n=8) hayvan olmak üzere, 5 grup oluşturuldu. 1.Grup; Kontrol grubu, 2.Grup; 7,12-dimethyl benzantracene (DMBA) verilen grup, 3.Grup; 7.12-DMBA'ya ilaveten 250 mg/kg/gün Tunceli Dağ Sarımsağı (TDS) verilen grup, 4.Grup; 7.12-DMBA'ya ilaveten 500 mg/kg/gün TDS verilen grup ve 5.Grup; 7.12-DMBA'ya ilaveten 200 mg/kg (haftada iki kez) E vitamini verilen gruptu. 30 günlük deneme sonunda; ratlara ötenazi uygulandı ve bağırsak dokusu çıkarılarak homojenize edildi. Bağırsak doku homojenatındaki lipit peroksidasyon ve antioksidan enzim düzeyi spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Çalışma sonucunda DMBA uygulanan grubun (Grup 2) bağırsak dokusunda: katalaz (CAT), total glutatyon (GSH) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı (P<0.05), MDA düzeyinin ise anlamlı olarak arttığı (P<0.05) belirlendi. DMBA ile birlikte TDS'nin düşük dozunun uygulandığı grupta (Grup 3) CAT ve SOD enzim düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı artış (P<0.05) belirlendi. Bu grup, vitamin E verilen grupla kıyaslandığında ise; CAT ve SOD düzeylerinde anlamlı artış (P<0.05), GSH ve MDA düzeylerinde ise anlamlı azalma (P<0.05) saptandı. DMBA ile birlikte TDS'nin yüksek dozunun uygulandığı grupta (Grup 4); CAT ve SOD enzim düzeylerinde, hasta grupla kıyaslandığında önemli bir artış görülmezken, GSH ve MDA düzeylerinde ise anlamlı bir azalma (P<0.05) olduğu belirlendi. Bu grup, vitamin E verilen grupla kıyaslandığında ise sadece MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma (P<0.05) olduğu belirlendi. Sonuç olarak *A. tuncelianum*'un ratların bağırsak dokusunda, antioksidan enzim aktivitelerini ve lipit peroksidasyonunu olumlu bir şekilde değiştirdiği belirlendi. Böylece oksidatif hasara karşı, enzim aktivitelerini düzenleyerek ve lipit hasarını önleyerek katkı sağlayabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: *Allium tuncelianum*, Antioksidan enzim aktivitesi, DMBA, MDA.

The Effect of Tunceli Mountain Garlic (*Allium tuncelianum*) and Vitamin E on Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities in the Intestinal Tissue of Dimethyl Benzantracene-Administered Rats

Abstract: The aim of this study was to determine the effect of Tunceli Mountain Garlic (*Allium tuncelianum*) and vitamin E on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in rat intestinal tissue. Wistar albino type female rats were used in the study. Five groups, included 8 animals (n=8) in each, were formed. Group 1; Control group, Group 2; 7,12-dimethyl benzantracene (DMBA) given group, Group 3; 7,12-DMBA in addition to 250 mg/kg/day Tunceli Mountain Garlic (TDS) given group, Group 4; 7,12-DMBA plus 500 mg/kg/day TDS given group and Group 5; 7,12-DMBA in addition to vitamin E 200 mg/kg (twice a week) was formed as a group. At the end of the 30-days trial rats were euthanized and intestinal tissue was removed and homogenized. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels were measured in intestinal tissue homogenate by spectrophotometric method. At the end of the study, it was determined that catalase (CAT), total glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) enzyme activities in intestinal tissue of DMBA given group (Group 2) significantly decreased compared to the control group (P <0.05) while MDA level significantly increased (P <0.05). A significant increase (P <0.05) was observed in CAT and SOD levels in the group given low dose DDS and TDS (Group 3). When this group was compared with the vitamin E group, CAT and SOD levels were significantly increased (P <0.05) and GSH and MDA levels were significantly decreased (P <0.05). There was no significant increase in CAT and SOD enzyme levels in the group with high dose DDS and TDS (Group 4) compared with the patient group while there was a significant decrease in GSH and MDA levels (P <0.05). When this group is compared with the vitamin E group, only MDA levels were significantly decreased (P <0.05). In conclusion, it was determined that *A. tuncelianum* positively changed the antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the intestinal tissue of rats. Thus, it was concluded that it can contribute to oxidative damage by regulating enzyme activities and preventing lipid damage.

Keywords: *Allium tuncelianum*, Antioxidant enzyme activity, DMBA, MDA

Giriş

Sarımsak (*Allium sativum* L.), Liliaceae familyasına ait bir bitki türüdür ve yaklaşık 3000 yıldır pek çok uygarlık tarafından hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Pinto ve Rivlin, 2018). Türkiye, pek çok bitki türünde olduğu gibi *Allium* türleri yönünden de zengin bir ülkedir. Dünyada yaklaşık 500 kadar *Allium* türü bulunmakta, bunların yaklaşık 170 tanesine Türkiye’de rastlanmaktadır. Ülkemizdeki *Allium* türlerinin yaklaşık %40’ının endemik olduğu belirtilmektedir (Takım, 2015). Tunceli sarımsağı (*A. tuncelianum*) da endemik olması ve ‘Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı’nda zarar görebilir olması nedeniyle korunması gereken bitkiler içinde değerlendirilmektedir (Özhatay ve Mathew, 2007). Tunceli ilinde ve özellikle Munzur Dağları eteklerinde yer alan Ovacık ve Pülümür ilçelerinde yaygın olarak bulunan endemik bir bitki türüdür (Özhatay, 2007). Sarımsağın antioksidan etkisi hayvanlar ve insanlarla yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar ile gösterilmiştir (Banerjee ve ark., 2003). *In vitro* çalışmalar sarımsağın doza bağlı olarak serbest radikalleri yakalayabildiğini göstermektedir (Banerjee ve ark., 2003). Sarımsağın antioksidatif özellikleri kükürlü bileşiklerden ve içerdiği flavonoidlerden kaynaklanmaktadır. Son zamanlarda hastalıkların tedavisinde doğal bitkilerin kullanımı önem kazanmaktadır. Tıbbi bitkilerin ve bu bitkilere ait uçucu yağların saf ve özellikle ana etken maddelerinin elde edilip değerlendirilmesi hem bilimsel hem de ekonomik yönden oldukça önemlidir (Takım, 2015).

Serbest radikaller, eşlenmemiş elektron taşıyan ve bu yüzden de çok reaktif olan kimyasal maddeler olarak nitelendirilir. Serbest radikaller hücrede DNA, lipid, enzim ve protein gibi biyokimyasal moleküllerle reaksiyona girerek yapılarını değiştirmektedir (Takım, 2015). Dimetil benzantrasen (DMBA) metabolizması sırasında hücre içerisinde reaktif oksijen türleri (ROT) üretilir. Böylece oluşan ROT'un; lipid peroksidasyonunu başlatması sonucu zararlı etkilerin ortaya çıkmasına neden olur (Soares ve Costa, 2009). Reaktif oksijen radikallerini süpürmek için var olan vücut savunma sistemleri, başta katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzimleridir. Ayrıca diyetle alınan antioksidatif fitokimyasallarda, antioksidan savunmada önemli rol oynadıkları bildirilmiştir (Boğa ve ark., 2016). Bu nedenle diyetel antioksidan bileşikler ve mikro besinlerin eklenmesi gibi uygun müdahaleler ROT’a bağlı hücre hasara karşı korumada gereklidir (Desai ve ark., 2001).

Bu çalışmada, ülkemizde Tunceli ilinin ovacık ilçesi Munzur dağı eteklerinde doğal olarak yetişmekte olan *A. tuncelianum* bitkisinin rat bağırsağında antioksidan enzim aktiviteleri üzerine

etkisi ve lipid peroksidasyonuna karşı etkinliği yönünden araştırılması amaçlanmıştır. Oksidatif uyarıya maruz kalmayı takiben reaktif oksijen türlerinin miktarı ölçülerek, hücre içinde E vitamininin serbest radikalleri ortadan kaldırmadaki yeteneği saptanabilmektedir (Baldi, 2005). Bu yüzden çalışmamızda; DMBA verilerek oluşan oksidatif strese karşı farklı dozlarda uygulanan Tunceli Dağ Sarımsağı'nın oksidan/antioksidan sistem üzerindeki etkinliğinin Vit E ile karşılaştırılması da amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bitkinin toplanması: Bu çalışmada kullanılan *Allium tuncelianum* Tunceli ilinde bulunan Munzur Dağı'nın Ovacık ilçesi yönüne bakan yamaçlarından ağustos ayının ikinci haftası içerisinde toplandı. İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı tarafından tür tesbiti doğrulandı. Ekstrakte edilene kadar +4 °C de buzdolabında muhafaza edildi.

Bitki ekstraktının hazırlanması: Ekstraksiyon işlemi hayvan çalışması için; %50 su, %50 etanol çözgeni kullanıldı. Sarımsak/çözgen oranı 1/10 olacak şekilde havanda iyice ezilen sarımsak üzerine konup ağzı kapalı olarak 24 saat çalkalayıcıda karıştırıldı. Sarı-yeşil renkte bir ekstrakt elde edilmiştir. Ekstrakt süzme işlemine tabi tutulmuştur. Biyokimyasal aktivite çalışması için rotary evaporatörde çözgen uzaklaştırılmıştır. 10.35 g yaş sarımsaktan 2.14 g kuru ekstrakt elde edilmiştir. Kuruyan madde hava ile fazla temasına izin verilmeden +4 °C de buzdolabında muhafaza edildi. Daha sonra elde edilen bu kuru ekstraktlar istenilen derişime getirilmek üzere gerekli olan çözgen miktarları ile çözülüp kullanıldı. Nüve marka etüv fırınında 103 °C’ de 3 saat bekletmek suretiyle sabit tartıma getirildikten sonra belirlenen miktarda sarımsak örnekleri alüminyum folyo ile birlikte tartılıp kurutma işlemi öncesi ve sonrasında tartımlar alınarak kuru madde miktarları belirlendi. Yapılan analizde %61.92 oranında nem ve %38.08 oranında kuru madde tespit edilip antioksidan kapasite sonuçları bu oranlar dikkate alınarak hesaplandı.

Hayvan Deneyleeri

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Etik Kurulu'nun 2014/A-35 Protokol No'lu etik kurulu raporunda belirtilen izinle gerçekleştirildi.

Hayvanların temini ve grupların oluşturulması: Bu çalışmada kullanılan *Wistar albino* tipi dişi ratlar İnönü Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı, Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden (İNÜDEHÜM)

alındı. Deney boyunca, havalandırması ve güneş ışığı olan odalarda her gün altları temizlenen deney kafesleri içerisinde tutuldu. Yeterli miktarda standart pelet yem ile 30 gün boyunca beslendi. Her grupta 8 adet (n=8) hayvan olmak üzere 5 grup oluşturuldu. Ratlara verilen DMBA dozlarında ve uygulama sürelerinde Banerjee ve ark. (2003) referans alındı. Ratlara verilen *A. tuncelianum* ve vitamin E dozlarında ise Fırat'ın (2005) çalışması esas alındı.

Hayvanların beslenmesi ve ekstraktların uygulanması: 1. Grup: K Grubu; kontrol grubudur. Deney hayvanları çalışma süresince standart rat yemi ile beslendi. 2. Grup: D Grubu; standart diyetle beslenip oksidatif stres oluşturması için 7.12-DMBA, 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda tek seferde intraperitoneal olarak 0.5 mL enjekte edildi. 3. Grup: DA-1 Grubu; 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda tek seferde intraperitoneal olarak 0,5 mL enjekte edilen 7.12-DMBA'ya ilaveten, uygulama dozu 250 mg/kg vücut ağırlığı dozunda olacak şekilde *A. tuncelianum* süpernatantından 1 mL ratlara ağızdan orogastrik yöntemiyle bir ay boyunca her gün verildi. 4. Grup: DA-2 Grubu; 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda tek seferde intraperitoneal olarak 0,5 mL enjekte edilen 7.12-DMBA'ya ilaveten uygulama dozu 500 mg/kg vücut ağırlığı dozunda olacak şekilde *A. tuncelianum* süpernatantından 1 mL ratlara ağızdan orogastrik yöntemiyle bir ay boyunca her gün verildi. 5. Grup: DE Grubu; 20 mg/kg vücut ağırlığı dozunda tek seferde intraperitoneal olarak 0,5 mL enjekte edilen 7,12-DMBA'ya ilaveten standart bir antioksidan olan E vitamini, uygulama dozu 200 mg/kg vücut ağırlığı dozunda olacak şekilde bir ay boyunca haftada iki kez ağızdan orogastrik yöntemiyle verildi (Fırat, 2005; Solmaz, 2011). Yemler, özel çelik kaplarda ve su ise paslanmaz çelik bilyeli biberonlarda normal çeşme suyu ad libitum olarak tüketmesi sağlandı.

Dokuların homojenizasyonu: Doku homojenizasyonu Ateş ve ark. (2006) bildirdiği yöntemine göre yapıldı. Enzim aktivitesi yapılacak dokunun homojenizasyonunda, öncelikle doku tartıldı ve 1/20 (w/v) oranında PBS tamponu (pH 7.4) eklenerek buz izolasyonu altında IKA-Werke T25 homojenizatörü ile tüm doku parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Elde edilen homojenatlar, sonifikatörde (VWR Branson scientific) 30 saniyelik aralıklarla 4 defa 30 saniye sonifiye edildi ve 10,000 g'de +4 °C'de 10 dakika Nüve NF 800R mikrosantrifüj aletiyle santrifüj işlemi yapıldı ve böylece enzim aktiviteleri ve protein tayininin yapılacağı süpernatant elde edildi. Süpernatant örnekleri ölçüm işlemleri yapıncaya kadar -70°C'de derin dondurucuda saklandı. Lipit peroksidasyonunu belirleyeceğimiz dokunun homojenizasyonu ise PBS tamponu (pH 7.4) ile 1/10 (w/v) oranında eklenerek hazırlandı ve hemen deneyler yapıldı.

Antioksidan enzim aktivitesi analizleri

Katalaz enzim aktivitesi analiz yöntemi:

Katalaz enziminin aktivite tayini Lück (1965) yöntemine göre yapıldı. Katalaz ölçümünde kullanılmak üzere spektrofotometrede 240 nm'de absorbans 0.7-0.9 oluncaya kadar Na-K-fosfat tampon çözeltisine derişik (%35'lik) H₂O₂ ilave edildi. Numunelerin katalaz içeriğini belirlemek için hazırlanan bu karışımdan 1000 µL alınıp küvete kondu ve üzerine çalışma aralığına bağlı olarak 30 µL başlayarak gittikçe artan konsantrasyonlarda süpernatant eklendi ve bir kez karıştırılıp Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 240 nm'de, 30 sn. H₂O₂'nin ($\epsilon = 0.0396 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$) absorbans değişimi okundu. Okunan bu optik dansite farkından mL'deki enzim ünite sayısı hesaplandı.

Süper oksit dismutaz enzim aktivitesi analiz yöntemi:

SOD enziminin aktivite tayini McCord ve Fridovich (1969) yöntemine göre yapıldı. SOD enzim aktivitesi ksantin/ksantin oksidaz (XO) sistemi ile üretilen O₂' radikallerinin sitokrom C'yi okside etmesi sonucu oluşan renk değişiminin inhibisyonu 550 nm'de takip edilerek belirlendi. Bu reaksiyona dayanan optik dansitedeki azalmadan yararlanarak SOD tarafından reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi. Bu reaksiyonu %50 inhibe eden örneklerdeki SOD miktarı 1 Ünite (U) olarak kabul edildi ve sonuçlar U/mg protein olarak verildi. % inhibisyon = $(\text{OD}_{\text{kör}} - \text{OD}_{\text{örnek}}) / \text{OD}_{\text{kör}} \times 100$

Total glutatyon (GSH) ölçümü: Akerboom ve Sies (1981) ve Ateş ve ark. (2006)'nın yöntemleri modifiye edilerek bu çalışmaya uyarlanmıştır. 5-tio-2-nitrobenzoat (TNB) oluşumu, 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Ekstrakt içindeki GSH miktarı, ticari bir GSH standart olarak kullanılarak, nmol/mg protein cinsinden belirlendi. Yöntem: 1) Spektrofotometre küvetine 1 mL tampon çözeltisi eklendi. 2) 30 µL örnek ilave edildi. 3) 50 µL NADPH 4) 20 µL DTNB 5) 20 µL GSH-Redüktaz 6) Daha sonra Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 412 nm deki absorbans değişimi (5. dk.) okundu. 7) Enzim aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

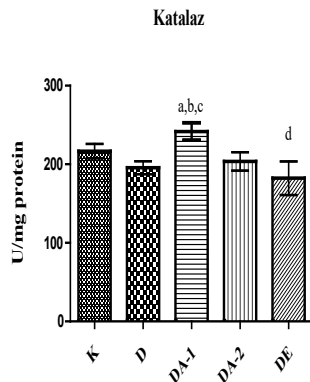
Protein tayini: Protein tayini Bradford (1976) yöntemine göre yapıldı. Standart protein olarak bovin serum albumin (BSA) kullanıldı. BSA'dan 1 mg tartıp 1 mL' de çözülmüş ve bu çözelti de 1000, 500, 400, 300, 200, 100, 75, 50, 25 ve 10 mg/mL olacak şekilde çeşitli derişimlerde çözeltileri hazırlandı. Yirmi kat seyreltilmiş örnek ve standarttan 25 µL (üçer tekrarlı olacak şekilde) mikroplyet yerleştirildi. Üzerine 200 µL Bradford çözeltisi eklendi. 595 nm'de okuma yapıldı. Standartlardan elde edilen verilerle standart grafiği çizilmiş ve bu grafikten elde edilen formülden örnekteki protein değeri hesaplandı.

Lipit peroksidasyon ölçümü: Malondialdehit düzeyi Beuge ve ark. (1994)'nin yöntemi modifiye edilerek tespit edildi. Yöntem; 10 mL'lik santrifüj tüpleri alınmış ve bütün tüplere 1.5 mL TCA çözeltisi konuldu. Kör tüpleri hariç tutularak örnek tüplerine 0.5 mL homojenat konuldu. Kaynar suda (95-100 °C de) 60 dk. bekletildi. Üzerindeki süpernatant alınıp üzerine 1 mL TBA eklenmiştir. Kaynar suda (95-100 °C "de) 60 dk bekletildi. Daha sonra tüpler soğutuldu ve 3500 rpm' de 10 dk. santrifüj edildi. Üzerindeki süpernatant alınıp üzerine 1 mL n-Bütanol eklenip vortekslenildi. Otuz dakika sonra üzerindeki organik faz alınıp Shimadzu 1601 UV-VIS spektrofotometresinde 550 nm'deki MDA-TBA kompleksinin ($\epsilon: 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) absorbansı okunarak malondialdehit miktarı hesaplandı.

İstatiksel Değerlendirme: Çalışma bulgularının istatistiksel analizinde *GraphPad Prism 5.01* programı kullanıldı. Verilerin kıyaslaması One Way ANOVA Tukey testi kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar; grup ortalamaları \pm standart sapma olarak grupların birbirleri ile karşılaştırılmaları ise \pm standart hata olarak verildi. Grafiklerde gruplar birbirleri ile karşılaştırılırken istatistiksel anlamlılık ($P < 0.05$) olarak kabul edildi. $P < 0.05$; "Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark var" olarak ifade edildi. Eğer gruplar kendi aralarında karşılaştırılıyor ise istatistiksel anlamlılık ($P < 0.05$); a, b, c, vb. harfleri ile gösterildi.

Bulgular

Katalaz enzim aktivitesi sonuçları: Ratların bağırsak katalaz enzim aktivitesi Şekil 1'de verildi.



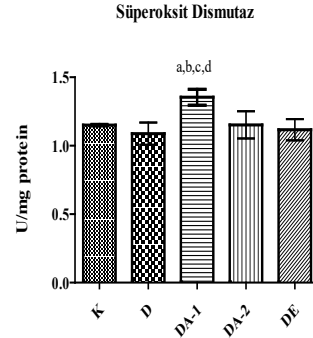
Şekil 1. Rat bağırsak dokusunda katalaz enzim aktivitesi grafiği.

Şekil 1'e göre katalaz enzim aktivitesi; D grubunda, K grubuna göre azalma olduğu ama bunun istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P > 0.005$). DA-1 grubunda, D grubuna göre artma olduğu bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($P < 0.01$). DA-1 grubu; DA-2 grubuyla kıyaslandığında artış ($P < 0.01$) istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı. DA-1 grubu; DE grubuyla

kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı ($P < 0.001$) bir artış olduğu DE grubunda ise; K grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ($P < 0.05$).

[a= D vs DA-1 ($P < 0.01$), b= DA-1 vs DA-2 ($P < 0.01$), c= DA-1 vs DE ($P < 0.001$), d= K vs DE ($P < 0.05$)]

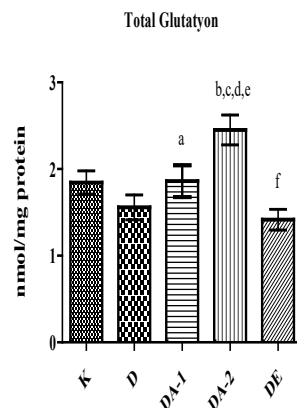
Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi sonuçları: Ratların bağırsak SOD enzim aktivitesi Şekil 2'de verildi.



Şekil 2. Rat bağırsak dokusunda süperoksit dismutaz enzim aktivitesi grafiği.

Şekil 2'ye göre süperoksit dismutaz enzim aktivitesi DA-1 grubunda, K grubu ve D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış ($P < 0.01$) olduğu gözlemlendi. Ayrıca TDS yüksek dozu verilen grup; E vitamini verilen grupla kıyaslandığında da, istatistiksel olarak anlamlı artışın ($P < 0.05$) var olduğu görüldü. [a= K vs DA-1 ($P < 0.05$), b= D vs DA-1 ($P < 0.01$), c= DA-1 vs DA-2 ($P < 0.05$), d= DA-1 vs DE ($P < 0.01$)]

Total glutatyon düzeyi sonuçları: Ratların bağırsak total glutatyon düzeyleri Şekil 3'te verildi.



Şekil 3. Rat bağırsak dokusunda glutatyon düzeyleri grafiği.

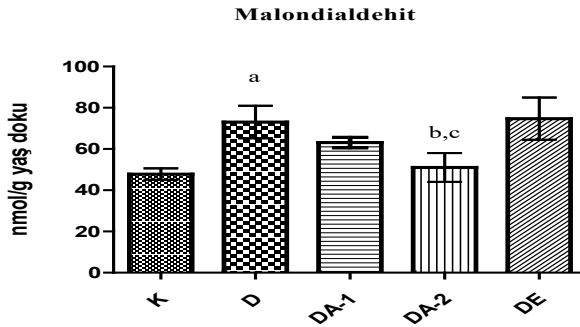
Şekil 3'e göre bağırsak GSH düzeylerinde; D grubunda, K grubuna göre azalma anlamlı değildir ($P > 0.05$). DA-1 grubunda, DE grubuna göre anlamlı artış ($P < 0.01$) gözlemlendi. DA-2 grubunda, K, D, DA-1 ve DE grubuyla kıyaslanınca anlamlı artış ($P < 0.001$) tespit edildi.

[a= DA-1 vs DE ($P<0.01$), b= K vs DA-2 ($P<0.001$), c= D vs DA-2 ($P<0.001$), d= DA-1 vs DA-2 ($P<0.001$), e= DA-2 vs DE ($P<0.01$), f= K vs DE ($P<0.01$)]

Malondialdehit düzey testleri: Ratların bağırsak malondialdehit düzeyleri Şekil 4'te verildi.

Şekil 4'e göre; D grubunda K grubuna göre, istatistiksel olarak anlamlı bir artma ($P<0.001$) gözlemlendi. DA-2 grubunda, D grubu ve DE gruplarına göre; istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($P<0.01$) tespit edildi.

[a= K vs D ($P<0.001$), b= D vs DA-2 ($P<0.01$), c= DA-2 vs DE ($P<0.01$)]¹ a= D vs DA-1 ($P<0.01$), b=DA-1 vs DA-2 ($P<0.01$), c=DA-1 vs DE ($P<0.001$), d= K vs DE ($P<0.05$)² a= K vs DA-1 ($P<0.05$), b= D vs DA-1 ($P<0.01$), c=DA-1 vs DA-2 ($P<0.05$), d= DA-1 vs DE ($P<0.01$)³ a= DA-1 vs DE ($P<0.01$), b= K vs DA-2 ($P<0.001$), c=D vs DA-2 ($P<0.001$), d=DA-1 vs DA-2 ($P<0.001$), e=DA-2 vs DE ($P<0.01$), f=K vs DE ($P<0.01$)⁴ a=K vs D ($P<0.001$), b=D vs DA-2 ($P<0.01$), c=DA-2 vs DE ($P<0.01$)
vs=versus (karşı kıyaslama)



Şekil 4. Bağırsak dokusunda malondialdehit düzeyleri üzerine etkilerinin grafiği.

Tablo 1. Rat bağırsak doku homojenatları istatistiksel analiz parametreleri ve grup ortalamaları

Parametreler	K	D	DA-1	DA-2	DE
CAT ¹	216.73±9.13	195.71±8.24	241.69±11.18 ^{a,b,c}	203.68±11.77	182.39±21.31 ^d
SOD ³	1.19±0.08	1.08±0.08 ^{a,b,c,d}	1.33±0.06 ^{ab}	1.13±0.09	1.11±0.07
GSH ²	1.84±0.13	1.55±0.14	1.86±0.18 ^a	2.45±0.17 ^{b,c,d,e}	1.41±0.11 ^f
MDA ⁴	47.81±2.78	73.05±7.86 ^a	63.11±2.51	51.06±6.91 ^{b,c}	74.69±10.23

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada DMBA ile indüklenmiş rat bağırsak dokusunda, *Allium tuncelianum*'un antioksidan enzim aktivite ve MDA düzeyleri üzerine etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Ayrıca DMBA verilerek oluşan oksidatif strese karşı; farklı dozlarda uygulanan Tunceli Dağ Sarımsağı'nın Vitamin E ile karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu dokunun tercih edilmesinin nedeni; 7.12-DMBA'nın karın bölgesine enjekte edilmesi, bu dokunun da karın bölgesinde olmasıdır. Ayrıca bu dokunun canlı vücudunda metabolik faaliyetlerin en çok gerçekleştiği, dolayısıyla da oksidatif hasara en çok maruz kalan dokulardan birisi olması da tercih nedenlerinden birisidir. Sarımsağın düşük dozdaki yararlı etkileri yüksek dozda kaybolduğu tam tersine prooksidan etki yaptığı hatta çiğ sarımsak ekstraktının 5 mL/kg'lık dozu sıçanlarda mide hasarına bağlı ölüme neden olduğu, aşırı sarımsak kullanımının anemi ve gastrointestinal sistem problemleri gibi toksik etkilere neden olduğu yapılan literatür taramalarında (Banerjee ve ark., 2002; Banerjee ve

ark., 2003; Solmaz, 2011) belirlenmiştir. Bu yüzden çalışmamızda ratların vücut ağırlıkları (kg) başına 250 ve 500 mg'lık derişimlerinin verilmesi uygun görülmüştür.

Katalaz enzim aktivitesi farklı dokularda değişkenlik gösterir. Katalaz enzimi, karaciğer, böbrek ve kırmızı kan hücrelerinde daha yüksek miktarda bulunur. DMBA ile indüklenmiş rat dokularında katalaz enzim aktivitesinin düşmesi anlamlı azalma olarak kabul edilmiştir. DMBA ile indüklenmiş ratlara verilen antioksidatif maddelerin ise, azalan katalaz enzim aktivitesini yükseltmeleri anlamlı artma olarak rapor edilmiştir (Solmaz, 2011; Takım, 2015). Bizim sonuçlarımıza göre; katalaz enzim aktivitesi, D grubunda, K grubuna göre azalma anlamlı değildir. DMBA ile birlikte *Allium tuncelianum*'un düşük dozunun verildiği grupta; sadece DMBA verilen hasta gruba göre, istatistiksel olarak anlamlı bir artma ($P<0.01$) belirlenmiştir. DMBA ile birlikte *Allium tuncelianum*'un düşük dozunun verildiği grup, DMBA ile birlikte *Allium tuncelianum*'un yüksek dozu verilen grupla kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı ($P<0.01$) bir

artış bulunmuştur. Yine DMBA ile birlikte *Allium tuncelianum*'un düşük dozunun verildiği grup; DMBA ile birlikte E vitamini verilen grupla kıyaslandığında da istatistiksel olarak anlamlı ($P<0.001$) bir artış söz konusudur. E vitamini grubunda ise; kontrol grubuna göre azalma anlamlı ($P<0.05$) olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre; *Allium tuncelianum*'un düşük dozu antioksidan, yüksek dozu ise prooksidan aktivite göstermiştir denilebilir. *Allium tuncelianum*'un düşük dozunun verildiği grup, E vitamini verilen grupla kıyaslandığında ise; *Allium tuncelianum*'un, standart bir antioksidan olan E vitamininden daha yüksek aktivite gösterdiği görülmektedir.

DMBA ile indüklenmiş rat dokularında SOD enzim aktivitesinin düşmesi anlamlı azalma olarak kabul edilmiştir. DMBA ile indüklenmiş ratlara verilen antioksidatif maddelerin SOD enzim düzeylerini artırmaları da anlamlı bir artış olarak ifade edilmiştir (Kutlu ve ark., 2018; Singh ve Shukla, 1998). Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre; tıpkı katalaz aktivitesinde olduğu gibi, *Allium tuncelianum*'un düşük dozunun verildiği grupta, kontrol grubu ve sadece DMBA verilen hasta gruba göre istatistiksel olarak anlamlı artış ($P<0.01$) olduğu gözlemlendi. Ayrıca TDS yüksek dozu verilen grup; E vitamini verilen grupla kıyaslandığında ise, istatistiksel olarak anlamlı artışın ($P<0.05$) var olduğu görüldü. Bu sonuca göre; *Allium tuncelianum*'un düşük dozu iyi bir antioksidan özellik gösterirken, yüksek dozu ise prooksidan aktivite gösterdiği görülmektedir. *Allium tuncelianum*'un düşük dozunun verildiği grup, E vitamini verilen grupla kıyaslandığında; *Allium tuncelianum*'un düşük dozunun, standart bir antioksidan olan E vitamininden daha yüksek SOD aktivitesi gösterdiği anlaşılmaktadır.

Total glutatyon, glutatyon peroksidaz enzimi tarafından, peroksit radikallerini temizlemek için kullanılan bir bileşiktir. DMBA ile indüklenmiş rat dokularında GSH düzeylerinin düşmesi anlamlı azalma olarak kabul edilmektedir. DMBA ile indüklenmiş ratlara verilen antioksidatif maddelerin ise oksidatif hasar sonucu düşmüş GSH düzeylerini yükseltmeleri anlamlı bir artış olarak rapor edilmiştir (Dinis ve ark., 1994; Kutlu ve ark., 2018). Çalışma sonuçlarımıza göre; sadece DMBA verilen hasta gruptaki azalma, kontrol grubuna kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P>0.05$). *Allium tuncelianum*'un düşük dozunun verildiği grupta, E vitamini verilen gruba göre; anlamlı artış ($P<0.01$) gözlemlendi. *Allium tuncelianum*'un yüksek dozunun verildiği grupta, kontrol grubu, sadece DMBA'nın verildiği hasta grup, DMBA ile birlikte *A. tuncelianum*'un düşük dozu verilen grup ve DMBA ile birlikte E vitamini verilen gruba kıyaslanınca anlamlı artış ($P<0.001$) tespit edildi. Bu sonuca göre *Allium tuncelianum*'un

yüksek dozu, iyi bir glutatyon uyarıcısı olduğu söylenebilir.

Malondialdehit (MDA) serbest radikal saldırıları sonucu hücre membranında bulunan lipidlerin peroksidasyonunun son ürünüdür. DMBA ile indüklenmiş ratlarda MDA miktarının artması ve hayvanlara verilen antioksidatif maddeler ile miktarının azalması genel olarak olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir (Kutlu ve ark., 2018). Çalışma sonuçlarımıza göre; sadece DMBA verilen hasta grupta, kontrol grubuna göre; istatistiksel olarak anlamlı bir artma ($P<0.001$) gözlemlendi. Bu ise oksidatif stresin başarılı bir şekilde oluşturulduğuna işaret etmektedir. DMBA ile birlikte *A. tuncelianum*'un yüksek dozu verilen grupta ise, sadece DMBA verilen hasta grup ve DMBA ile birlikte E vitamini verilen gruplarına göre; istatistiksel olarak anlamlı bir azalma ($P<0.01$) tespit edildi.

Sonuç olarak; *A. tuncelianum*'un düşük dozunun, bağırsak dokusunda, antioksidan enzim aktivitelerini olumlu bir şekilde etkilediğini ve yüksek dozunun ise; bağırsak dokusunu lipid peroksidasyonuna karşı koruyabileceğini söyleyebiliriz. Bununla birlikte *A. tuncelianum*'un içerisinde bulunan sülfürlü bileşikler, özellikle di allil sülfid, diallil disülfid ve diallil trisülfid sayesinde gerçekleştirilebileceğini literatür bilgilerine (Wu ve ark., 2001; Manivasagam ve ark., 2019; Uchiyama ve Mihara, 1978) dayanarak söyleyebiliriz.

Teşekkür

Bu çalışmanın deney hayvanları kısmında teknik desteklerinden dolayı tüm İNÜDEHÜM çalışanlarına, özellikle de Veteriner Teknikeri Onur Özkaya Beyefendi'ye teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Akerboom TPM, Helmut S, 1981: Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Method Enzymol*, 77(C): 373-82.
- Ates B, Dogru IM, Gul M, Erdogan A, Dogru AK, Yilmaz I, Esrefoglu M, 2006: Protective role of caffeic acid phenethyl ester in the liver of rats exposed to cold stress. *Fundam Clin Pharmacol*, 20(3), 283-289.
- Banerjee SK, Maulik K, Mancahanda SC, Dinda AK, Gupta SK, Maulik SK, 2002: Dose-dependent induction of endogenous antioxidants in rat heart by chronic administration of garlic. *Life Sciences*, 70(13), 1509-1518.
- Banerjee SK, Pulok K, Mukherjee Maulik SK, 2003: Garlic as an antioxidant: The good, the bad and the ugly. *Phytotherapy Research*, 17(2), 97-106.
- Baldi A, 2005: Vitamin E in dairy cows. *Livest Prod Sci*, 98:117-122.
- Bisgin A, Boga I, Yilmaz MA, Bingol G, Altintas D, 2018:

- The utility of next-generation sequencing for primary immunodeficiency disorders: experience from a clinical diagnostic laboratory. *–Biomed Res Int*, ID 9647253.
- Bradford MM, 1976: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72(1-2), 248-54.
- Desai VG, Casciano D, Feuers RJ, Aidoo A, 2001: Activity profile of glutathione-dependent enzymes and respiratory chain complexes in rats supplemented with antioxidants and treated with carcinogens. *Arch of Biochem and Biophys*, 394(2), 255-264.
- Dinis TCP, Maderia VMC, Almeida LM, 1994: Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxy radical scavengers. *Arch Biochem Biophys*, 315(1), 161–69.
- Takım K, 2015: Tunceli dağ sarımsağı'nın (allium tuncelianum) in vitro antioksidan kapasitesinin ölçülmesi, ratlarda antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi ve antikanser özelliğinin belirlenmesi. Doktora Tezi, İÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Kutlu T, Takım K, Karaaslan MG, Yılmaz MA, 2018: Effect of tunceli mountain garlic (allium tuncelianum) on rat heart tissue antioxidant enzyme levels and characterization of phenolic components. *KSU J. Agric Nat*, 21(4), 632–43.
- Lück H, 1965: Catalase, in "Methods of enzymatic analysis (second printing, revised)." Ed; Bergmeyer HU, Elsevier Inc. Academic Press. Verlag Chemie GmbH.
- Manivasagam T, Subramanian P, Suthakar G, Essa MM, 2005: The chemopreventive effect of diallyl disulphide on n-nitrosodiethylamine induced heptocarcinogenesis. *J App Biomed*, 3, 187-191
- McCord JM, Fridovich I, 1969: Superoxide dismutase. an enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *J Biol Chem*, 244(22), 6049–55.
- Ozhatay N, Mathew B, 2007: New taxa and notes on the genus allium (alliaceae) in turkey and arabia. *Kew Bulletin*, 166(4), 723-731
- Özhatay, Neriman. 2002: Diversity of bulbous monocots in turkey with special reference. chromosome numbers. *Pure and Appl Chem*, 74(4), 547-555.
- Pinto JT, Rivlin RS, 2001: Antiproliferative effects of allium derivatives from garlic. *The Jf Nut*, 131(3), 1058S-1060S.
- Fırat S, 2005: Alkole bağlı karaciğer hasarının önlenmesinde sarımsak, vitamin E ve melatonin etkilerinin kıyaslanması. İÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bitirme Tezi, Malatya.
- Singh A, Shukla Y, 1998: Antitumour activity of diallyl sulfide on polycyclic aromatic hydrocarbon-induced mouse skin carcinogenesis. *Cancer Lett*, 131(2), 209-14.
- Soares R, Costa C. 2009: Oxidative stress, inflammation and angiogenesis in the metabolic syndrome. Springer, Netherlands.
- Solmaz FÖK, 2011: 7.12-DMBA ile indüklenen rat karaciğer dokusunda çeşitli sarımsak ekstraktlarının koruyucu etkilerinin incelenmesi. İÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Malatya
- Takım K, Yıldırım I, Kutlu T, 2015: Comparison of antioxidant activity of rheum ribes fruits and seed methanolic extracts against protein oxidation and lipid peroxidation. *Pakistan J Biol Sci*, 18(5), 232-39.
- Uchiyama M, Mihara M, 1978: Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem*, 86(1), 271-278.
- Wu CC, Sheen LY, Chen HW, Tsai SJ, Lii CK, 2001: Effects of organosulfur compounds from garlic oil on the antioxidation system in rat liver and red blood cells. *Food Chem Toxicol*, 39(6), 563-69.
- *Bu makale Kasım Takım'ın doktora tez çalışmasından hazırlanmış ve kısa bir özeti uluslararası bir kongrede (1st International Congress On Medicinal And Aromatic Plants) poster olarak sunulmuştur.
- **Yazışma Adresi:** Kasım Takım
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail: kasimtakim@harran.edu.tr

Investigation of Apoptotic Effects of *Hypericum perforatum* Extract on Breast Cancer Cell Line

Harun ALP^{1,a}, Hidayet TUTUN^{2,b}, Halil Mahir KAPLAN^{3,c}, Ergin ŞİNGIRIK^{4,d}, Levent ALTINTAŞ^{5,e,*}

¹Hatay Mustafa Kemal University, Tayfur Ata Sokmen Medicine Faculty, Medical Pharmacology Department, Hatay, Turkey

²Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Veterinary Faculty, Pharmacology and Toxicology Department, Burdur, Turkey

³Cukurova University, Medicine Faculty, Pharmacology Department, Adana, Turkey

⁴Cukurova University, Medicine Faculty, Medical Pharmacology Department, Adana, Turkey

⁵Ankara University, Veterinary Faculty, Pharmacology and Toxicology Department, Ankara, Turkey

^aORCID: 0000-0002-9799-9556, ^bORCID: 0000-0001-9512-8637, ^cORCID: 0000-0003-3921-4957,

^dORCID: 0000-0003-1219-6744, ^eORCID: 0000-0002-5148-723X

Geliş Tarihi: 19.08.2019

Kabul Tarihi: 13.11.2019

Abstract: *Hypericum perforatum* has biological active contents affecting a variety of proteins such as caspase-3, bcl-2, and bax, which mediate apoptosis known as programmed cell death and exerting anti-inflammatory effect. Apoptotic pathways are important for cancers, chemotherapeutic resistance, and cancer development. Anti-inflammatory agents are also a potential target for cancer. Therefore, it was aimed to investigate the activity of caspase-3 and the expressions of bcl-2, bax, wee 1, gadd153, grp78, AIF, iNOS, COX-2, cPLA2, and NF-κB in *H. perforatum* extract-treated breast cancer (BC) cells in this study. The activity of caspase-3 and the expressions of these proteins were determined in the cells by ELISA. The HP extract increased the activity of caspase-3 and the expressions of bax, wee 1, gadd153, grp78 and AIF, and decreased the expressions of bcl-2, COX-2, iNOS, cPLA2 and NF-κB in the BC cells. In the light of these findings, HP extract could help to inhibit growth of BC cells and its anti-inflammatory effect may contribute this effect.

Keywords: *Hypericum perforatum*, Breast cancer, Apoptosis, Inflammation.

Meme Kanseri Hücre Hattında *Hypericum perforatum* Ekstresinin Apoptotik Etkilerinin Araştırılması

Özet: Kantaron otu (*Hypericum perforatum*), programlanmış hücre ölümü olarak bilinen apoptoza aracılık eden kaspaz-3, bax ve bcl-2 gibi çeşitli proteinleri etkileyen ve antiinflatuar etki gösteren biyolojik aktif içeriğe sahiptir. Apoptotik yollar kanserler, kemoterapötik direnç ve kanser gelişimi için önemlidir. Ayrıca, antiinflatuar ajanlar kanser için bir potansiyel hedefdir. Bundan dolayı, bu çalışmada *H. perforatum* ekstresi ile muamele edilmiş meme kanseri hücrelerinde kaspaz-3'ün aktivitesinin ve bax, bcl-2, wee 1, gadd153, grp78, AIF, iNOS, COX-2, cPLA2 ve NF-κB ekspresyonlarının araştırılması amaçlandı. Hücrelerde kaspaz-3'ün aktivitesi ve proteinlerin ekspresyonları ELISA ile belirlendi. Ekstrakt, göğüs kanseri hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesini ve bax, wee 1, gadd153, grp78 ve AIF ekspresyonunu arttırdı ve bcl-2, iNOS, COX-2, cPLA2 ve NF-κB ekspresyonunu azalttı. Bu bulgular ışığında, *H. perforatum* ekstresi, meme kanseri hücrelerinin büyümesini önlemeye yardımcı olabilir ve ekstrenin antiinflatuar etkisi, bu etkiye katkıda bulunabilir.

Anahtar Kelimeler: *Hypericum perforatum*, Meme kanseri, Apoptozis, İnflamasyon.

Introduction

Breast cancer (BC) is one of the most common causes of cancer-related deaths in women after skin cancer and lung cancer. The incidence of BC in women is between 2% and 11% (Power et al., 2018; WCRF, 2018). Conventional therapy may include surgery, chemotherapy, hormonal therapy and radiotherapy for this cancer. However, patients with BC prefer complementary medicine defined as non-conventional treatments and phototherapy to stimulate their healing, due to the failure standard therapy (Sivalingam and Tharmarajah, 2018).

Hypericum perforatum (HP) is a plant that grows in the wild and has been usually used as a treatment for a variety of disease such as depression, wounds, burns, eczema (Efferth and

Koch, 2011; Butterweck, 2003). Quercetin, quercitrin, rutin, hypericin, kaempferol, biapigenin, hyperforin and hyperoside are main active components of HP (Oliveira et al., 2016). It has been demonstrated that hyperforin suppressed the activities of 5-lipoxygenase and cyclooxygenase (COX) enzymes which play a pivotal roles in regulation of inflammatory and immune responses (Albert et al., 2002). In another study on the anti-inflammatory effects of hypericin and hyperforin, it has been reported that these substrates showed anti-inflammatory activity by decreasing prostaglandin E₂ (PGE₂) and nitric oxide (NO) production and COX-2 and inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene expression (Berköz et al.,

2018). HP has been reported to be effective antioxidant, antitumor and antimicrobial activities due to its flavonoid and some other phenolic components (Cakir et al., 2003; Milosevic et al., 2007; Pia Schiavone et al., 2014; Tungmunnithum et al., 2018). Several studies demonstrated that HP extracts and its isolated active substances such as apigenin, hyperforin, and epigallocatechin induced apoptosis through activation of caspase-3, upregulations of tumor protein p53, BH3-only protein Noxa and bax proteins and downregulation of antiapoptotic bcl-2 protein in a kind of cell lines (Gupta et al., 2004; Izol et al., 2019; Madunić et al., 2018; Merhi et al., 2011; Zaher et al., 2012). Also, there have several other proteins including nuclear factor kappa B (NF-κB), cytosolic phospholipase A2 (cPLA2), wee 1, Bid, chk2, p53, Grp78, and gadd153 having roles in regulation of cell growth and proliferation and inflammation (Baldwin, 2001; Lu et al., 2010; Yarla et al., 2015). HP extract has been reported to suppress the cell growth and induce apoptosis of human BC cells (You et al., 2018). Therefore, the aim of the present study was to investigate the effects of HP extract on apoptotic and inflammatory pathways in human BC cells.

Materials and Methods

Extraction of *Hypericum perforatum*: HP was obtained in the region of Kel Mountain in Hatay province of Turkey (June in 2017). Aerial parts and flowers of the plants were dried in incubator for 24 hours. The dried parts were powdered by using a blender and the powdered materials (40 g) were extracted with 80% ethyl alcohol solution (100 ml) as a solvent overnight on a shaker and then filtered. The alcohol of the extracts was evaporated via a rotary evaporator (IKA RV 10 basic, IKA company, Germany) to obtain crude extract. HP extract to be used in the tests was prepared with Eagle's minimal essential medium (EMEM, Gibco) at concentration of 0.25% (Ferguson et al., 2011).

Cell Culture: Human BC cells (MCF-7) were provided from ATCC. MCF-7 were cultured in the EMEM with 0.01 mg/ml human recombinant insulin and 10% FBS. Cells were cultivated at 37°C with 5% CO₂ in humidified atmosphere.

Cell Viability Assay: Cytotoxicity of the extract was evaluated using MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma), reduced to purple formazan in the living cells (Mosmann, 1983). The MTT was dissolved in PBS to prepare stock solution (final concentration 5 mg/ml). The MCF-7 were seeded at a concentration of 1x10⁴ cells each well of 96-well plate for overnight. Then, the cells were incubated with 0.25% HP extract for 48 h. After incubation, MTT reagent was added to

each well at final concentration of 0.5 mg/ml for 2 h at 37°C. The supernatants were carefully removed and 200 µl of DMSO (Sigma-Aldrich) was added to each well to dissolve the formazan crystals. The quantity of formazan was measured at 570 nm using a plate reading UV spectrophotometer (Rayto Life and Analytical Sciences, China).

Extract Treatment and Cell Homogenization: MCF-7 were seeded in 75 m² cell culture flasks (n=12) with 2x10⁶ cells. They were incubated at 37°C and 5% CO₂ incubator. Six flasks treated with 0.25% HP extract for 48 h and six flasks without any application (control group) were used in the study. After the MCF-7 were exposed to 0.25% HP extract for 48 h, they were washed in PBS and lysed in RIPA Lysis Buffer (89900, Thermo Scientific) on ice for 15 min. They were centrifuged at 13000 rpm for 5 min at 4°C, supernatants were collected into new microtubes, and pellets were discarded. Supernatants were used for ELISA tests.

Protein Quantification: Protein quantification was performed for standardization of ELISA assays. Bradford protein assay was used to determine the concentration of total protein in the homogenized cells. Seven dilution of Bovine serum albumin (1 µg/ml, 2 µg/ml, 3 µg/ml, 5 µg/ml, 7 µg/ml, 8 µg/ml and 10 µg/ml) standards were prepared to create standard curve used to quantify the protein concentration in the samples by comparison to the curve. 10 µl was taken from every sample and added distilled water to make 100 µl total volume. One milliliter Bradford solution was added to each standard and sample, mixed gently by vortexing and absorbance at 595 nm were measured using a spectrophotometer (Rayto Life Reader, China). Protein concentration (µg/µl) of samples was quantified according to the standard curve plotted in Prism software (GraphPad Software, USA).

ELISA Test: The activity of caspase-3 and expressions of bcl-2, bax, wee 1, gadd153, grp78, AIF, iNOS, cPLA2, COX-2, and NF-κB protein were detected by ELISA kits purchased from Shenzhen Genesis Technology (Guangdong, China) according to the manufacture's protocols.

Statistical Analyzes: For the comparison of parameters from control and the extract treated group unpaired Student's t test was used. Data were presented as means ± SEM. P values <0.05 were considered as statistically significant.

Results

We evaluated apoptotic and inflammatory pathways in this study. Treatment of cancer cells with HP extract inhibited the pathways of inflammation while activating the apoptotic pathways. HP extract increased activity of caspase-3

(Fig. 1A) and expressions of bax (Fig. 1B), wee 1, gadd153, grp78, and AIF (Table 1) which are apoptotic protein and decreased bcl-2 (Fig. 1C) which is antiapoptotic protein in MCF-7 cells. It also decreased expressions of iNOS (Fig. 1D), COX-2 (Fig. 1E), cPLA2 (Fig. 1F), and NF-κB (Fig. 1G) in the cells. In addition, the viability in the cells were evaluated by MTT test and the extract treatment for 48 h reduced viability of these cells (60±3% viability).

Table 1. Effect of HP treatment on wee 1, gadd153, grp78 and AIF expression.

Parameter (Expression)	Control	HP Treated
wee 1	0.25±0.009 pg/ml	0.95±0.017 pg/ml*
AIF	0.73±0.017 pg/ml	1.8±0.077 pg/ml*
gadd153	0.15±0.019 pg/ml	2.12±0.18 pg/ml*
grp78	0.55±0.03 pg/ml	1.35±0.25 pg/ml*

Results are presented as mean±SEM. Statistical analysis: Student t test (*: For control $P < 0.05$).

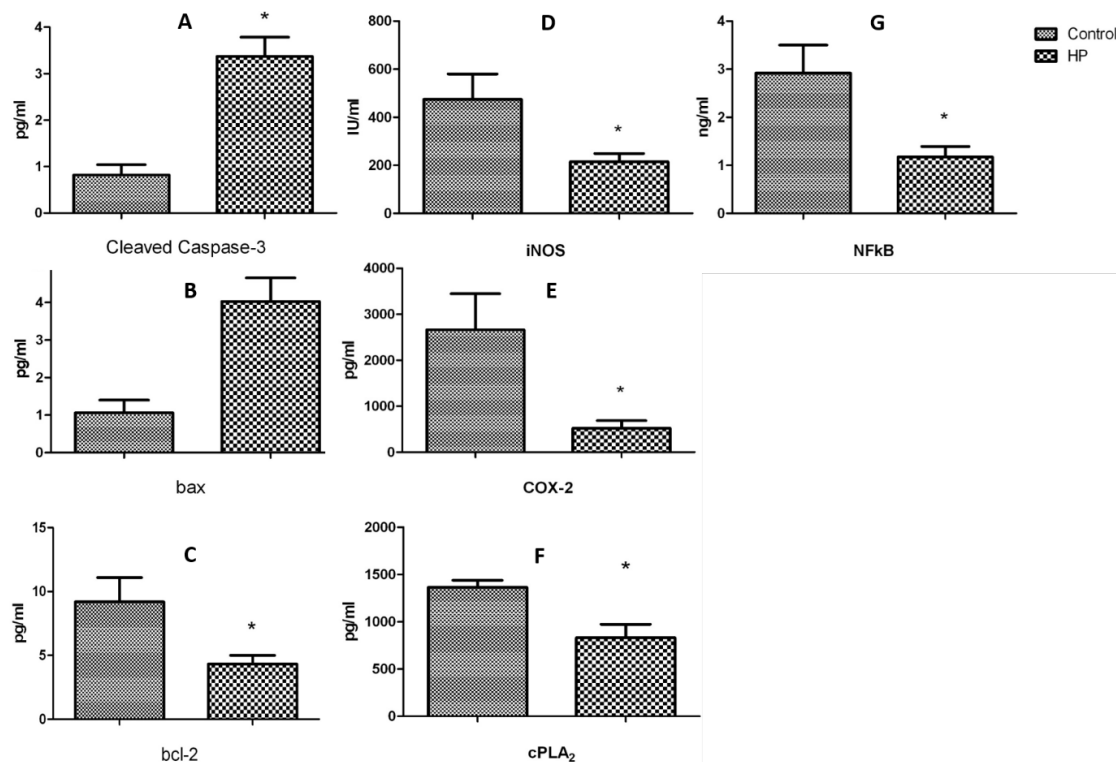


Figure 1. Effect of HP treatment on caspase-3 activity (A), bax expression (B), bcl-2 expression (C), iNOS expression (D), COX-2 expression (E), cPLA2 expression (F) and NF-κB expression (G). The data are presented as mean ± SEM. *Difference between control and HP treated group is significant with $p < 0.05$.

Discussion and Conclusions

Apoptosis known as programmed cell death is the process of elimination of undesired tissue during embryogenesis and remodeling of the tissue. Previous studies showed that some oncogenic mutations cause apoptosis, cancer initiation, progression or metastasis. It is now well documented that most cytotoxic anticancer agents induce apoptosis, and defects in apoptotic pathways contribute to treatment failure (Ma et al., 2017; Tutun et al., 2019). Inflammation has a critical role in tumor progression and many cancers occur from sites of infection, inflammation, and chronic irritation (van Kempen et al., 2006).

HP has biological active contents and has been used against some diseases for local people. The contents of HP affect caspase-3, bax and bcl-2 protein which mediate apoptosis (Gupta et al., 2004; Lu et al., 2010; Merhi et al., 2011; Zaher et al., 2012). HP extract also has anti-inflammatory effect (Albert et al., 2002). In a study, anti-inflammatory agents induced apoptosis and inhibited proliferation of human promyelocytic leukemia cell line HL-60 (Jakubikova et al., 2001). Henson and Bratton (2013) have shown that phagocytosis of apoptotic cells suppresses inflammation by inhibiting the expression of inflammatory cytokines and inducing expression of anti-inflammatory factors, including transforming growth factor (TGF)-β and PGE₂. Inhibition of COX by nonsteroidal anti-

inflammatory drugs leads to prevention of angiogenesis, inhibition of tumor cell growth and promotion of apoptosis in cancer cells (Chan, 2002; Moore and Simmons, 2000).

Hypericin, one of the active ingredients of HP, has been shown to induce apoptosis in human BC cells (Mirmalek et al., 2016). In another study, HP suppressed the growth of prostate cancer cells (Martarelli et al., 2004). Also, HP has been shown to reduce recurrence of bladder cancer (Shiverick et al., 2008). In the present study, we have revealed effects of HP extract on inflammation and apoptosis in the breast cancer cells. The findings of the present study showed that the apoptotic effects of HP on these cells could be due to its anti-inflammatory activities.

In conclusion, our study showed that HP extract activates intracellular apoptotic pathways and inhibits antiapoptotic proteins, thereby reducing inflammation of human BC. Our findings will also contribute to the development of new strategies in the treatment of cancer.

Acknowledgments

The Hatay Mustafa Kemal University Scientific Research Projects Presidency (Project no. 16569) supported this study. The authors declare no conflict of interests.

References

- Albert D, Zundorf I, Dingermann T, Muller WE, Steinhilber D, Werz O, 2002: Hyperforin is a Dual Inhibitor of Cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochem Pharmacol*, 64(12), 1767-1775.
- Baldwin AS, 2001: Series introduction: the transcription factor NF- κ B and human disease. *J Clin Invest*, 107(1), 3-6.
- Berköz M, Allahverdiyev O, Yıldırım M, 2018: Investigation of the Effect of Hyperforin and Hypericin on Inflammatory Response in RAW 264.7 Macrophages. *Van Tıp Derg*, 25(2), 124-131.
- Butterweck V, 2003: Mechanism of action of St John's wort in depression. *CNS Drugs*, 17(8), 539-562.
- Cakir A, Mavi A, Yildirim A, Duru ME, Harmandar M, Kaza C, 2003: Isolation and Characterization of Antioxidant Phenolic Compounds from the Aerial Parts of *Hypericum hyssopifolium* L. by Activity-guided Fractionation. *J Ethnopharmacol*, 87(1), 73-83.
- Chan TA, 2002: Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, Apoptosis, and Colon-cancer Chemoprevention. *Lancet Oncol*, 3(3), 166-174.
- Efferth T, Koch E, 2011: Complex interactions between phytochemicals. The multi-target therapeutic concept of phytotherapy. *Current Drug Targets*, 12(1), 122-132.
- Ferguson A, Morris C, Curley J, 2011: Hypericum perforatum extracts and hypericin treatment of a mouse mammary cancer cell line induces growth inhibition in a dose dependent manner. *J Exp Sec Sci*, 3, 14-18.
- Gupta S, Hastak K, Afaq F, Ahmad N, Mukhtar H, 2004: Essential Role of Caspases in Epigallocatechin-3-gallate-mediated Inhibition of Nuclear Factor KappaB and Induction of Apoptosis. *Oncogene*, 23(14), 2507-2522.
- Henson PM, Bratton DL, 2013: Antiinflammatory Effects of Apoptotic Cells. *J Clin Invest*, 123(7), 2773-2774.
- Izol V, Aridoğan IA, Tansuğ Z, Doran F, Erdoğan KE, Kaplan HM, Şingirik E, Ertuğ P, Pazarci P, 2019: *Hypericum perforatum* Extract Against Oxidative Stress, Apoptosis and Oedema in Kidney Induced by Gentamicin. *Int J Pharmacol*, 15, 66-73.
- Jakubikova J, Duraj J, Takacsova X, Hunakova L, Chorvath B, Sedlak J, 2001: Non-steroidal Anti-inflammatory Agent Ibuprofen-induced Apoptosis, Cell Necrosis and Cell Cycle Alterations in Human Leukemic Cells in vitro. *Neoplasma*, 48(3), 208-213.
- Lu HP, Chie YJ, Yang MS, Lee CS, Fu JJ, Yang JS, Tan TW, Wu SH, Ma YS, Ip SW, Chung JG, 2010: Apigenin Induces Caspase-dependent Apoptosis in Human Lung Cancer A549 Cells Through Bax- and Bcl-2-triggered Mitochondrial Pathway. *Int J Oncol*, 36(6), 1477-1484.
- Ma YQ, Ma ZH, Yin SQ, Yan X, Wang J, 2017: Arsenic and Fluoride Induce Apoptosis, Inflammation and Oxidative Stress in Cultured Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Chemosphere*, 167, 454-461.
- Madunić IV, Madunić J, Antunović M, Paradžik M, Garaj-Vrhovac V, Breljak D, Marijanovic I, Gajski G, 2018: Apigenin, a dietary flavonoid, induces apoptosis, DNA damage, and oxidative stress in human breast cancer MCF-7 and MDA MB-231 cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 391(5), 537-550.
- Martarelli D, Martarelli B, Pediconi D, Nabissi MI, Perfumi M, Pompei P, 2004: *Hypericum perforatum* Methanolic Extract Inhibits Growth of Human Prostatic Carcinoma Cell Line Orthotopically Implanted in Nude Mice. *Cancer Lett*, 210(1), 27-33.
- Merhi F, Tang R, Piedfer M, Mathieu J, Bombarda I, Zaher M, Kolb JP, Billard C, Bauvois B, 2011: Hyperforin Inhibits Akt1 Kinase Activity and Promotes Caspase-Mediated Apoptosis Involving Bad and Noxa Activation in Human Myeloid Tumor Cells. *Plos One*, 6(10), e25963.
- Milosevic T, Solujic S, Sukdolak S, 2007: In vitro study of ethanolic extract of *Hypericum perforatum* L. on growth and sporulation of some bacteria and fungi. *Turkish Journal of Biology*, 31(4), 237-241.
- Mirmalek SA, Azizi MA, Jangholi E, Damavandi SY, Javidi MA, Parsa Y, Tabatabaee SAS, Kolagar HG, Navaei RA, 2016: Cytotoxic and Apoptogenic Effect of Hypericin, The Bioactive Component of *Hypericum perforatum* on The MCF-7 Human Breast Cancer Cell Line. *Cancer Cell Int*, 16(3), 1-9.
- Moore BC, Simmons DL, 2000: COX-2 Inhibition, Apoptosis, and Chemoprevention by Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. *Curr Med Chem*, 7(11), 1131-1144.

- Mosmann T, 1983: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*, 65, 55-63.
- Oliveira AI, Pinho C, Sarmiento B, Dias AC, 2016: Neuroprotective activity of *Hypericum perforatum* and its major components. *Front Plant Sci*, 7, 1004.
- Pia Schiavone BI, Verotta L, Rosato A, Marilena M, Gibbons S, Bombardelli E, Franchini C, Corbo F, 2014: Anticancer and antibacterial activity of hyperforin and its derivatives. *Anticancer Agents Med Chem*, 14(10), 1397-1401.
- Power EJ, Chin ML, Haq MM, 2018: Breast Cancer Incidence and Risk Reduction in The Hispanic Population. *Cureus*, 10(2), e2235.
- Shiverick KT, Nseyo OU, Medrano TA, Mejia MC, Stavropoulos N, Tsimaris I, Skalkos D, 2008: The Dual Effects of Polar Methanolic Extract of *Hypericum perforatum* L in Human Bladder Cancer Cells. *J Urol*, 179(4), 371.
- Sivalingam S, Tharmarajah L, 2018: Complementary and Alternative Therapies for Breast Cancer Worldwide. *Lett Health Biol Sci*, 3(2), 27-32.
- Tungmunnithum D, Thongboonyou A, Pholboon A, Yangsabai A, 2018: Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: An overview. *Medicines*, 5(3), 93-109.
- Tutun H, Özmen Ö, Aktaş I, Yağcınn A, Türk A, 2019: Investigation of the effects of artemisinin on testis and kidney injury induced by doxorubicin. *Acta Veterinaria-Beograd*, 69(2), 177-191.
- WCRF, 2018: World Cancer Research Fund: Breast cancer statistics. Breast Cancer is The Most Common Cancer in Women Worldwide. <https://www.wcrf.org/dietandcancer/cancer-trends/breast-cancer-statistics>, Erişim tarihi; 12.11.2018.
- van Kempen LCL, de Visser KE, Coussens LM, 2006: Inflammation, Proteases and Cancer. *Eur J Cancer*, 42(6), 728-734.
- Yarla NS, Satyakumar K, Srinivasu D, Dsvkg KAG, Dharmapuri G, Putta GRSS, Jagarlapoodi S, Bheeram V, Sadu SP, Duddukuri GR, 2015: Phospholipase A2: a potential therapeutic target in inflammation and cancer (In silico, In vitro, In vivo and clinical approach). *J Cancer Sci Ther*, 7(7), 249-252.
- You MK, Kim HJ, Kook J, Kim HA, 2018: St. John's wort regulates proliferation and apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells by inhibiting AMPK/mTOR and activating the mitochondrial pathway. *Int J Mol Sci*, 19(4), 966.
- Zaher M, Tang R, Bombarda I, Merhi F, Bauvois B, Billard C, 2012: Hyperforin induces apoptosis of chronic lymphocytic leukemia cells through upregulation of the BH3-only protein Noxa. *Int J Oncol*, 40(1), 269-276.

***Corresponding Author:** Levent ALTINTAŞ

Ankara University, Veterinary Faculty, Pharmacology and Toxicology Department, Ankara.

e-mail: leventaltintas@hotmail.com.

Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) Rasyonuna Vitamin E (Alfa-Tokoferol Asetat) Katkısının Bazı Spermatolojik Parametreler ve Malondialdehid Düzeyine Etkisi

Şeyma ÖZER KAYA^{1,a,*}, Seyfettin GÜR^{1,b}, Özden BARIM ÖZ^{2,c}

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

^aORCID: 0000-0002-9970-9364, ^bORCID:0000-0003-0096-2501, ^cORCID:0000-0002-4202-8402

Geliş Tarihi: 11.09.2019

Kabul Tarihi: 12.12.2019

Özet: Bu çalışmada, Nil Tilapia balıklarının rasyonuna vitamin E (Alfa-tokoferol Asetat) katkısının spermatolojik parametreler (sperm motilitesi, yoğunluğu ve pH'sı) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerine olan etkisi araştırıldı. Çalışmada her bir deneme grubunda 12 balık olmak üzere toplam 48 tilapia balığı kullanıldı. Balıkların beslenmesi için %32 oranında ham protein içeren bir kontrol rasyon hazırlandı. Bu rasyona 80 mg/kg, 160 mg/kg ve 240 mg/kg miktarlarında vitamin E ilave edilerek sırasıyla D1, D2 ve D3 nolu deneme rasyonları oluşturuldu. Tilapia balıklarının canlı ağırlıklarının %4'ü oranında hazırlanan rasyon, 3 ay süreyle günde üç öğün halinde 25±1 °C su sıcaklığında verildi. Çalışmanın sonunda, D1 ve D3 gruplarında kontrol grubuna göre MDA düzeylerinin sayısal olarak arttığı ancak bu artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir (p>0,05). D2 grubunda sperm motilitesinin ve sperma pH'nın sayısal olarak arttığı, ancak bu artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu (p>0,05) belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nil tilapia, Vitamin E, Malondialdehid, Spermatolojik parametreler, Alfa-tokoferol asetat.

The Effect of Vitamin E (Alpha-Tocopherol Acetate) Supplements to Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) Ration on Some Spermatological Parameters and Malondialdehyde Level

Abstract: In this study, the effect of vitamin E (Alpha-tocopherol Acetate) contribution to the ration of Nile Tilapia fish on spermatological parameters (sperm motility, density and pH) and malondialdehyde (MDA) levels were investigated. In the study, a total of 48 tilapia fish, 12 fish in each experimental group, were used. A control diet containing 32% crude protein was prepared for feeding the fish. To this diet, 80 mg/kg, 160 mg/kg and 240 mg/kg amounts of vitamin E were added to form D1, D2 and D3, respectively. The ration prepared at the rate of 4% of the live weights of Tilapia fish was given at 25±1 °C water temperature in three times a day for 3 months. At the end of the study, it was determined that MDA levels were increased numerically in D1 and D3 groups, but this increase was statistically insignificant (p>0.05). It was determined that sperm motility and sperm pH were increased numerically in the D2 group, but this increase was statistically insignificant (p>0.05).

Key words: Nile Tilapia, Vitamin E, Malondialdehyde, Spermatological parameters, Alpha-Tocopherol Acetate

Giriş

Tilapia balıkları, Cichlidae familyasından olup özellikle Doğu Afrikada yetiştirilir. Tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak bulunan tilapia balıkları kolayca döl verebilmesi, çevresel şartlardaki değişikliklere karşı dayanıklılığı ve protein kaynağı olarak etlerinin lezzetinden dolayı yetiştiricilikte tercih edilmektedir (Lovell, 1989).

Son yıllarda ülkemizin güney bölgelerinde de yetiştirilme potansiyeli bulunan bu türün, dünyada kullanımı artarak ortalama 1,5 milyon tona ulaşmış ve bunun % 66,6'sı yetiştiricilikle elde edilmiştir. Bu öneme binaen tilapia balıkları üzerinde çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Dünya nüfusunun her geçen gün artmasından dolayı besin ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla günümüzdeki çalışmaların

çoğuna tilapia balıkları temel oluşturmaktadır (Roderick, 2001).

Günümüzde besin ihtiyaçlarını karşılaması amacıyla en önemli verim olan döl verimi yani tilapia sayısının artışı amaçlanmıştır. Bu yüzden balık rasyonlarına birçok farklı madde katılarak verim artışına bakılmış, katılan katkı maddelerinden özellikle vitamin E (alfa tokoferol)'nin üreme performansını ve döl verimini arttırıcı, steriliteyi engelleyici ve antioksidan özellikleri ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır (Gammanpila ve ark., 2007; Santiago ve Gonzal, 2000; Stéphan ve ark., 1995).

Büyüme, et kalitesi, yem değerleri üzerinde balık rasyonlarında vitamin E önemli bir etkiye

sahiptir. Ayrıca yapılan çalışmalarda vitamin E düzeyinin değişiminin parametrelerde farklı bulgulara neden olduğu belirtilmiştir (Gatta ve ark., 2000; Kocabas ve Gatlin, 1999). Vitamin E mortaliteyi azaltması ve balık immun sistemi açısından önemli bir besin kaynağıdır (Panigrahi ve ark., 2004; Shiao ve Hsu, 2002).

Balık yetiştiriciliğinde hastalıklar, bazı olumsuz çevre şartları, suda meydana gelen ani kimyasal ya da fiziksel değişimler stres oluşmasına neden olur ve hücrede serbest radikal üretimini artırır (Ashley, 2007). Böylece yağ asitlerinin oksidatif yıkımı (lipit peroksidasyon) gerçekleşir (Fang ve ark., 2002). Son yıllarda vitamin E çeşitli balık türlerinde oksidatif hasara karşı antioksidan özellik göstermesinden dolayı üretimi arttırmak amacıyla kullanılmıştır (Adham ve ark., 2000; Ispir ve ark., 2011). Malondialdehid (MDA) lipid peroksidasyonun en önemli göstergesi olup hücre membran bütünlüğünün bozulması sonucu düzeyleri artmaktadır (Winston ve Giulio, 1991).

Taze sperma kalitesi su ürünleri yetiştiriciliğinde anaç yönetimi açısından, dölleme oranı ve böylece damızlıklardan sağlanan toplam canlı yumurta üretimini etkilediğinden çok önemli bir değişkendir. Günümüzde kalitesi iyi olan Nil Tilapia balık spermleri dondurularak döl verimini arttırmaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Bozkurt ve ark., 2015). Sperma analizleri, üreticiye, suni döllemede kullanılan spermanın kullanımına, saklanabilirliğine ilişkin protokolleri geliştirmek için gerekli verileri sağlamaktadır. Sperma miktarı, sperm motilitesi ve yoğunluğu sperma kalitesini belirlemede en yaygın kullanılan özelliklerdendir. (Sönmez, 2016).

Bu çalışmada Nil Tilapia rasyonuna katılan vitamin E (Alfa-tokoferol Asetat)'nin sperm motilitesi ve yoğunluğu, sperma pH'sı ve MDA düzeylerine olan etkisi araştırıldı.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, ergin (2-3 yaş) Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıkları kullanıldı. Tilapia balıklarının beslenmesi amacıyla, kontrol rasyonu (K1) ham protein oranı % 32 olacak şekilde hazırlandı. Rasyona 80 mg/kg (D1), 160 mg/kg (D2) ve 240 mg/kg (D3) miktarlarında ilave edilen toz vitamin E (Ispir ve ark., 2011) ile rasyonların içeriği Tablo 1 de verildi. Çalışmada 4 grup için toplam 48 adet Nil Tilapia kullanıldı. Yem miktarı balıkların canlı ağırlığının % 4' ü oranında hesaplanarak günde üç kez 3 ay süreyle verildi. Ayda bir balıkların bulunduğu ortamın fiziko-kimyasal değerlerine bakıldı. Ortalama değer olarak su sıcaklığı $25 \pm 1^\circ\text{C}$, pH $7,5 \pm 0,42$, oksijen miktarı ise $7,3 \pm 0,82$ ppm olarak belirlendi.

Araştırmada kullanılan tilapia balıklarının ortalama ağırlığı ve toplam uzunluk değerleri ile testis ölçüleri Tablo 2 de verilmiştir.

Spermanın alınması: Balıklar kesildikten hemen sonra testisleri çıkarıldı. pH değeri 7.29, osmotik basıncı 0.3 osmol/Lt olan 1 mL % 0.9 NaCl (serum fizyolojik) içerisinde trimlendi.

Spermatolojik parametrelerin belirlenmesi: Nil Tilapia balığının testis sperm yoğunluğu hemasitometrik yöntemle Türk ve ark. (2008)'nin metodu modifiye edilerek belirlendi. Sonuçta sperm yoğunluğu ($\dots \times 10^9$ sperm/0,1 g testis /1 mL) olarak verildi. 4°C 'de saklanan spermaların motilite muayeneleri 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 saatlerde yapıldı. Motilite tayinleri yapılırken lam üzerine sulandırılmış spermadan 3 μL alınıp lamel kapatıldıktan sonra mikroskop altında ($\dots \times 400$ büyütmede), 10 ve 10'un katları şeklinde en az 3 veya 5 sahada belirlenip ortalamaları yüzde motilite oranı olarak verildi. Spermanın pH değeri pH metre kullanılarak ölçüldü.

Spermada MDA düzeyinin belirlenmesi: Testisten steril tüplere alınan sperma (1-1,3 mL) dakikada 3.500 devirde 7 dakika santrifüj edildi. Daha sonra 0,3 mL'lik tüplere alınarak üzerine perklorik asit ve saf sudan 300'er mL eklenerek vorteks ile karışması sağlandı. Bu karışım 5 dakika boyunca 3.500 devirde santrifüj edildi. Bu çözeltiden 20 μL alınarak, 30 mmol KH_2PO_4 ve metanol karışımı olan ve akış hızı 1,5 mL/dakikaya ayarlanan mobil faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (CECIL 1100 series Cambridge England) cihazına enjekte edildi. Sonuçlar cihaz verileri alınarak belirlendi (Atamanalp ve Bayır, 2003; Karatepe, 2004; Şahan ve ark., 2003).

İstatistiksel analiz: Çalışmadan elde edilen veriler ortalama değer ve standart hata ($\pm\text{SEM}$) olarak sunuldu. SPSS (22.0, Chicago, IL, USA) istatistik programı verilerin istatistiki karşılaştırmaları için kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiki açıdan önemli kabul edildi.

Motilitede tekrarlı ölçümler için Bonferroni düzeltmeli non-parametrik Friedman testi ve ikili karşılaştırmalar için de non-parametrik Wilcoxon testi kullanıldı. Diğer parametreler (yoğunluk, pH, MDA düzeyleri) için non-parametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve ikili karşılaştırmalar için de non-parametrik Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Bulgular

Kontrol ve farklı miktarlarda rasyonlarına vitamin E katılarak beslenen Tilapia balıklarının sulandırılmış sperma örneklerinin zamana göre ortalama motilite değerleri Tablo 3'de verilmiştir.

Vitamin E ilave edilmeyen kontrol grubu ile 160 mg/kg vitamin E ilave edilerek beslenen balıklardan

Tablo 1. Araştırmada kullanılan rasyonun içeriği.

Yem Öğeleri	Rasyonlar(%)			
	Kontrol	Deneme 1 (D1)	Deneme 2 (D2)	Deneme 3 (D3)
Balık (hamsi) unu	12	12	12	12
Soya küspesi (ekstrude) ^a	43	42,992	42,984	42,976
Buğday unu	42,7	42,7	42,7	42,7
Bitkisel yağ	1,9	1,9	1,9	1,9
Antioksidan ^b	0,1	0,1	0,1	0,1
Vitamin karması ^c	0,25	0,25	0,25	0,25
Mineral karması ^d	0,05	0,05	0,05	0,05
Vitamin E (Alfatokoferol Asetat)	0	0,008	0,016	0,024

^a Vitamin E ilavesi nedeniyle deneme rasyonundaki denkleştirme işlemi, soya küspesi miktarı düşürülerek yapıldı.

^b Antioksidan (mg/kg premiks): Butyl hydroxytoluene 12,5.

^c Vitamin karmasında (mg/kg veya IU/kg): A vitamini 4000 IU, kolin 500, D vitamini 2000 IU, K vitamini 10, niasin 30, riboflavin 15, pantothenik asit 50, pridoksin 10, tiamin 10, folasin 5, askorbik asit 200.

^d Mineral karmasında (Keleştemur, (2012)): Mangan 25, bakır 3, iyot 5, çinko 100, kobalt 0,05, demir 44, selenyum 0,3.

Tablo 2. Araştırmada kullanılan balıkların ortalama (\pm SEM) ağırlık ve uzunluk değerleri ve testis ortalama (\pm SEM) ağırlık, uzunluk ve kalınlık değerleri.

GRUP	BALIK		TESTİS		
	Ağırlık (gr)	Toplam Uzunluk (cm)	Ağırlık (gr)	Uzunluk (cm)	Kalınlık (cm)
Kontrol	28,39 \pm 3,51	12,21 \pm 0,39	0,74 \pm 0,42	7,40 \pm 1,06	0,37 \pm 0,75
D1	26,65 \pm 3,73	12,04 \pm 0,53	0,53 \pm 0,38	6,61 \pm 1,56	0,30 \pm 0,13
D2	22,86 \pm 6,15	11,37 \pm 0,88	0,62 \pm 0,48	6,05 \pm 1,92	0,34 \pm 0,13
D3	22,77 \pm 5,57	11,41 \pm 0,86	0,34 \pm 0,35	5,73 \pm 2,41	0,23 \pm 0,16

Tablo 3. Yemlerine vitamin E (D1 80 mg/kg, D2 160 mg/kg ve D3 240 mg/kg) ilave edilen ve kontrol grubu balık spermalarının zamana bağlı ortalama (\pm SEM) motilite değerleri

	Motilite (%)						
	0.saat	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat	6.saat
KNT	85,66 \pm 1,49 ^a	76,00 \pm 2,63 ^b	59,00 \pm 6,23 ^c	52,33 \pm 6,45 ^d	43,66 \pm 6,76 ^e	35,66 \pm 6,87 ^f	26,66 \pm 6,48 ^g
D1	82,66 \pm 1,02 ^a	74,00 \pm 1,47 ^b	63,00 \pm 2,67 ^c	52,16 \pm 3,03 ^d	42,00 \pm 3,40 ^e	33,16 \pm 3,49 ^f	25,33 \pm 3,73 ^g
D2	85,42 \pm 1,04 ^a	76,85 \pm 2,04 ^b	64,85 \pm 1,73 ^c	56,57 \pm 2,45 ^d	47,42 \pm 3,19 ^e	40,57 \pm 2,95 ^f	33,14 \pm 3,14 ^g
D3	82,75 \pm 0,99 ^a	75,00 \pm 1,41 ^b	63,75 \pm 2,08 ^c	51,00 \pm 2,47 ^d	42,00 \pm 3,00 ^e	31,75 \pm 2,88 ^f	22,25 \pm 2,68 ^g

a, b, c, d, e, f, g: Herbir grupta zaman dilimleri arasındaki önemli farklılığı göstermektedir.

Tablo 4. Yemlerine vitamin E (D1 80 mg/kg, D2 160 mg/kg ve D3 240 mg/kg) ilave edilen ve kontrol grubu balık spermalarının ortalama (\pm SEM) yoğunluk, pH ve MDA değerleri.

	Yoğunluk (.. x10 ⁹ /0,1 gr/1 mL)	pH	MDA (nmol/mL)
KONT	3,17 \pm 0,25	7,83 \pm 0,10	3,23 \pm 0,51
D1	2,29 \pm 0,20	7,79 \pm 0,09	3,48 \pm 0,34
D2	2,92 \pm 0,47	8,07 \pm 0,13	3,04 \pm 0,43
D3	2,24 \pm 0,27	7,68 \pm 0,18	3,62 \pm 0,45

elde edilen spermaların motiliteleri karşılaştırıldığında 160 mg/kg vitamin E ilave edilen balıkların sperm motilitesini 2. saatten itibaren sayısal olarak arttırdığı ancak bu artışın istatistiki olarak önemsiz düzeyde olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$).

Rasyonlarına vitamin E katılmayan (K1) ve farklı miktarlarda vitamin E katılan D1 (80 mg/kg vitamin E), D2 (160 mg/kg vitamin E), D3 (240 mg/kg vitamin E) grubu balıkların ortalama sperm yoğunluğu, sperma pH ve MDA düzeylerine ait değerler Tablo 4’de verilmiştir.

Deneme grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında sperm yoğunluğunun deneme gruplarında istatistiki olarak önemsiz düzeyde düştüğü saptanmıştır. Deneme grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında rasyona 160 mg/kg vitamin E katılmasının sperma pH’sını artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca 80 mg/kg Vitamin E katılması ve 240 mg/kg vitamin E katılmasının kontrol grubuna göre MDA düzeyini arttırdığı belirlenirken, sperma pH ve MDA düzeylerindeki bu sayısal artışların istatistiksel olarak önemsiz düzeyde olduğu tespit edilmiştir. ($p>0.05$).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada rasyona ilave edilen 160 mg/kg vitamin E’nin balıkların sperm motilitesini 2. saatten itibaren sayısal olarak arttırdığı ancak bu artışın istatistiki olarak önemsiz düzeyde olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$). Gammanpıla ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, bazı üreme performanslarının iyileştirilmesi için (toplam yumurtlama sayısı, toplam sperm sayısı, üretim, verimlilik, çıkım oranı, sperm hareketliliği ve sperm canlılığı) *O. niloticus* balık yemlerine farklı oranlarda kattığı C (1250 mg kg^{-1}) ve E (300 mg kg^{-1}) vitaminlerinin sperm motilitesi ve yoğunluğunu ve sperma hacmini olumlu yönde etkilediği ancak istatistiksel anlamda bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Kısa süreli saklama esnasında sperm motilitesinin kontrole göre artması veya bir başka değişle saatlere göre motilitenin daha yüksek düzeyde seyretmesi vitamin E nin etkisinden dolayı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca vitamin E’nin, lipid peroksili ve alkoksil radikalini nötralize ederek lipid peroksidasyonu engelleyerek spermatozoon motilitesinin artmasına neden olduğu belirtilmiştir (Agarwal ve ark., 2003). Vitamin E; meydana gelen oksidatif strese ve onun etkilerine karşı koruyucu özelliğe sahiptir ve hücrenin ölümünü geciktirmektedir (Akiyama, 1999).

Yapılan çalışmada 80 mg/kg ve 240 mg/kg vitamin E ilavesinin kontrol grubuna göre MDA düzeyini arttırdığı belirlenmiş, ancak bu sayısal artışların istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit

edilmiştir ($p>0.05$). Lipid peroksidasyonu, organizmadaki birçok molekül için geçerli olan ve organizmaya zarar veren bir reaksiyonlar zinciridir. Membrandaki doymamış yağ asit bağları, serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerine neden olur. Bu ürünler membran yapısına hasar verirler ve indirek olarak reaktif aldehitler üreterek hücre komponentlerine zarar verirler (Wang ve Quinn, 1999). MDA lipid peroksidasyonun en önemli göstergesidir (Winston ve Giulio, 1991). Membran bileşenlerine telafisi olmayan hasarlar (enzim aktivitesi, iyon transportu, deformasyon) verir. Balık yetiştiriciliğinde meydana gelebilecek stres faktörlerine karşı, rasyonlara bağışıklık sistemini güçlendirici ve koruyucu katkı maddelerinin ilave edildiği çalışmalar yapılmaktadır (Benzie, 2003; Kashif ve ark., 2003). Araştırmacılar, antioksidan özelliği bulunan bazı katkı maddelerinin balık rasyonlarına katılmasıyla balıkların kan ve başka birçok dokusunda MDA düzeylerini azaltarak lipid peroksidasyonun önüne geçildiğini bildirmişlerdir (Çoban ve Keleştemur, 2011; Talas ve ark., 2008). Keleştemur, (2012) yaptıkları çalışmada Tilapia balık rasyonlarına 30 mg/kg, 70 mg/kg miktarlarında antioksidan etkili beta karoten ilavesinin MDA düzeyini azalttığı ve istatistiksel olarak azalmayı önemli bulmuşlardır. Vitamin E, indirgeyici bir eleman olarak hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROS) fonksiyonlarını ortadan kaldıracı etkisi bulunmaktadır (Akiyama, 1999). Son yıllarda vitamin E çeşitli balık türlerinde oksidatif hasara karşı antioksidan özellik göstermesinden dolayı üretimi arttırmak amacıyla kullanılmıştır (Adham ve ark., 2000). Bununla birlikte, fazla miktarda veya ROS düzeyinin fazla yükselmediği hallerde gereksiz şekilde kullanılması, fertilizasyon ve kapasitasyon ile ilgili olumlu etkileri durdurarak zararlı etki edebileceği bildirilmektedir (Donnelly ve ark., 1999).

Sonuç olarak, bu çalışmayla Tilapia rasyonuna 80 mg/kg, 240 mg/kg vitamin E ilavesinin MDA düzeylerini arttırdığı, Nil Tilapia rasyonuna, 160 mg/kg vitamin E katılmasının sperm motilitesini ve sperma pH’sını sayısal olarak artırdığı, ancak bu artışların istatistiksel olarak önemsiz olduğu ($p>0,05$) belirlenmiştir. Rasyonlara katılan vitamin E’nin belirlenen dozlarda ancak daha uzun süreli olarak balıkların beslenmesinde kullanılmasının daha etkili olacağı kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

Adham KG, Hashem MB, Abu-shabana MB, Kame AH, 2000: Vitamin C deficiency in the catfish. *Aquacult Nut*, 6, 129-139.

- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA, 2003: Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*, 79, 829-843.
- Akiyama M, 1999: In vivo scavenging effect of ethylcysteine on reactive oxygen species in human semen. *Japanese J Urology*, 90, 421-428.
- Ashley PJ, 2007: Fish welfare: Current issues in aquaculture. *App Anim Behaviour Sci*, 104, 199-235.
- Atamanalp M, Bayır A, 2003: Bir dezenfektanın (malahit yeşili) subletal dozlarının gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kan parametreleri üzerine etkileri. *Gazi Üniv Eğitim Fak Derg*, 23, 177-187.
- Benzie IF, 2003: Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 136, 113-126.
- Çoban OE, Keleştemur GT, 2011: Farklı oranlardaki sentetik β -karotenin alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) filetolarında kas karotenoid stabilitesi ve lipid peroksidasyon düzeyine etkileri. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 25, 17-21.
- Donnelly ET, McClure N, Lewis SE, 1999: Antioxidant supplementation in vitro does not improve human sperm motility. *Fertil Steril*, 72, 484-495.
- Fang YZ, Yang S, Wu G, 2002: Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 18, 872-879.
- Gammanpila M, Yakupitiyage A, Bart AN, 2007: Evaluation of the effects of dietary vitamin C, E and Zinc supplementation on reproductive performance of Niletilapia (*Oreochromis niloticus*). *Sri Lanka J Aquat Sci*, 12, 39-60.
- Gatta PP, Pirini M, Testi S, Vignola G, Monetti PG, 2000: The influence of different levels of dietary vitamin E on sea bass *Dicentrarchus labrax* flesh quality. *Aquacult Nutr*, 6, 47-52.
- İspir U, Yonar ME, Oz OB, 2011: Effect of dietary vitamin E supplementation on the blood parameters of Nile tilapia. *J Anim Plant Sci*, 21, 566-569.
- Karatepe M, 2004: Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC/UV. *LC-GC North America*, 22, 362-365.
- Kashif SM, Zaidi R, Banu N, 2003: Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta*, 340, 229-233.
- Keleştemur GT, 2012: Gökkuşluğu alabalığı yavrularının (*Oncorhynchus mykiss*, W.1792) diyetlerine katılan β -karotenin doku mda düzeyine etkisi. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 26, 61-64.
- Kocabas AM, Gatlin DM, 1999: Dietary vitamin E requirement of hybrid striped bass (*Morone chrysops* female x *M. saxatilis* male). *Aquacult Nutr*, 5, 3-7.
- Lovell T, 1989: Nutrition and Feeding of Fish. An. AVI Book, Published by Van Nostrand Reinhold, NewYork.
- Panigrahi A, Kiron V, Kobayashi T, Puangkaew J, Satoh S, Sugita H, 2004: Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Vet Immun Immunopathol*, 102, 379-388.
- Roderick E, 2001: International file. Fish Farmer International, 15: 24.
- Santiago CB, Gonzal AC, 2000: Effect of prepared diet and vitamins A, E and C supplementation on the reproductive performance of cage-reared bighead carp *Aristichthys nobilis* (Richardson). *J App Ichthyology*, 16, 8-13.
- Shiau SY, Hsu CY, 2002: Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* O. aureus. *Aquaculture*, 210, 335-342.
- Sönmez M, 2016: Reprodüksiyon, Suni Tohumlama ve Androloji Ders Kitabı. 3. Baskı, Elazığ.
- Stéphan G, Guillaume J, Lamour F, 1995: Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 130, 251-268.
- Şahan A, Kurutaş E, Dikel S, 2003: Liver antioxidant systems and lipid peroxidation in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) adopted to fresh water. *Türk J Vet Animal Sci*, 27, 1261-1267.
- Talas ZS, Orun İ, Ozdemir I, Erdogan K, Alkan A, Yılmaz I, 2008: Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd+2, Cr+3) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). *Fish Physiol and Biochem*, 34, 217-222.
- Türk G, Sönmez M, Aydın M, Yüce A, Gür S, Yüksel M, Aksu EH, Aksoy H, 2008: Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin Nutr*, 27, 289-296.
- Wang X, Quinn PJ, 1999: Vitamin E and its function in membranes. *Prog Lipid Res*, 38, 309-336.
- Winston GW, Giulio RT, 1991: Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicol*, 19, 137-161.

*Sorumlu Yazar: Şeyma ÖZER KAYA

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama AD, Elazığ, Türkiye.

e-mail: sozer@firat.edu.tr

Three-Dimensional Modelling and Morphometric Analysis of the Vertebral Column in Gazelles (*Gazella subgutturosa*) by using Computer Tomographic Images*

Bestami YILMAZ^{1,a,**}, Ismail DEMIRCIOGLU^{1,b}

¹Harran University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Anatomy, Sanliurfa, Turkey

^a0000-0002-0901-3129, ^b0000-0002-0724-3019

Geliş Tarihi: 17.09.2019

Kabul Tarihi: 12.11.2019

Abstract: This study was performed to create three-dimensional (3D) images of gazelles' vertebral column bones using two-dimensional multi-detector computed tomography (MDCT) outputs and to evaluate detailed anatomical structure of the region. In the study, 10 adult (5 males and 5 females) gazelle cadavers were used. Materials were scanned under 80 kv, 200 MA, 639 mGY and 0.625 mm section thickness using a 64-detector MDCT (General Electric Revolution). The MDCT outputs were converted into 3D formats with MIMICS 20.1 (The Materialise Group, Leuven, Belgium) software. Numbers of the cervical, thoracic, lumbar, sacral and caudal vertebra were detected as 7, 13, 6, 5 and 12-16, respectively. The surface area of thoracic vertebrae was found to be 38096.52±1415.85 mm² in females and 51927.02±4185.70 mm² in males. The difference between the genders in terms of surface area of thoracic vertebrae was found to be statistically significant (P<0.05). It is considered that the findings obtained will provide reference data for further studies in anatomy, surgery and zooarchaeology in addition to determining differences or similarities of gazelle vertebral column with other species.

Keywords: Gazelle, Vertebral column, MDCT, Three-dimensional reconstruction, Osteometry.

Ceylanlarda (*Gazella subgutturosa*) Bilgisayarlı Tomografi Görüntülerini Kullanarak Columna Vertebralis'in Üç Boyutlu Modellemesi ve Morfometrik Analizi

Özet: Bu çalışma, ceylanlarda multidedektör bilgisayarlı tomografi (MDCT) tarayıcı verilerini kullanarak columna vertebralis'in üç boyutlu (3B) görüntülerini oluşturmak ve bölgenin ayrıntılı anatomik yapısını değerlendirmek için yapıldı. Çalışmada 10 yetişkin (5 erkek ve 5 dişi) ceylan kadavrası kullanıldı. Ceylanlar, 64-dedektörlü MDCT (General Electric Revolution) cihazı ile 80 kv, 200 MA, 639 mGY ve 0.625 mm kesit kalınlığında tarandı. MDCT'den elde edilen kaynak görüntüler, MIMICS 20.1 (The Materialize Group, Leuven, Belçika) yazılımı ile 3B modellere dönüştürüldü. Üç boyutlu modeller üzerinde yapılan incelemede; boyun, sırt, bel, sağrı ve kuyruk omurları sayısı sırasıyla 7, 13, 6, 5 ve 12-16 olarak tespit edildi. Sırt omurlarının yüzey alanı dişilerde ortalama 38096.52±1415.85 mm², erkeklerde ise 51927.02±4185.70 mm² olarak tespit edildi. Sırt omurlarının yüzey alanı açısından cinsiyetler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (P<0.05). Elde edilen bulguların ceylan omurgasının diğer türlerle olan farklılıkları veya benzerliklerinin tespitine ek olarak anatomi, cerrahi ve zooarkeoloji alanında yapılacak daha ileri çalışmalarda referans veriler sağlayacağı değerlendirilmektedir.

Anahtar kelimeler: Ceylan, Columna vertebralis, MDCT, Üç boyutlu rekonstrüksiyon, Osteometri

Introduction

Gazelle is one of the most important and crowded exotic species around the horned ruminants (Bovidae) (Bärmann et al., 2013). *Gazella subgutturosa* is a member of the species and their roots come from Asian antelopes. Their habitat is quite wide ranging from China to North Africa. Despite of the fact that their population was highly crowded till middle of twentieth century, it has been decreasing because of harmful human based activities such as; habitat destruction, increasing farming area and

overhunting (Mallon and Kingswood, 2001; Mallon, 2008).

There has been a revolution on medical diagnosis and management of treatment procedure thanks to state art of the technologies at imaging and scanning techniques. X-ray, ultrasonography (USG), positron emission tomography (PET), magnetic resonance (MR) and computed tomography (CT) are the most used technologies on the field. Two-dimensional (2D) outputs taken from MR and CT can be easily converted to three-dimensional (3D) pictures or

models with 3D reconstruction programmes. Hence, 3D and limitless data can be extracted from the limited 2D images collected from the imaging analyses. Thus, pathological lesions located on deep anatomical regions can be easily detected thanks to these techniques (Özkurt, 2002). Moreover, 3D modelling techniques has a wide using area including plastic and orthopaedic surgery, traumatology, criminal sciences, neurosurgery and medical education (Krupa et al., 2004).

There are some anatomical differential features between the closest species on body skeletons. These differences have a vital importance in respect of classification of species and evaluation of archaeological and criminal findings (Tecirlioğlu, 1983). The parts of vertebral column show some morphological and functional differences (Jones and German, 2014). Moreover, one of the used methods for gender analyses is biometric measurements taken from vertebral column (Chen et al., 2013; Özkadif et al., 2017; Sevinç et al., 2008).

In the present study, it was aimed to determine the sexual dimorphism of vertebral column and to comparatively investigate differences or similarities of vertebral column between other species with 3D models of gazelles' body skeleton through detailed macro-anatomical and osteo-metrical measurements. Moreover, it was also thought that the study can be used as a basic information source for both further scientific studies at the field and further treatment protocols. Additionally, the study might be helpful for taxonomical classifications, archaeological and criminal sciences.

Materials and Methods

Ten cadavers of adult (5 males and 5 females) gazelles were used as the study material. The cadavers of the gazelles were chosen among animals which were submitted to Harran University Veterinary Faculty Animal Hospital Clinics for treatment purpose and they were free of any contagious diseases. Gazelles were scanned under 80 kv, 200 MA, 639 mGY and 0.625 mm section thickness with 64-detector MDCT (General Electric Revolution). Prokop (2003) was taken as references to adjust scanning dose and following the scan protocol. Gazelles' CT images were taken, and the images were saved in Digital Imaging and Communications in Medicine (DICOM) format. These 3D images were reconstructed with 3D modelling software MIMICS 20.1 (The Materialise Group, Leuven, Belgium).

The statistical importance of morphometric measurements between genders were analysed with Mann Whitney- U test and the relationship between the data were analysed with Spearman Correlation test. SPSS 17.0 (SPSS Inc. Released 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc) software was used for all statistical analyses. The use of the cadavers was approved by the General Directorate of Nature Conservation and National Parks-Turkey (Approval no: 2017/209842) and Harran University Animal Experimentations Local Ethics Committee (Approval no: 2018/006-9 11).

Results

CT images taken from gazelle body skeleton were modelled with MIMICS 20.1 (The Materialise Group, Leuven, Belgium) 3D modelling software. It was detected that the vertebral column was constructed of five different parts as cervical, thoracic, lumbar, sacral and caudal (Figure 1). Vertebral column's length, surface and volume are illustrated at Table 1. According to whole vertebral column analysis, there was no difference between the genders in terms of vertebral column except for thoracic spine surfaces. The correlation analysis of the vertebral column measurements is shown in Table 2.

It was detected that cervical part was constructed with 7 vertebrae (Figure 2/A). The length, surface and volume of cervical part were measured as 212.89 ± 5.16 mm, 36554.5 ± 1483.89 mm², 62732.7 ± 5726.01 mm³ for females; and, 210.05 ± 10.27 mm, 42092.55 ± 4254.95 mm², 79243.55 ± 16239.13 mm³ for males, respectively.

Thoracic part of vertebral column had 13 vertebrae and their spinous processes continued through caudal region with a curve. The steepest processus spinosus to the body -anticlinal vertebra- was detected at 13th vertebral bone (Figure 2/B). It was detected that the height of spinous processes showed a gradual increase to 5th thoracic vertebra but then it gradually decreased. The length, surface and volume of thoracic part's vertebrae were measured as 240.43 ± 2.75 mm, 38096.52 ± 1415.85 mm², 56034.44 ± 2861.31 mm³ for females; and, 240.02 ± 8.78 mm, 51927.02 ± 4185.70 mm², 67421.73 ± 6097.62 mm³ for males, respectively. A statistically significant difference was observed between males and females in respect of surface area of thoracic vertebrae ($P < 0.05$).

Lumbar part of vertebral column was constructed with 6 vertebrae (Figure 2/C). The lengths of the lumbar vertebrae increased till 4th

but then the lengths get shorter. Their transverse processes were highly developed and continued

towards cranioventral. However, spinous processes of lumbar vertebrae were quite shorter

Table 1. Morphometric parameters of vertebral column.

Segment	Parameter	Female		Male		P
		Mean	S.E.	Mean	S.E.	
Cervical	CL (mm)	212.89	5.16	210.05	10.27	n.s.
	CV (mm ³)	62732.70	5726.01	79243.55	16239.13	n.s.
	CSA (mm ²)	36554.5	1483.89	42092.55	4254.95	n.s.
Thoracic	ThL (mm)	240.43	2.75	240.02	8.78	n.s.
	ThV (mm ³)	56034.44	2861.31	67421.73	6097.62	n.s.
	ThSA (mm ²)	38096.52	1415.85	51927.02	4185.70	*
Lumbar	LL (mm)	141.78	7.95	147.41	6.55	n.s.
	LV (mm ³)	43296.77	5157.65	45761.88	6032.47	n.s.
	LSA (mm ²)	25102.95	2188.08	30806.68	1009.8	n.s.
Sacral	SacL (mm)	66.89	1.38	65.73	3.16	n.s.
	SacV (mm ³)	14390.77	1388.60	14103.88	3238.13	n.s.
	SacrSA (mm ²)	10350.64	490.62	12034.03	1429.94	n.s.
Caudal	CaudL (mm)	183.29	5.94	177.54	10.70	n.s.
	CaudV (mm ³)	3591.06	447.28	3742.09	454.64	n.s.
	CaudSA (mm ²)	3971.4	382.55	4447.73	364.32	n.s.

CL: Cervical vertebrae length, ThL: Thoracic vertebrae length, LL: Lumbar vertebrae length, SacL: Sacral vertebrae length, CaudL: Caudal vertebrae length, CV: Cervical vertebrae volume, ThV: Thoracic vertebrae volume, LV: Lumbar vertebrae volume, SacV: Sacral vertebrae volume, CaudV: Caudal vertebrae volume, CSA: Cervical vertebrae surface area, ThSA: Thoracic vertebrae surface area, LSA: Lumbar vertebrae surface area, SacrSA: Sacral vertebrae surface area, CaudSA: Caudal vertebrae surface area. n.s.: no significant

Table 2. Correlation analyses of vertebral column measurements (*P<0.05, **P<0.01).

	CL	ThL	LL	SacL	CaudL	CV	ThV	LV	SacV	CaudV	CSA	ThSA	LSA	SacrSA	CaudSA
CL															
ThL	,879**														
LL	,867**	,709*													
SacL	,794**	,879**	,636*												
CaudL	,567	,283	,817**	,383											
CV	,721*	,624	,842**	,648*	,850**										
ThV	,515	,394	,503	,358	,400	,745*									
LV	,867**	,721*	,891**	,770**	,817**	,952**	,697*								
SacV	,806**	,673*	,855**	,758*	,833**	,770**	,515	,842**							
CaudV	,588	,515	,648*	,552	,733*	,915**	,636*	,842**	,552						
CSA	,661*	,467	,770**	,503	,867**	,939**	,855**	,891**	,782**	,830**					
ThSA	,491	,345	,515	,273	,417	,758*	,976**	,685*	,442	,673*	,855**				
LSA	,442	,333	,479	,200	,083	,564	,733*	,539	,212	,430	,564	,818**			
SacrSA	,600	,479	,515	,612	,500	,661*	,818**	,709*	,782**	,479	,794**	,709*	,382		
CaudSA	,430	,345	,491	,394	,600	,842**	,745*	,721*	,442	,915**	,842**	,806**	,564	,539	

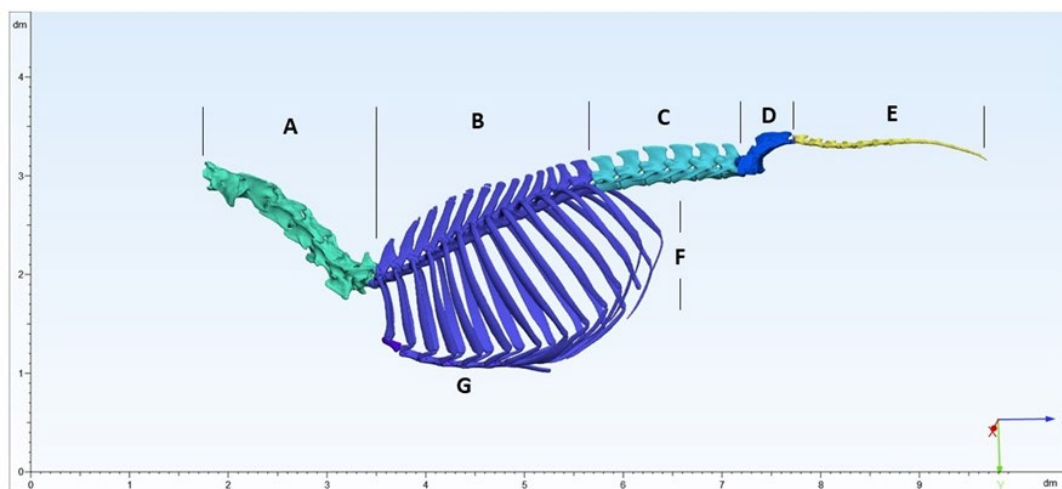


Figure 1. Three-dimensional model of vertebral column and thoracic skeleton (lateral view). A: Cervical region, B: Thoracic region, C: Lumbar region, D: Sacral region, E: Caudal region, F: Costae, G: Sternum.

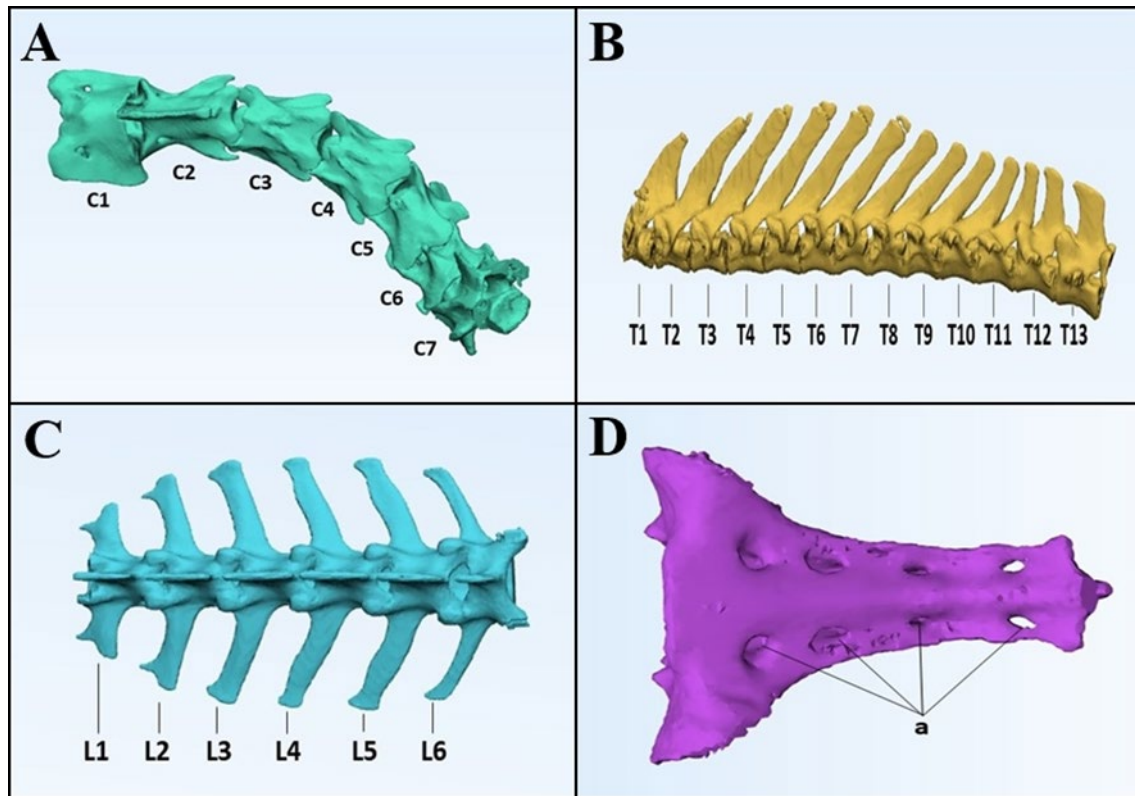


Figure 2. A: Cervical region. C1-7: cervical vertebrae. B: Thoracic region. T1-T13: thoracic vertebrae (lateral view). C: Lumbar region. L1-L6: lumbar vertebrae (dorsal view). D: three-dimensional model of sacrum. a: Foramina sacralia ventralia (ventral view).

compared with thoracic vertebrae and its aspect ratio was calculated as 1:1. The length, surface and volume of lumbar part of vertebrae were measured as 141.78 ± 7.95 mm, 25102.95 ± 2188.08 mm², 43296.77 ± 5157.65 mm³ for females; and, 147.41 ± 6.55 mm, 30806.68 ± 1009.80 mm², 45761.88 ± 6032.47 mm³ for males, respectively.

It was detected that sacral part of backbone was formed by 5 integrated sacral vertebrae (Figure 2/D). There were four ventral sacral foramina on convex pelvic surface (Figure 2/D). It was also detected that median sacral crest was formed by integrated spinous processes of sacral vertebrae. However, the last sacral vertebra was integrated with only corpus region and spinous processes were separated in two animals. The length, surface and volume of sacral part of vertebrae were measured as 66.89 ± 1.38 mm, 10350.6 ± 490.62 mm², 14390.77 ± 1388.60 mm³ for females; and, 65.73 ± 3.16 mm, 12034.03 ± 1429.94 mm², 14103.88 ± 3238.13 mm³ for males, respectively.

The caudal part of spine was composed of 12-16 interlocked vertebrae. The first two caudal vertebrae showed typical characteristic of vertebrae but, the rest of them lost their features and were shaped cylindrical toward back. The length, surface and volume of caudal part of

vertebrae were measured as 183.29 ± 5.94 mm, 3971.4 ± 382.55 mm², 3591.06 ± 447.28 mm³ for females; and, 177.54 ± 10.70 mm, 4447.73 ± 364.32 mm², 3742.09 ± 454.64 mm³ for males, respectively.

Discussion and Conclusions

The CT and 3D modelling technologies are used to detect anatomical and pathological deformations at curved body part like vertebral column, because; traditional methods does not supply enough detail for diagnosis (Athertya and Poonguzhali, 2012).

Vertebral morphometry has a vital importance in respect of spinal analyses, diagnosis and advanced implant designment. The new technologies provide an opportunity to develop an easy and productive period to get a wide and extensive data for creating 3D model of vertebral geometry (Teo et al., 2017). According to Kim et al. (2012), the 3D modelling technology is a quite reliable technique for osteometric measurements on the skull and it reflects same results with real samples. In this regard, measurements and investigations based on 3D models are highly important due to their quick and non-invasive characteristics.

In the present study, numbers of cervical, thoracic, lumbar, sacral and caudal vertebrae in *Gazella subgutturosa* were detected as 7, 13, 6, 5 and 12-16, respectively. The numbers of thoracic vertebrae in *Gazella subgutturosa* were found as 13 like wild and Karaman sheep (Taşbaş, 1983), Spotted deer (Iniyah et al., 2015; Meena, 2012) and barking deer (Suri et al., 2012). The lengths of thoracic vertebrae increased from first to fifth thoracic vertebrae but then gradually decreased. It was also detected that spinous processes of thoracic vertebrae had an obliquity toward caudal side. The steepest spinous processes were found at 4th and 5th vertebrae on Barking deer (Suri et al., 2012), 6th and 7th vertebrae on White spotted deer (*Axis axis*) (Iniyah et al., 2015), 4th vertebrae on Spotted deer (Meena, 2012) and 11th vertebrae on Feral pigs (İlgün et al., 2013). However, the highest spinous process was marked at 5th thoracic vertebrae and the steepest spinous processes was measured at 13th thoracic vertebrae in the present study.

The number of lumbar vertebrae was detected as six which was also reported for wild sheep (*Mufлон-Ovis Orientalis Anatolica*) and Karaman sheep (Taşbaş, 1983), capra hircus and ovis aries species (Bahadır and Yıldız, 2008), Spotted deer (Meena, 2012), Blackbuck (Choudhary et al., 2015), Barking deer (Suri et al., 2012), and White spotted deer (Iniyah et al., 2015). It was also detected that the directions of transverse processes were cranioventral and their lengths increased from first to fourth vertebrae then decreased. This finding was the same as in Spotted deer (Meena, 2012), Blackbuck (Choudhary et al., 2015), otter (Yılmaz et al., 2000), Barking deer (Suri et al., 2012), and White spotted deer (Iniyah et al., 2015); however, it was different from Feral pigs whose lumbar vertebrae direction was caudoventral (İlgün et al., 2013).

It was detected that sacrum was constructed with five interlocked sacral vertebrae. According to similar studies, this part of vertebral column is formed 4 sacral vertebrae at mountain and Karaman sheep (Taşbaş, 1983), 3 or 4 sacral vertebrae at Feral pigs (İlgün et al., 2013), 5 sacral vertebrae at Barking deer (Suri et al., 2012), Blackbuck (Choudhary et al., 2015), White spotted deer (Iniyah et al., 2015), Spotted deer (Meena, 2012) and Roe deer (Gültekin, 1965). The median sacral crest (crista sacralis mediana) was formed by the knitted free end of sacral vertebrae's spinous processes. This finding was in accordance with mountain sheep (Taşbaş, 1983); however, the first sacral vertebrae's spinous process does not take part for constructing of the median sacral

crest at Karaman sheep (Taşbaş, 1983) and Blackbuck (Choudhary et al., 2015).

Özkadif et al. (2017) indicated that there are statistically important differences in respect of sexual dimorphism at chinchilla's all vertebral column part volume and surface measurements. According to Bergmann et al. (2006), the highest sexual dimorphism is observed at caudal region of vertebral column, then at thoracic part but the lowest dimorphism is observed at lumbar and sacral region of spine at rats. In the present study, the only statistically differences was observed at thoracic part, but result on other parts of the vertebral column did not show any significant difference between genders.

There are no findings in the literature in respect of CT technique using for morphometric and morphological analyses of body skeleton at gazelles (*Gazella subgutturosa*). In the present study, measurements on vertebral column of gazelles was assessed for the first time. We suggest that that the findings might be useful as a basic guide data for classification of the population, diagnosing of vertebral or spinal disorders using CT images. Moreover, the results might be helpful for not only typological and taxonomical classification of gazelles but also for sex determination and expanding basic anatomical knowledge about gazelles.

References

- Allouch MG, Alsobayil AF, 2017: Applied anatomy of the sternum bone in dromedary camels (*Camelus dromedaries*) with a special reference to the aspiration of sternal bone. *Res Opin Anim Vet Sci*, 7, 14-19.
- Athertya JS, Poonguzhali S, 2012: 3D CT image reconstruction of the vertebral column. In: International Conference on Recent Trends in Information Technology, 81-84.
- Bahadır A, Yıldız H, 2008: Veteriner Anatomi Hareket Sistemi ve İç Organlar. 7. baskı, Ezgi Kitabevi, Bursa.
- Bärmann EV, Wronski T, Lerp H, Azanza B, Borner S, Erpenbeck D, Rossner GE, Worheide G, 2013: A morphometric and genetic framework for the genus *Gazella* de Blainville, 1816 (Ruminantia: Bovidae) with special focus on Arabian and Levantine mountain gazelles. *Zool J Linnean Soc*, 169, 673-696.
- Bergmann PJ, Melin AD, Russell AP, 2006: Differential segmental growth of the vertebral column of the rat (*Rattus norvegicus*). *Zoology*, 109, 54-65.
- Chen C, Ruan D, Wu C, Wu W, Sun P, Zhang Y, Wu J, Lu S, Ouyang J, 2013: CT morphometric analysis to determine the anatomical basis for the use of transpedicular screws during reconstruction and fixations of anterior cervical vertebrae. *PloS One*, 8(12), e81159. Doi: 10.1371/journal.pone.0081159.

- Choudhary OP, Singh I, Bharti SK, Mohd KI, Dhote BS, Mrigesh M, 2015: Gross studies on lumbar, sacrum and coccygeal vertebrae of Blackbuck (*Antelope cervicapra*). *Indian Vet J*, 92, 75-78.
- Gültekin M, 1965: A comprative osteological study on the bones of the trunk between roe (*Capreolus capreolus* L.) and native small ruminants (*Ovis aries*, *Capra hircus*, L. and *Angora goat*). *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 12, 6-19.
- İlgün R, Aydın A, Yoldaş A, 2013: Macro-anatomical study of columna vertebralis in the feral pigs (*Sus Scrofa*). *Atatürk Üniv Vet Bil Derg*, 8, 122-128.
- Niyah K, Jayachitra S, Balasundaram K, Sivagnanam S, 2015: Gross anatomical studies on vertebral column in White Spotted Deer (*Axis axis*). *Asian J Sci Tech*, 6, 1083-1085.
- Jones KE, German RZ, 2014: Ontogenetic allometry in the thoracolumbar spine of mammal species with differing gait use. *Evol Dev*, 16, 110-120.
- Kim M, Huh KH, Yi WJ, Heo MS, Lee SS, Choi SC, 2012: Evaluation of accuracy of 3D reconstruction images using multi-detector CT and cone-beam CT. *Imaging Sci Dent*, 42, 25-33.
- Krupa P, Krsek P, Cernochova P, Molitor M, 2004: 3D real modelling and CT biomodels application in facial surgery. In: Congress of the European Society of Neuroradiology, Berlin, pp. 141.
- Mallon D, Kingswood SC, 2001: Antelope. Part 4: North Africa, the Middle East, and Asia. Global Survey and Regional Action Plans. SSC Antelope Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- Mallon D, 2008: *Gazella subgutturosa*. In: IUCN 2006. 2006 IUCN Red List of Threneted Species "www.iucnredlist.org". Downloaded on; 17 September 2008.
- Meena VK, 2012: Gross studies on the bones of vertebral column in chital (*Axis axis*), Thesis Master of Veterinary Science, Bikaner.
- Özkadif S, Eken E, Dayan MO, Beşoluk K, 2017: Determination of sex-related differences based on 3D reconstruction of the chinchilla (*Chinchilla lanigera*) vertebral column from MDCT scans. *Vet Med Czech*, 62, 204-210.
- Özkurt A, 2002: Surface model extraction from three dimensional sampled data, *DEÜ Mühendislik Fak Fen ve Mühendislik Derg*, 4, 27-36.
- Prokop M, 2003: General principles of MDCT. *Eur J Radiol*, 45, 4-10.
- Sathapathy S, Dhote BS, Mrigesh M, Mahanta D, Selvan ST, 2018: Gross and morphometrical studies on the sternum of Blue Bull (*Boselaphus tragocamelus*). *Int J Curr Microbiol App Sci*, 7, 136-145.
- Sevinc O, Barut C, Is M., Eryoruk N., Safak AA, 2008.: Influence of age and sex on lumbar vertebral morphometry determined using sagittal magnetic resonance imaging. *Ann Anat*, 190, 277-283.
- Suri S, Sarma K, Doley PJ, Dangi A, 2012: Anatomical studies on the vertebral column of Barking Deer (*Muntiacus muntjak*). *Indian J Vet Anat*, 24, 71-73.
- Taşbaş M, 1983: Comparative macro-anatomical investigations on the skeletons of wild sheep (*Muflon-Ovis Orientalis Anatolica*) with Karaman sheep. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 30, 368-388.
- Tecirlioğlu S, 1983: Makro-anatomische untersuchungen über die Skelettkonchen von Hunden und der Hyane. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 30, 149-166.
- Teo EC, Holsgrove T, Haiblikova S, 2017: 3D morphometric analysis of human vertebrae C3-T3 Using CT images reconstruction. *J Spine*, 6, 391. doi:10.4172/2165- 7939.1000391.
- Yılmaz S, Dinç G, Toprak B, 2000: Macro-anatomical investigations on skeletons of otter (*Lutra lutra*). III. Skeleton axiale, *Vet Arhiv*, 70, 191-198.

*This study was supported by Harran University BAP Office (Coordinating Office of Scientific Research Projects-HÜBAK, Project No: 18004).

****Corresponding author:** Bestami YILMAZ
Harran University, Faculty of Veterinary Medicine,
Department of Anatomy, Sanliurfa, Turkey
e-mail: byilmaz@harran.edu.tr

Yeşilbaş Ördeklerde (*Anas platyrhynchos*) Glandula Uropygialis'in Makroanatomik ve Histolojik Özellikleri

Bestami YILMAZ^{1,a,*}, Rahşan YILMAZ^{2,b}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

^aORCID: 0000-0002-0901-3129, ^bORCID: 0000-0002-0944-2230

Geliş Tarihi: 07.10.2019

Kabul Tarihi: 04.12.2019

Özet: Bu çalışma, erişkin erkek ve dişi yeşilbaş ördeklerde (*Anas platyrhynchos*) glandula uropygialis'in anatomik, topografik ve histolojik özelliklerini araştırmak amacıyla yapıldı. Çalışmada on yetişkin yeşilbaş ördek (5 erkek, 5 dişi) materyali kullanıldı. Kuyruk bölgesinde yerleşen glandula uropygialis'ler önce topografik olarak incelendi. Ardından diseksiyonları yapılarak morfolojik ve histolojik yapıları belirlendi. Bezin histolojik yapısını belirlemek için alınan doku örnekleri Hematoksilen & Eozin (H&E) ve Masson Trichrome ile boyandı. Yapılan incelemelerde glandula uropygialis'in son kuyruk omurları düzeyinde yerleşen "V" şeklinde bir yapı olduğu belirlendi. Morfometrik incelemelerde bezin ağırlığı erkeklerde ortalama 5.10±0.22 g, dişilerde ise 4.02±0.26 g bulundu. Relatif bez ağırlığı erkek bireylerde ortalama 0.31±0.01, dişilerde ise 0.28±0.01 olarak tespit edildi. Erkek ve dişiler arasında glandula uropygialis genişliği, glandula uropygialis yüksekliği, papilla uropygialis uzunluğu, papilla uropygialis yüksekliği ve tüy uzunluğu parametrelerinde fark olmadığı (P<0.05), glandula uropygialis ağırlığı ve uzunluğu parametrelerinde ise istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunduğu tespit edildi (P>0.05). Histolojik incelemede bezin kapsülle çevrili iki lobdan oluştuğu gözlemlendi. Her bir lob merkezde boşaltıcı bir kanal etrafında çevrelenmiş tubuler yapıda bezler içeriyordu. Bezler şekil ve hücre yapısı bakımından üç farklı bölgeden oluşmaktaydı. Bezi oluşturan hücreler de şekil ve kalınlık bakımından bazal, intermediyer, sekretorik ve dejeneratif hücre tiplerine ayrılmıştı. Glandula uropygialis'in genel histolojik yapısı diğer kuşların anatomik ve histolojik özelliklerine benzerdi. Çalışmanın sonuçları, yeşilbaş ördeklerde glandula uropygialis'in genel yapısında bazı türlere özgü farklılıklar gözlemlense de diğer kuş türlerine benzer olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Glandula uropygialis, Yeşilbaş ördek, Anatomi, Histoloji.

Macroanatomical and Histological Features of Uropygial Gland in Mallard Ducks (*Anas platyrhynchos*)

Abstract: This study was carried out in order to examine the anatomical, topographical and histological features of glandula uropygialis in male and female mallards (*Anas platyrhynchos*). In the study ten adult mallards (five males and five females) were used. The topographical localisation of the glandula uropygialis was examined. Afterwards morphological and histological structure of the dissected gland was assessed. Histological structure of the gland was examined using tissue samples stained with Hematoxyline & Eosin (H&E) and Masson Trichrome. The gland was detected to localize at the level of the last caudal vertebrae and have a "V" shape. Morphometric examination revealed that the mean weight of the gland was 5.10±0.22 g and 4.02±0.26 in males and females respectively. The relative gland weight (gland weight/body weight) was found 0.31±0.01 and 0.28±0.01 in males and females respectively. There was no significant differences with respect to width and height of the glandula uropygialis, papilla length and height and feather length (P<0.05) parameters, while statistically significant differences were found with respect to gland weight and gland length parameters between males and females (P>0.05). In the histological examination the gland was observed consisted of two lobes surrounded within a capsule. Each lobe contained tubular glands localized around a central excretion duct. The glands were composed of three distinct region with respect to form and cellular structure. Three distinct types of cells constructiong the gland were observed which were classified as intermediary, secretoric and degenerative. The results of the study indicated that the general structure of the glandula uropygialis in the mallard was similar to those in other bird species although certain species specific differences were observed.

Keywords: Uropygial gland, Mallard duck, Anatomy, Histology.

Giriş

Kanatlı hayvanlarda derinin bir takım spesifik özellikleri vardır (Rajchard, 2010). Kuşlar, diğer omurgalı hayvanların aksine bir holokrin yağ bezine (glandula uropygialis) sahiptir (Jacob ve ark., 1997). Yeryüzünde on binden fazla kanatlı hayvan türü bulunur ve glandula uropygialis bu vertebrata grubundaki en belirgin deri bezi olarak bilinir

(Reynolds, 2013). Glandula uropygialis, synsacrocaudal bölgede (Jacob ve Ziswiler, 1982), dorso-medial olarak uzanan (Stevens, 1996) ve yoğun bir yağ dokusu ile kaplanmış iki lobtan oluşur (Elder, 1954; Harem ve ark., 2005). Kan dolaşımı arteria caudalis ve vena caudalis tarafından sağlanır. İlk kaudal spinal sinir çifti ve sempatik lifler bezi

innerve eder (Kolattukudy, 1981). Her kuşta sadece bir tane bulunur ve kuyruk bölgesindeki tüylerle örtülmüştür. Şekli türler arasında büyük farklılıklar gösterir. Aynı zamanda taksonomik önemi olan bir bezdir (Quay, 1986). Ördekler dahil suda yaşayan kuşlarda daha gelişmiş olduğu bildirilmiştir (Gezici, 2002). Bununla birlikte, bezin fizyolojik rolü kütlesine bağlı değildir; salgılanma oranı küçük bir bezde de yüksek olabilir (Montalti ve ark., 2005). Glandula uropygialis, kuşun tüylerine sürdüğü yağlı salgıyı salgılar ve tüy bakımını arttırır. Beze ait salgılar, tüy dökücü mikroorganizmaların büyümesini engelleyerek tüylerin yapısal hasarını önlemektedir (Reneerkens ve ark., 2008). Uropigial yağdan yoksun su kuşlarının tüyleri kırılğan hale gelir (Moyer ve ark., 2003). Beze ait sekresyonun ana bileşenleri balmumlarıdır ve kompozisyonu yıl boyunca sıklıkla değişir (Fischer ve ark., 2017). Salgı kompozisyonu belirli türler için karakteristiktir, ancak mevsime bağlı olarak kuşlar arasında bazı spesifik değişiklikler görülebilir. Glandula uropygialis'in salgısı, hücrelerin yenilenmesi, hücrelerin gelişimi ve farklılaşmasını da sağlar (Kolattukudy, 1981). Geçmişte, bunun ana ya da özel amacının kuş tüylerini su geçirmez hale getirmek ve yüzme kabiliyetini arttırmak olduğu varsayılmıştır (Jacob, 1976). Yine bazı çalışmalarda, glandula uropygialis'in eş seçimini dikte eden sosyal koku işaretlerinin kaynağı olarak hareket etme potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir (Hirao, 2011). Bezin fonksiyonu için güncel hipotezler dört gruba yerleştirilebilir: Bunlar; tüy bakımı, su geçirmezlik, özel iletişim/sağlık ve avcılara ve/veya parazitlere karşı savunma fonksiyonlarıdır. Bu bez için genel bir fonksiyon belirlenmemiş olmasına rağmen, birçok çalışma bu hipotezleri incelemiştir (Czirják ve ark., 2013; Reynolds, 2013).

Yeşilbaş ördekler sayıları bakımından kümes hayvanlarının küçük türleridir. Türkiye'nin birçok bölgesinde (özellikle kuzeydoğu bölgelerde) küçük çiftliklerde yetiştirilen ve temel olarak hayvansal proteine katkıda buldukları bilinen bir kanatlı türüdür. Bu hayvanın morfolojik ve histolojik özellikleri hakkında birtakım çalışmalar bulunmaktadır (Alida ve ark., 2017; Yılmaz ve ark., 2012). Fakat erkek ve dişi yeşilbaş ördeklerde glandula uropygialis'in topografik, morfometrik ve histolojik yapısı üzerine yapılmış detaylı bir rapora rastlanılmamıştır. Bu çalışma, erkek ve dişi yeşilbaş ördeklerde glandula uropygialis'in makro anatomik ve hüresel yapısını belirlemek ve kaydedilen sonuçların aves sınıfına ait diğer popülasyonlardan elde edilen bilgilerle karşılaştırmasını yaparak, bezin işlevsel yönlerini çözmeye yönelik çalışmalarda kullanılacak temel bir veri kaynağı oluşturmak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma için Harran Üniversitesi Yerel Etik Kurulundan gerekli izinler alındı (Karar no: 21847). Çalışmada glandula uropygialis'in anatomik ve histolojik yapısını incelemek için toplam 10 (5 erkek, 5 dişi) sağlıklı yeşilbaş ördek kullanıldı. Kuşlar ortalama bir yaşında ve 1513±180 g canlı ağırlığa sahipti. İlk olarak glandula uropygialis'in topografik özellikleri in situ olarak incelendi. Daha sonra kuyruk bölgesi tüyleri elle çıkarıldı. Bezler diseke edilerek gövdeden ayrıldı. Diseke edilen bezlerin fotoğrafları (Canon EOS-700D) alındı. Bezler cam kaba yerleştirilerek 0.01 g hassasiyetli terazide tartıldı. Bezlerin uzunluk, genişlik ve kalınlık ölçümleri dijital kumpas (0-150 mm) kullanılarak kaydedildi. Beze ait uzunluk indeksleri Jacob ve Ziswiler (1982)'e göre yapıldı. Ek olarak birer örnekte, iç kanalın yapısını tanımlamak için bez uzunlamasına kesildi. Cinsiyetler arasındaki farkın derecesi Mann-Withney U testiyle, bezin sağ ve sol lobları arasındaki farkların derecesi ise Wilcoxon testi yapılarak analiz edildi. İstatistik analizler için IBM SPSS 22 paket programı kullanıldı. Çalışmada kullanılan terimlerin isimlendirmesinde Baumel (1993) referans alındı.

Histolojik incelemeler için alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra bazı bezler longitudinal, bazıları transversal olarak trimlenerek rutin doku takibi işleminden (Leica TP 1020) geçirildi. Daha sonra dokulardan parafin bloklar (Leica LG 1150 H) oluşturularak, mikrotomda (Leica RM 2125 RTS) 4µ kalınlığında kesilerek, kesitler lysinli lama alındı. Kesitlere bezin histolojik yapısını ortaya koyabilmek için Hematoksilen & Eozin (H&E) ve Masson Trichrome boyamaları yapıldı.

Bulgular

Yapılan incelemede glandula uropygialis'in tüm yeşilbaş ördeklerde bulunduğu ve iyi geliştiği belirlendi. Topografik incelemede, bezin kuyruk ucuna yakın omurlar üzerinde dorso-median olarak yerleştiği tespit edildi. Bez bu bölgede sadece deri ile sarılı olarak gözlendi (Şekil 1/A). Bezi saran dış deri tabakası uzaklaştırıldığında, bezin sarımsı-kremsi renkte sağ ve sol iki lobtan (lobus glandulae uropygialis) oluştuğu belirlendi (Şekil 1/B). Sağ ve sol lobus glandulae uropygialis şekilleri simetriğe yakın görünmekteydi. Lobların kuyruk omurlarına dönük ventral yüzleri düz, dorsal bölümleri ise bir miktar konveksite gösteriyordu. Bezin kuyruk kasları ile bir bağlantısı tespit edilmedi. Bu iki yapı arasında yoğun bir yağ ve bağ doku tabakası gözlendi. Dorsal bakıda, bezin sağ ve sol loblarının arka uçlarının

caudalde birleştiği ve “V” harfine benzer bir şekil aldığı belirlendi. Bezin caudal bölümünde ise, postero-dorsal yönlü uzayan, dorso-ventral basık bir papilla (papilla uropygialis) yapısı gözlemlendi. Papilla uropygialis içerisinde sağ ve sol loblarla bağlantılı iki adet kanal (ductus glandulae uropygialis) bulunduğu belirlendi. Papilla uropygialis’in caudal ucu üzerinde bezde üretilen salgının dışarıya boşaltılmasında görev alan delikler (porus glandulae uropygialis) ve bu bölgeden köken

alan oldukça çok sayıda tüy tespit edildi. Makroskopik incelemelerde, sağ ve sol lobların caudal bölümlerini birbirinden ayıran bir septum interlobare yapısı belirlendi. Her bir lobun içerisinde ise turuncu renkte görünen, yoğun kıvamlı bir içerik tespit edildi.

Glandula uropygialis üzerindeki morfometrik ölçüm noktaları Şekil 2’de, elde edilen morfometrik değerler ise Tablo 1’de sunulmuştur.

Tablo 1. Glandula uropygialis’e ait morfometrik ölçüm değerleri.

Parametreler	Genel Ortalama			Erkek		Dişi	P
	Ort±S.H.	Min.	Max.	Ort±S.H.	Ort±S.H.		
RLGA (g)	2.24±0.40	1.55	2.82	2.54±0.13	1.99±0.12	*	
LLGA (g)	2.26±0.39	1.54	2.74	2.56±0.78	2.01±0.14	*	
RLGU (mm)	28.56±2.64	25.11	33.74	30.49±1.24	26.94±0.41	*	
LLGU (mm)	28.52±2.47	24.88	34.32	30.19±1.18	27.14±0.51	*	
RLGG (mm)	11.64±0.66	10.79	12.87	11.29±0.18	11.94±0.29	Ö.d.	
LLGG (mm)	11.93±0.62	10.97	13.08	11.71±0.22	12.11±0.28	Ö.d.	
RLGY (mm)	11.78±0.75	10.75	12.92	11.75±0.32	11.81±0.34	Ö.d.	
LLGY (mm)	11.88±1.03	10.31	13.63	11.74±0.53	11.99±0.41	Ö.d.	
PUU (mm)	10.33±3.12	7.71	18.61	9.49±0,84	11.04±1,59	Ö.d.	
PUY (mm)	6.84±1.10	5.58	9.57	6.42±0.19	7.19±0.56	Ö.d.	
TU (mm)	19.09±0.49	18.21	19.91	18.96±0.22	19.19±0.21	Ö.d.	
CA (g)	1513.91±180.57	1161	1824	1630.60±69.33	1416.66± 59.18	*	
TBA (g)	4.51±0.79	3.12	5.529	5.10±0.22	4.02± 0.26	*	

S.H.: Standard hata, Ö.d.= Önemli değil, *: P<0.05, Sağ lobus glandulae uropygialis ağırlığı (RLGA), sol lobus glandulae uropygialis ağırlığı (LLGA), sağ lobus glandulae uropygialis uzunluğu (RLGU), sol lobus glandulae uropygialis uzunluğu (LLGU), sağ lobus glandulae uropygialis genişliği (RLGG), sol lobus glandulae uropygialis genişliği (LLGG), sağ lobus glandulae uropygialis yüksekliği (RLGY), sol lobus glandulae uropygialis yüksekliği (LLGY), papilla uropygialis uzunluğu (PU), papilla uropygialis yüksekliği (PY), tüy uzunluğu (TU), canlı ağırlık (CA), toplam bez ağırlığı (TBA).

İncelemelerde, erkek ve dişiler arasında glandula uropgialis genişliği (LGG), glandula uropgialis yüksekliği (LGY), papilla uropygialis uzunluğu (PU), papilla uropygialis yüksekliği (PY) ve tüy uzunluğu (TU) parametrelerinde fark olmadığı (P<0.05), fakat glandula uropgialis ağırlığı (GUA) ve uzunluğu (LGU) parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunduğu tespit edildi. (P<0.05). Relatif bez ağırlığı indeksi (RBAI), papilla uzunluğu indeksi (PU) ve glandula uropygialis’in uzunluk indeksleri (GUUI) açısından cinsiyetler arasında fark bulunmazken, erkeklerde lobus glandula uropygialis indeks değerinin (LGUI) dişilerden daha fazla olduğu ve aradaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlendi (P>0.05) (Tablo 2).

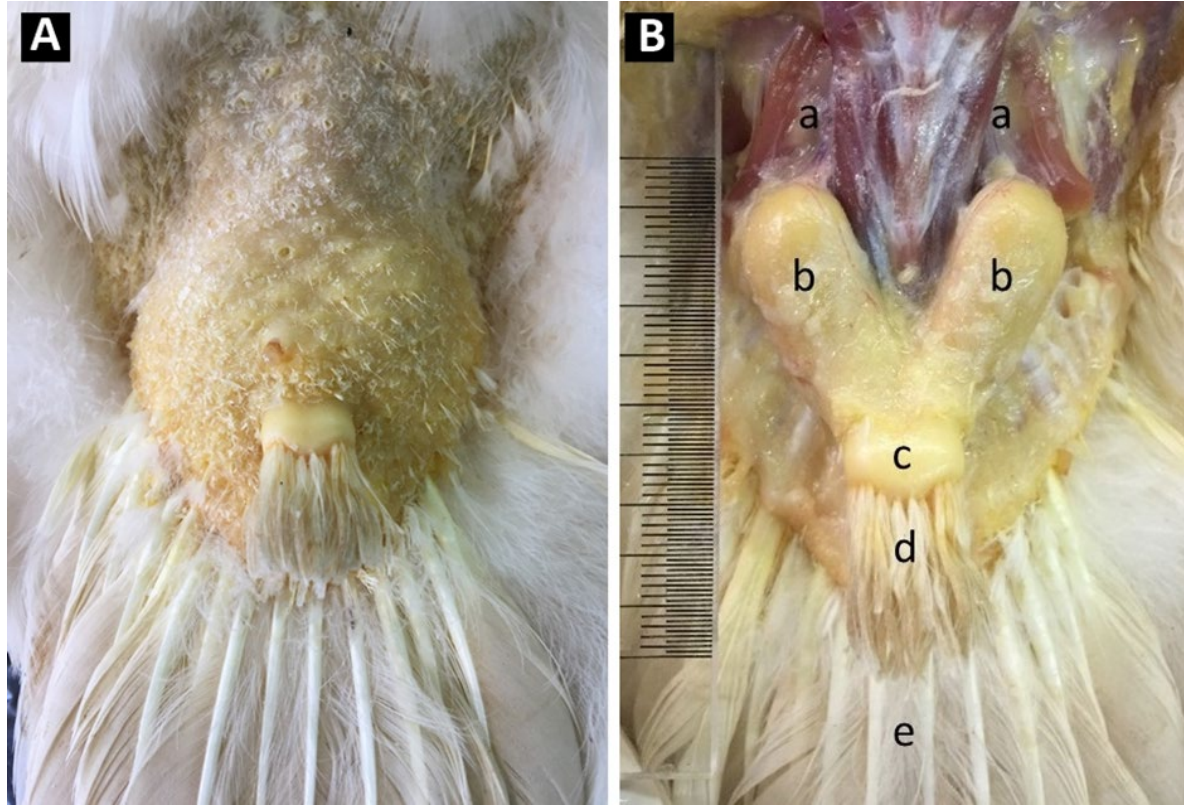
Histomorfolojik incelemede Masson Trichrome boyamalarında bezin sağ ve sol olmak üzere iki lobdan oluştuğu, her bir lobun da dışarıdan bağ doku ile çevrili olduğu görüldü (Şekil 3/A). Her lob merkezde bir kanal çevresinde sıralı olarak dizilmiş tubuler bezlerden oluşmaktaydı. Tubuler bezler daha ince bağ doku ile sınırlandırılarak birbirinden

ayrılmışlardı (Şekil 3/A). Bezler arasındaki bağ doku içerisinde kan damarları yer almaktaydı. Bezler periferden merkeze doğru gidildikçe şekil ve hücre dizilişi bakımından farklılık gösteren 3 farklı bölgeden oluşmaktaydı (Şekil 3/B).

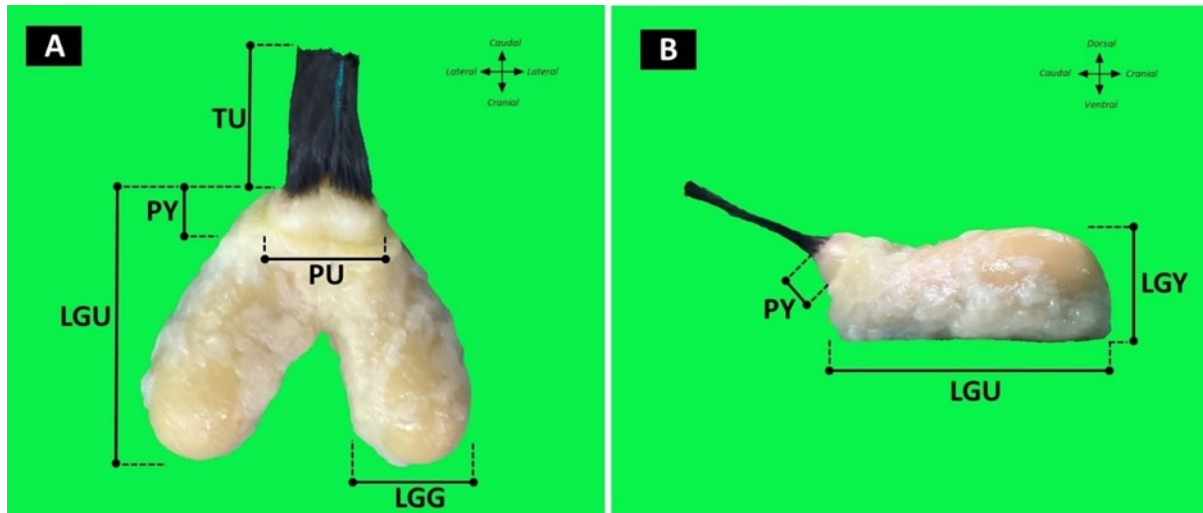
Tablo 2. Glandula uropygialis’e ait indeks değerleri.

İndeks parametreleri	Genel Ortalama			Erkek	Dişi	P
	Ort±S.H.	Min.	Max.	Ort±S.H.	Ort±S.H.	
RBAI	0.30±0.03	0.26	0.34	0.31±0.01	0.28±0.01	Ö.d.
LGUI	2.42±0.24	2.07	2.91	2.63±0.60	2.25±0.29	*
PUI	1.49±0.22	1.27	1.94	1.47±0.08	1.51±0.10	Ö.d.
GUUI	2.92±0.62	1.49	3.67	3.25±0.18	2.64±0.27	Ö.d.

S.H.: Standard hata, Ö.d.= Önemli değil, *: P<0.05, Relatif bez ağırlık indeksi (RBAI) = Toplam bez ağırlığı (TBA) x 100 / Canlı ağırlık (CA), Lobus glandula uropygialis indeksi (LGUI) = Lobus glandula uropygialis uzunluğu (LGU) / lobus glandula uropygialis genişliği (LGG), Papilla uropygialis indeksi (PUI) = Papilla uropygialis yüksekliği (PY) / Papilla uropygialis uzunluğu (PU), Glandula uropygialis uzunluk indeksi (GUUI) = Lobus glandula uropygialis uzunluğu (LGU) / Papilla uropygialis uzunluğu (PU).



Şekil 1. Dişi yeşilbaş ördekte glandula uropygialis'in diseksiyon öncesi (A) ve sonrası (B) *in situ* görüntüsü (dorsal görünüm). a: kuyruk kasları, b: lobus glandulae uropygialis, c: papilla uropygialis, d: papilla tüyleri (pluma), e: kuyruk tüyleri (rectrix)



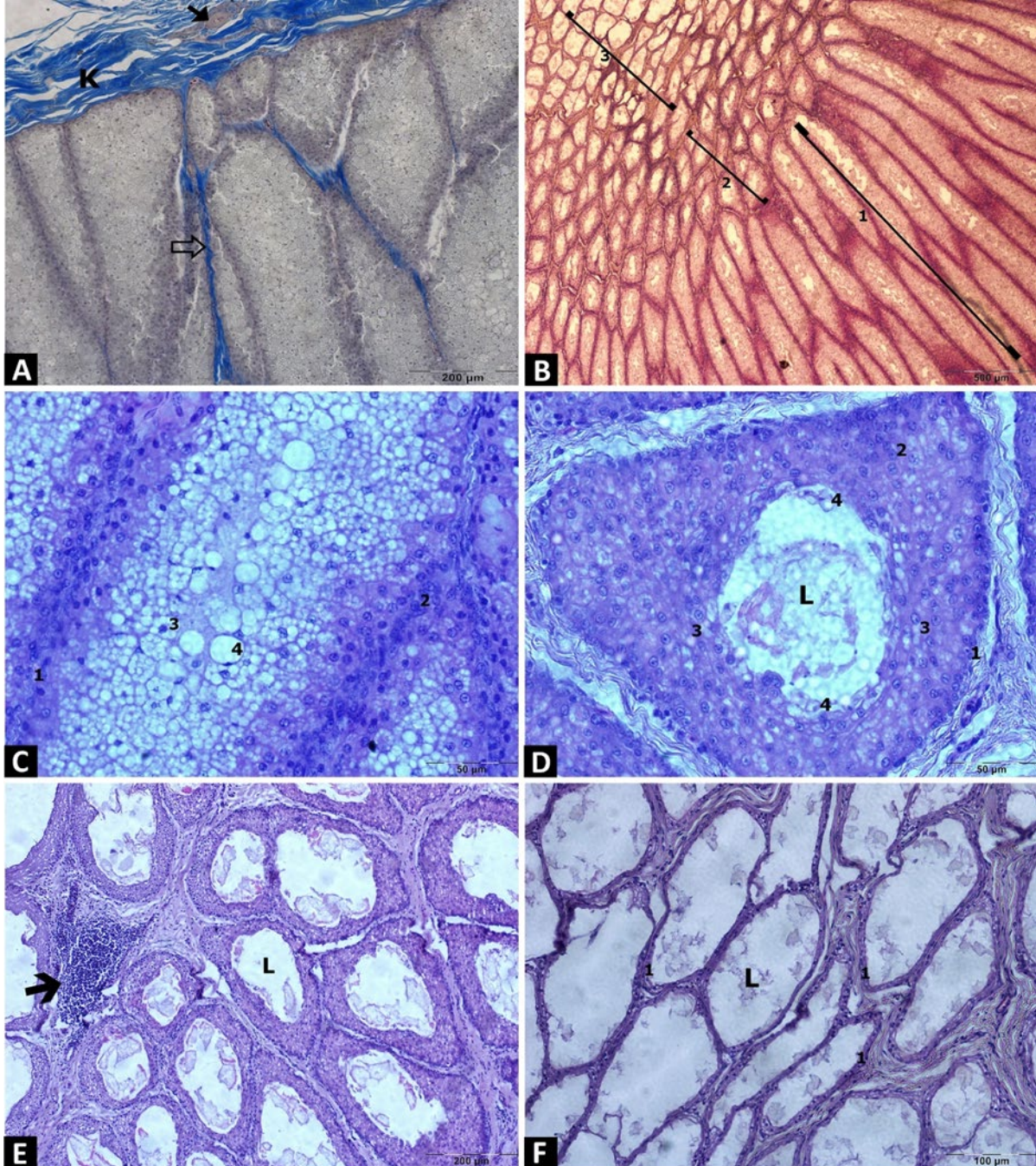
Şekil 2. Erkek yeşilbaş ördekte glandula uropygialis'in dorsal (A) ve lateral (B) görüntüsü. LGU: Lobus glandula uropygialis uzunluğu, LGG: Lobus glandula uropygialis genişliği, LGY: Lobus glandula uropygialis yüksekliği, PU: Papilla uropygialis uzunluğu, PY: Papilla uropygialis yüksekliği, TU: Tüy (pluma) uzunluğu.

Hemen kapsula altındaki birinci bölge bezleri daha uzun tubuler yapıdaydı. Bu tubuller de periferden merkeze doğru 4 farklı hücreden oluşmaktaydı. Bunlar sırasıyla periferde tek katlı bir bazal hücre katmanı, dağınık düzende sıralanmış birkaç katlı intermediyer hücre katmanı ve yine dağınık ve birkaç katlı olan sekretorik hücre ile en içte lümenin çevresinde çok az sayıda gelişmiş güzel yerleşmiş dejeneratif hücre katmanından oluşmaktaydı.

İntermediyer hücreler asidofilik stoplazma ve bazofilik çekirdeğe sahiplerdi. Sekretorik hücrelerin lümeninde çoklu sayıda küçük beyaz renkli yağ vakuelleri bulunmaktaydı. Dejeneratif hücrelerin stoplazmasında ise lümen çevresindekilerde daha büyük olan yağ vakuelleri yer alıyordu (Şekil 3/C). İkinci bölge bezleri ise oval ya da köşeli yapıda olup daha geniş bir lümeneye sahipti. Bu bezlerdeki hücre yapısı periferde yine tek katlı bazal hücre katmanı,

düzensiz yapıda sıralanmış birkaç katlı intermediyer hücre katmanı ve geniş lümen çevresinde az sayıda ve dağınık yerleşimli sekretorik hücrelerle lümen sınır ya da lümen içinde çok az sayıda dejeneratif hücre bulunmaktaydı. Sekretorik hücreler birinci bölgedekilerden farklı olarak daha az sayıda beyaz renkli yağ vakuolleri içeriyordu (Şekil 3/D). Ayrıca bezler arasında yer yer lenfoid hücre toplulukları yer

alıyordu (Şekil 3/E). Üçüncü bölge bezleri diğer iki bölgeye göre daha geniş bir lümenle sahipti ve bu lümen etrafında tek sıra halinde dizilmiş bazal hücre katmanından oluşmaktaydı (Şekil 3/F). İkinci ve üçüncü bölge bezleri çevresindeki bağ doku birinci bölgeye göre daha kalındı ve lümenlerinde daha çok salgı bulunmaktaydı.



Şekil 3. Glandula uropygialis'in histolojik yapısı. **A.** K: Kapsül, siyah ok: kapsüldeki kan damarı, beyaz ok: tubuler bezler arasındaki bağdoku; Masson Trichrome boyama, x10. **B.** 1: birinci bölge, 2: ikinci bölge, 3: üçüncü bölge; H&E boyama, x4. **C.** 1. bölge bezi, 1: bazal hücre, 2: intermediyer hücre, 3: sekretorik hücre, 4: dejeneratif hücre; H&E boyama, x40. **D.** İkinci bölge bezi, 1: bazal hücre, 2: intermediyer hücre, 3: sekretorik hücre, 4: dejeneratif hücre, L: lümen; H&E boyama, x40. **E.** İkinci bölge bezi, siyah ok: lenfoid hücre topluluğu, L: lümen; H&E boyama, x10. **F.** Üçüncü bölge bezi, 1: bazal hücre, L: lümen; H&E boyama, x20.

Tartışma ve Sonuç

Birkaç istisna dışında, bütün kuşların glandula uropygialis'e sahip olduğu bildirilmiştir (Jacob, 1976). Bezin embriyonik dönemde tüm kanatlı türlerinde bulunduğu fakat bazı kanatlı türlerinin yetişkinlerinde ise köreldiği yönünde bilgiler de mevcuttur (Johnston, 1988). Yetişkin erkek ve dişi yeşilbaş ördeklerde yapılan bu çalışmada bezin varlığı tüm ördeklerde gözlenmiştir. Glandula uropygialis'in dördüncü kuyruk omuru ile pygostil arasında bir bağ dokusu kapsülü ile kuşatılmış olarak bulunduğu (Yılmaz ve ark., 2018) ve sebeseöz karakterde bir deri bezi olduğu rapor edilmiştir (Czirják ve ark., 2013). Yeşilbaş ördeklerde bezin konumu literatürde (Balkaya ve ark., 2016; Yılmaz ve ark., 2018) belirtilen sınırlar içerisinde tespit edildi. Bezin şeklinin tavuklarda kalp şeklinde (Yılmaz ve ark., 2018) olduğu bildirilirken, yüzücü kuşlarda ise çalışmamızla uyumlu olarak "V" harfine benzer olduğu belirtilmiştir (Gezici, 2002). Glandula uropygialis'in, kümes hayvanlarında fasulye (Jawad ve ark., 2015), beyaz leylekte (Kozlu ve ark., 2011) oval fasulye, ördek ve kazlarda (Gezici, 2002) ise fındık büyüklüğünde olduğu bildirilmiştir. Chen ve ark. (2015) dişi ve erkek katır ördeklerinde glandula uropygialis ağırlığının yaşla birlikte arttığını ve 49 günlük yaşta bez ağırlığının sırasıyla 4.76 ve 6.23 g olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda incelediğimiz erişkin yaşta dişi ve erkek yeşilbaş ördeklerde bu değerler sırasıyla ortalama 4.02 ± 0.26 ve 5.10 ± 0.22 g olarak ölçülmüştür. Chen ve ark. (2015), ördeklerde relatif bez ağırlığını 0.29-0.34 g/100 g, Montalti ve Salibián (2010) aynı parametreyi *Sterna trudeaui*'de ortalama 0.522, *Podilymbus podiceps*'de 0.418-0.556 ve *Daption capense*'de ise ortalama 0.426 olarak bildirmiştir. Biz ise yaptığımız çalışmada bu değerleri erkek ve dişi yeşilbaş ördeklerde sırasıyla 0.31 ve 0.28 olarak tespit ettik.

Reynolds (2013), Yeni Zelanda'nın dört endemik kuş türünde yaptığı çalışmada, glandula uropygialis'in uzunluk/genişlik indeks değerlerini (LGUI) sırasıyla 1.8, 1.7, 1.7 ve 1.6 olarak tespit etmiştir. Aynı çalışmada lob uzunluğu/papilla uzunluğu indeksi (GUUI) ise yine sırasıyla 4.1, 4.6, 4.5 ve 6.6 olarak bildirilmektedir. Yılmaz ve ark. (2018) aseel ırkı horoz ve tavuklarda LGUI değerinin sırasıyla 1.64 ve 1.87 olduğunu, GUUI değerini ise yine sırasıyla 3.35 ve 5.4 olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, erkek ve dişi yeşilbaş ördeklerde glandula uropygialis'in LGUI değeri literatürde (Reynolds, 2013; Yılmaz ve ark., 2018) belirtilen değerlerden daha yüksek (ort. 2.42 ± 0.24), GUUI değeri ise daha düşük (ort. 2.92 ± 0.62) tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, glandula uropygialis piliç ve yerli tavuklarda (Mobini ve Ziaii, 2011), orman

tavuğunda (Sawad, 2006), yabani ve yerli ördeklerde (Harem ve ark., 2005), yerli kazlarda (Haydar, 2005) ve beyaz leyleklerde (Kozlu ve ark., 2011) olduğu gibi kapsülle çevrili iki lobdan oluşmuştu. Bu loblar radial yerleşimli tubuler yapıda bezler içermekteydi (Chiale ve ark., 2016; Kozlu ve ark., 2011). Histolojik inceleme sonuçlarına bakıldığında ördeklerde diğer su kuşlarındaki glandula uropygialis yapısına göre çeşitli farklılıklar bulunduğu gözlemlendi. Başlangıç olarak bezi dışarıdan saran bir kas dokusunun olmaması ile kazlardan (Shafii ve Mobini, 2014) farklılık göstermektedir. Bu çalışmada da daha önceki pek çok çalışmada belirtildiği gibi tubullerin bazal, intermediyer, sekretorik ve dejeneratif hücre katmanlarında olduğu görüldü (Kozlu ve ark., 2011; Mobini ve Ziaii, 2011; Montalti ve ark., 2001; Sadoon, 2011; Sawad, 2006; Shafii ve Montalti, 2014). Yine bu çalışmada ikinci bölgede bulunan tubuler bezler arasında lenfoid hücre topluluklarının varlığı daha önceki bazı çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir (Harem ve ark., 2005; Sawad, 2006; Shafii ve Mobini, 2014). Çalışmada kullanılan dişi ve erkek ördeklerde glandula uropygialis'in histolojik yapı bakımından herhangi bir farklılığa sahip olmadığı görüldü. Harem ve ark. (2005)'nin yaban ördeklerinde yaptığı çalışmada histolojik olarak varlığı ortaya konulan Herbst cisimciğine bu çalışmada rastlanılmamıştır.

Sonuç olarak, yeşilbaş ördeklerde glandula uropygialis'in anatomik ve histolojik yapısında türe özgü bazı farklılıklar gözlemlense de genel olarak diğer kuş türlerine benzer olduğu sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Alida MB, Witmer LM, Holliday CM, 2017: Cranial joint histology in the mallard duck (*Anas platyrhynchos*): new insights on avian cranial kinesis. *J Anat*, 230, 444-460.
- Balkaya H, Özdemir D, Özüdoğru Z, Kara H, Erbaş E, 2016: Saksaganda (*Pica pica*) Glandula Uropygialis'in Anatomik ve Histolojik Yapıları Üzerine Bir Çalışma. *Van Vet J*, 27, 21-24.
- Baumel JJ, King SA, Breazile JE, Evans HE, Vanden Berge JC, 1993: Handbook of avian anatomy. Nomina Anatomica Avium, 2nd ed, Cambridge, Massachusetts.
- Chen YH, Peh HC, Roan SW, 2015: Establishment of Uropygial Gland Growth Curves for White, Three-Way Crossed Mule Ducklings. *Braz J Poultry Sci*, 17, 209-218.
- Chiale MC, Montalti D, Flamini MA, Fernández P, Gimeno E, Barbeito CG, 2016: Histological and histochemical study of the uropygial gland of chimango caracara (*Milvago chimango* vieillot, 1816). *Biotech Histochem*, 91, 30-37.
- Czirják GA, Pap PL, Vágási CI, Giraudeau M, Mureşan C, Mirleau P, Heeb P, 2013: Preen gland removal

- increases plumage bacterial load but not that of feather-degrading bacteria. *Naturwissenschaften*, 100, 145-151.
- Elder WH, 1954: The oil gland of birds. *Wilson Bull*, 66, 6-31.
- Fischer I, Haliński Ł, Meissner W, Stepnowski P, Knitter M, 2017: Seasonal changes in the preen wax composition of the Herring gull *Larus argentatus*. *Chemoecology*, 27, 127-139.
- Gezici M, 2002: Deri ve Epidermoidal Oluşumlar. In "Evcil Kuşların Anatomisi", Ed; Dursun N, Medisan Yayınevi, Ankara.
- Harem MK, Altunay H, Harem İS, Beyaz F, 2005: Yaban ve evcil ördeklere preen bezi üzerinde histomorfolojik ve histokimyasal çalışmalar. *J Health Sci*, 14, 20-30.
- Haydar NA, 2005: Anatomical and histological study of uropygial gland in the indigenous geese. MSc. Thesis, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, Iraq.
- Hirao A, 2011: The possible role of the uropygial gland on mate choice in domestic chicken. *Int J Zoology*, vol. 2011, Article ID 860801. Doi:10.1155/2011/860801.
- Jacob J, 1976: Bird Waxes. In "Chemistry and Biochemistry of Natural Waxes", Ed; Kolattukudy PE. Elsevier, Amsterdam.
- Jacob J, Ziswiler V, 1982: The uropygial gland, In "Avian Biology", Ed; Farner DS, King JR, Parkes KC, vol 6, Academic Press, New York.
- Jacob J, Eigener U, Hoppe U, 1997: The structure of preen gland waxes from Pelecaniform birds containing 3,7-Dimethyloctan-1-ol - an active ingredient against dermatophytes. *Z Naturforsch*, 52c, 114-123.
- Jawad HS, Idris LH, Bakar MZ, Kassim A, 2015: Anatomical changes of akar putra chicken digestive system after partial ablation of uropygial gland. *Am J Anim Vet Sci*, 10, 217-229.
- Johnston DW, 1988: A morphological atlas of the avian uropygial gland. *Bull Br Mus Nat Hist*, 54, 199-259.
- Kolattukudy PE, 1981: Avian uropygial (preen) gland. *Method Enzymol*, 72, 714-720.
- Kozlu T, Bozkurt YA, Ateş S, 2011: A macroanatomical and histological study of the uropygial gland in the white stork (*Ciconia ciconia*). *Int J Morphol*, 29, 723-726.
- Mobini B, Ziaii A, 2011: Comparative histological study of the preen of broiler and native chicken. *Vet Res Bull*, 6, 121-128.
- Montalti D, Salibián A, 2000: Uropygial gland size and avian habitat. *Ornitol Neotrop*, 11, 297-306.
- Montalti D, Quiroga A, Massone A, Idiart JR, Salibián A, 2001: Histochemical and lectin histochemical studies on the uropygial gland of rock dove *Columba livia*. *Braz J Morphol Sci*, 18, 33-39.
- Montalti D, Gutiérrez AM, Reboredo G, Salibián A, 2005: The chemical composition of the uropygial gland secretion of rock dove *Columba livia*. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 140, 275-279.
- Moyer BR, Rock AN, Clayton D, 2003: Experimental test of the importance of preen oil in Rock doves (*Columba livia*). *The Auk*, 120, 490-496.
- Quay WB, 1986: Uropygial gland. In "Biology of the Integument", Ed; Bereiter-Hahn, J, Matoltsy AG, Richards KS, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Rajchard J, 2010: Biologically active substances of bird skin: a review. *Vet Med-Czech*, 55, 413-421.
- Reneerkens J, Versteegh MA, Schneider AM, Piersma T, Burt EH, 2008: Seasonally changing preen-wax composition: red knots' (*Calidris canutus*) flexible defense against feather-degrading bacteria. *The Auk*, 125, 285-290.
- Reynolds S, 2013: The anatomy and histomorphology of the uropygial gland in New Zealand endemic species. Master of Zoology, Massey University, New Zealand.
- Sadoon AH, 2011: Histological study of european starling uropygial gland (*Sturnus vulgaris*). *Int J Poult Sci*, 10, 662-664.
- Sawad AA, 2006: Morphological and histological study of uropygial gland in moorhen (*G. gallinula C. choropus*). *Int J Poult Sci*, 5, 938-941.
- Shafii A, Mobini HB, 2014: Histological and histochemical study on the uropygial gland of the goose (*Anser anser*). *Bulg J Vet Med*, 17, 1-8.
- Stevens L, 1996: Avian Biochemistry and Molecular Biology. Cambridge University Press, United Kingdom.
- Yılmaz B, Yılmaz R, Arıcan İ, Yıldız H, 2012: Anatomical structure of the syrinx in the Mallard (*Anas platyrhynchos*). *Harran Univ Vet Fak Derg*, 1, 111-116.
- Yılmaz B, Harem İŞ, Demircioğlu İ, Özyiğit G, Bozkaya F, 2018: Aseel ırkı horoz ve tavuklarda glandula uropygialis'in anatomik, morfolometrik ve histolojik özellikleri. *Eurasian J Vet Sci*, 34, 65-70.

*Yazışma adresi: Bestami YILMAZ

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi

Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

e-mail: byilmaz@harran.edu.tr

Şanlıurfa'da Safkan Arap Atlarında *Borrelia burgdorferi* Seropozitifliğinin Belirlenmesi*

Ömer DEMİR^{1,a,**}, Oktay KESKİN^{2,b}

¹Tarım ve Orman Bakanlığı Şehitkamil İlçe Müdürlüğü, Gaziantep, Türkiye
²Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Şanlıurfa, Türkiye
^aORCID:0000-0003-2702-2595, ^bORCID: 0000-0002-5977-7872

Geliş Tarihi: 17. 09.2019

Kabul Tarihi: 16.12.2019

Özet: Lyme Borreliozis veya Lyme hastalığı, *Borrelia burgdorferi*'nin neden olduğu kenelerle nakladilen zoonotik bir enfeksiyondur. Hastalığın taşınması, *Ixodes* cinsi kenelerle olmaktadır. Lyme Borreliozis evcil hayvanların (at, sığır, köpek, kedi, koyun vb.) ve insanların çeşitli organ ve sistemlerini etkilemektedir. Hastalık, klinik olarak pek çok hastalığı taklit ettiğinden veteriner hekimler tarafından genellikle gözden kaçırılmaktadır. Etkenin kültüre edilmesi zor olduğundan teşhiste genellikle ELISA ve IFAT gibi serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, Lyme Borreliozis'in Şanlıurfa'daki sağlıklı Safkan Arap atlarında seropozitiflik durumunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak Eylül 2016- Temmuz 2017 tarihleri arasında halk elinde yetiştiriciliği yapılan pedigri damızlık Safkan Arap atlarından tesadüfi örnekleme ile 186 kan serum örneği alındı. Serum örneklerinde anti-*B. burgdorferi* IgG antikorları ticari bir ELISA kiti ile araştırıldı. İncelenen 186 serum örneğinin 11'i (%5.9) pozitif, 3'ü (%1.6) şüpheli ve 172'si de (%92.5) negatif bulundu. Bu çalışma ile ilk kez Şanlıurfa ili'nde Safkan Arap atlarında anti-*B. burgdorferi* antikorlarının varlığı gösterilmiştir. Hem etkenin neden olduğu ekonomik kayıplar hem de enfeksiyonun zoonoz karakteri nedeniyle, veteriner hekimler klinik çalışmalarında Lyme Borreliozis'i de dikkate almalıdırlar. Ayrıca, hastalığa karşı gerekli önleyici tedbirler alınmalı ve bölgedeki farklı hayvan türlerinde hastalığın mevcut durumunu araştırmak için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Lyme, At, ELISA, Seroprevalans.

Determination of *Borrelia burgdorferi* Seropositivity in Arabian Thoroughbred Horses in Sanliurfa

Abstract: Lyme Borreliosis or Lyme disease is a zoonotic disease caused by *Borrelia burgdorferi*. The transport of the disease is by the Ixodesticks. The disease affects various organs and systems of humans and domesticated animals (horses, cattle, dogs, cats, sheep, etc.). Veterinarians generally misdiagnose the disease because Lymeborreliosis imitates many diseases clinically. Due to difficulties in culturing of the agent, serological methods such as ELISA and IFAT are widely used for diagnosis of the disease. In this study, it was aimed to determine the seropositivity of Lyme Borreliosis in healthy thoroughbred Arabian horses in Sanliurfa. For this aim, between Autumn 2016 and Spring 2017, 186 serum samples were taken from randomly chosen pedigree purebred Arabian horses owned by the local people. Anti-*Borrelia burgdorferi* IgG antibodies were investigated by a commercial ELISA kit. Of 186 serum samples examined, 11 (5.9%) were found as positive, and three (1.6%) serum samples were found as doubtful. The rest of the serum samples (172, 92.5%) were found to be negative. This study is the first reporting the presence of anti-*B. burgdorferi* antibodies in Sanliurfa province. Due to both economic losses caused by the agent and zoonosis character of the disease, veterinarians should not ignore Lyme Borreliosis in their clinical studies. In addition, necessary preventive measures should be taken against the disease, and further studies should be conducted to search the current status of the disease in different animal species in the region.

Keywords: Lyme Borreliosis, Horse, ELISA, Seroprevalence.

Giriş

Lyme borreliozis veya Lyme hastalığı, *Borrelia burgdorferi* tarafından oluşturulan zoonotik bir enfeksiyondur. Etken evcil hayvanlara *Ixodes* genusunda yer alan keneler (sıklıkla *I. ricinus*, *I. pacificus*, *I. scapulari*) tarafından nakledilmekte ve hayvanların farklı sistem ve organlarını etkilemektedir (Skotarczak, 2002; Stefancikova ve ark., 2002; Stefancikova ve ark., 2008).

Atlarda ilk vaka 1978 yılında Güney Afrika'da rapor edilmiş ve serolojik olarak da ilk kez 1990'lı

yılların başlarında tespit edilmiştir. (Koneman ve ark., 1997; Maurizi ve ark., 2010).

İnfeksiyon evcil çiftlik hayvanlarının çok farklı sistem (kardiyovasküler ve sinir sistemi) ve dokularını (deri ve eklem) etkileyerek çok farklı klinik semptomların ortaya çıkmasına neden olur. Atlarda artritise bağlı topallık ve buna eşlik eden ateş en belirgin klinik tablodur (Manion ve ark., 1998; Stefancikova ve ark., 2002; Stefancikova ve ark., 2008; Agudelo ve ark., 2011).

Hastalığın etkeni *Borrelia* genusunda yer alan Gram negatif ve hareketli bir spirokettir. Bulaşmada sıklıkla *Ixodes* cinsi (*I. ricinus*, *I. dammini*, *I. pacificus*, *I. neotoma*, *I. scapularis*, *I. gibbosus*, *I. frontalis*, *I. hexagonus*, *I. lahuri*, *I. verpertilionis*) içerisinde yer alan keneler rol oynamaktadır (Chomel, 2015; Kolk 2016; Maurizi ve ark., 2010). Dolayısı ile enfeksiyonun coğrafik yayılımı da vektör kenelerin dünyadaki yayılımı ile paralellik göstermektedir. Etkenin izolasyonun zor ve zaman alıcı olması nedeniyle Lyme hastalığının tanısında serolojik testlerden (ELISA, IFA) sıklıkla yararlanılmaktadır. Ancak, diğer spiroketal etkenlerle özellikle *Leptospira* serovarı ile kros-antijenik reaksiyonlardan dolayı pozitif bulunan serolojik test sonuçlarının Western Blotting (WB) gibi duyarlı bir teknikle de doğrulanması gerekmektedir. (Caroline ve ark., 2000; Kiss ve ark., 2011).

Materyal ve Metot

Kan Serum Örnekleri: Eylül 2016-Temmuz 2017 tarihleri arasında Şanlıurfa Merkez ve İlçelerinde halk elinde yetiştiriciliği yapılan pedigrili Safkan Arap atlarından alınan toplam 186 kan serum örneği çalışmanın materyalini oluşturdu. Kan örnekleri *vena jugularis*'ten antikoagülansız tüplere alınarak santrifüj ile serumları ayrılmış ve çalışma yapıncaya kadar da serum örnekleri -20 °C'de saklanmıştır.

ELISA Test Kiti: Çalışmada kullanılan kan serum örneklerinde anti-*B. burgdorferi* IgG antikorlarının araştırılmasında ticari ELISA kiti (Euroimmun – Almanya) kullanıldı. Test üretici firmanın belirttiği şekilde yapıldı ve değerlendirildi. Test sonuçları ELISA okuyucusunda (Molecular Devices, Versamax, ABD) okutularak elde edilen değerler, üretici firmanın test protokolünde geçen formüle göre hesaplanarak negatif, sınır değer ve pozitif olarak belirlendi.

İstatistiksel Analiz: Çalışmada yapılan ELISA sonuçları doğrudan sayım ile belirlendi ve gruplar arası farklılık özel bir istatistik paket programında (SPSS 20.0) Ki-kare analizi ile değerlendirildi.

Bulgular

Çalışmada incelenen 186 at kan serum örneğinin 11'i (%5.9) anti-*B. burgdorferi* antikorları yönünden pozitif bulunurken; 3'ü (%1.6) şüpheli ve 172'si de (%92.5) negatif bulundu. Çalışmada seropozitif bulunan at kan serumlarının 6-21 yaş aralığında, şüpheli reaksiyon veren serum örneklerinin ise 6-16 yaş aralığında olduğu belirlendi. Çalışmada incelenen kan serum örneklerinin alındığı atlara ait bilgiler (yerleşim yeri, cinsiyet, yaş) ile ELISA sonuçları Tablo-1 ve 2'de verilmiştir.

Tablo 1. ELISA sonuçlarının yerleşim yerlerine göre dağılımı

Örneklerin Alındığı Yer	Alınan Kan Serum Örneği Sayısı	Seropozitif n (%)	Şüpheli n (%)	Seronegatif n (%)
Karaköprü	8	2 (25)	0 (0)	6 (3.2)
Haliliye	72	3 (4.2)	0 (0)	69 (37)
Eyyübiye	106	6 (5.7)	3 (2.8)	97 (52.2)
Toplam	186	11 (5.9)	3 (1.6)	172 (92.5)

Tablo 2. ELISA sonuçlarının bölge ve yaşa göre dağılımı.

Örneklerin Alındığı Yer	Seropozitif Atların Yaşı	Sınır Değerdeki Atların Yaşı	Seronegatif Atların Yaş Aralığı
Karaköprü	10, 19	-	6-18
Haliliye	11, 18, 21	-	4-21
Eyyübiye	6, 7, 8, 9, 10, 15	6, 11, 16	5-24

Tartışma ve Sonuç

Lyme Borreliozis Avrupa, Asya ve Amerika kıtasında oldukça yaygın olarak görülen bir zoonotik enfeksiyondur (Bhide ve ark., 2008; Stefancikova ve ark., 2002). Enfeksiyonun atlardaki seroprevalansının coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterdiği bildirilmiş ve farklı ülkelerde farklı prevalans oranları rapor edilmiştir. Enfeksiyonun seroprevalansı Kore'de %5.5 (Kiss ve ark. 2011), Romanya'da %11.9 (Egenvall ve ark. 2001), İsveç'te %6.8 (Egenval ve ark., 2001), İtalya'da %24 (Ebani ve ark., 2012), Polonya'da %26 (Stefancikova ve ark., 2008), Danimarka'da %29 (Hansen ve ark., 2010), Meksika'da %34 (Stefancikova ve ark., 2002), Brezilya'da %9.8-42.8 (Basile ve ark., 2015), Fransa'da %31-48 (Stefanikova ve ark., 2008) olarak bildirilmiştir. Enfeksiyonun seroprevalansı ise Amerika'nın Kuzeydoğu bölgelerinde %45 (Magranelli ve ark., 2000), Güneybatı Virginia'da %33 (Funk ve ark., 2016; Fritz ve Kjemtrup, 2003), Wisconsin ve Connecticut'ta ise sırasıyla %63 ve %84 (Fritz ve Kjemtrup, 2003) olarak rapor edilmiştir. Ancak, Cohen ve ark. (1992) Teksas'ta oldukça düşük (%0.2) seropozitiflik oranı saptadıklarını bildirmişlerdir.

Türkiye'de atlarda enfeksiyonun seroprevalansını belirlemeye yönelik tek çalışma Bhide ve ark. (2008) tarafından yapılmış olup; araştırmacılar ELISA ile %6 Borreliacidal Antibody Test (BAT) ile de %6.3 oranında seropozitiflik belirlemişlerdir.

Türkiye'de evcil hayvanlarda Lyme Borreliozis ile ilgili yapılan sınırlı sayıda çalışmada ilk kez İzgür ve ark. (1996) IFAT ile farklı bölgelerden alınan 111 sığır kan serumunun %13.5'unda, Esenal ve ark. (1996) ise yine IFAT ile Ankara'da 74 sokak köpeğine ait kan serumu örneğinde %78.4 oranında seropozitiflik bildirmişlerdir.

Bu çalışma ile Türkiye'deki at yarışı sektöründe önemli bir yere sahip olan Safkan Arap atlarının önemli bir kısmının yetiştirildiği Şanlıurfa ili merkez ve ilçelerinde halk elinde yetiştirilen atlarda *B. burgdorferi* seropozitifliği ELISA ile ilk defa araştırılmış ve incelenen at serumu örneklerinin %5.9'u *B. burgdorferi* enfeksiyonu yönünden seropozitif olarak saptanmıştır. Bu çalışmada elde edilen seropozitiflik oranı Bhide ve ark. (2008), Egenvall ve ark. (2001), Lee ve ark. (2016) tarafından bildirilen oranlara yakın; Basile ve ark. (2015), Funk ve ark. (2016), Hansen ve ark. (2010), Magnarelli ve ark. (2000), Maurizi ve ark. (2010), Salinas ve ark. (1999) ve Stefancikova ve ark. (2008) tarafından bildirilen oranlardan ise düşüktür. Farklı coğrafik bölgelerde değişen seropozitiflik oranlarının bildirilmesi farklı iklim koşullarına, kene türlerinin dağılımındaki farklılıklara ve enfestasyon

oranlarındaki farklılıklara bağlanabilir. Ayrıca, etkeni vektör olarak taşıyan kene türlerinin Türkiye'deki coğrafi dağılımına bakıldığında Karadeniz, Ege, Marmara ve Akdeniz bölgelerinde yaygın olduğu; Güney Anadolu bölgesinde ise *I. perturbansis*'in bulunduğu bildirilmektedir (Uslu, 2008). Safkan Arap atlarında saptanan düşük seropozitiflik oranı gerek yarış amacıyla yetiştirilen gerekse de damızlık olarak bakılan Safkan Arap atlarının yarış veya çiftleştirme için yurt içinde farklı bölgelere götürülmesi ve vektör kenelerin göçmen kuşlarla bölgeye taşınması ile açıklanabilir.

Çalışmada seropozitif bulunan serum örneklerin alındığı atlar yerleşim yeri ve yaş aralığına göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı ($p < 0,05$) belirlendi. Benzer şekilde Kiss ve ark. (2011) seropozitiflik oranlarının bölge, yaş, cinsiyet ve yetiştirme yönünden önemli bir korelasyon göstermediğini rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak Şanlıurfa ilinde Safkan Arap atlarında *B. burgdorferi* seropozitifliği %5.9 olarak tespit edilmiştir. Enfeksiyonun zoonotik karakteri ve evcil hayvanlarda neden olduğu ekonomik kayıplar dikkate alındığında bölgede enfeksiyonun epidemiyolojisine yönelik daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Hastalığın pek çok hastalığı taklit etmesi nedeniyle klinisyenler tarafından gözden kaçırılan Lyme borreliozis'in, teşhis açısından unutulmaması gerektiği kanısına varılmıştır. Ayrıca bu çalışmanın atlarda Lyme borreliozis epidemiyolojisi açısından önemli olduğu da düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (HÜBAK) tarafından HÜBAK-17053 proje numarası ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Agudelo CF, Schanilec P, Kybicova K, Kohout P, 2011: Cardiac manifestations of borreliosis in a dog: a case report. *Vet Med-Czech*. 56 (2), 85-92.
- Basile RC, Rivera GG, Del Rio LA, de Bonis TC, do Amaral GP, Giangrecco E, Ferraz G, Yoshinari NH, Canola PA, Queiroz N, 2015: Anaphylactoid reaction caused by sodium ceftriaxone in two horses experimentally infected by *B. burgdorferi*. *BMC Vet Res*, 11, 197.
- Bhide M, Yılmaz Z, Golcü E, Torun S, Mikula S, 2008: Seroprevalence of anti-Borrelia burgdorferi antibodies in dogs and horses in Turkey. *Ann Agric Environ Med*, 15, 85-90.
- Caroline NH, Mayhew IG, Katherine EW, Smith KC, Dorothy C, Chang YF, Novosol V, McDonough SP, Chang CF, Jacobson RH, Divers T, Quimby FW, Shin

- S, Lein DH, 2000: Experimental infection of ponies with *Borrelia burgdorferi* by exposure to Ixodesticks. *Vet Pathol*, 37, 68-76.
- Chomel B, 2015: Lyme disease. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, 34(2), 569-576.
- Cohen ND, Heck FC, Heim B, Flad DM, Bosler EM, Cohen D, 1992: Seroprevalance of antibodies to *B.burgdorferi* in a population of horses in central Texas. *J Am Vet Med Assoc*, 201, 1030-1034.
- Ebani VV, Bertoloni F, Pinzuati P, Cerri D, 2012: Seroprevalence of *Leptospira* spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Italian horses. *Ann Agric Environ Med*, 19(2), 237-240.
- Egenvall A, Franzen P, Gunnarsson A, Engvall EO, Vagsholm I, Wikstrom UB, Artursson K, 2001: Cross-sectional study of the seroprevalence to *Borrelia burgdorferi* sensu lato and granulocytic *Ehrlichia* spp. and demographic, clinical and tick-exposure factors in Swedish horses. *Prev Vet Med*, 49, 191-208.
- Esendal ÖM, İzgür M, Arda M, Akay Ö, Keskin O, 1996: Köpeklerde *Borrelia burgdorferi* antikorlarının floresan antikor tekniği ile saptanması. *I. Uluslararası Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi*, İstanbul, 128-129.
- Fritz CL, Kjemtrup AM, 2003: Lyme Borreliosis. *J Am Vet Assoc*, 223, 1261-1270.
- Funk RA, Pleasant RS, Witonsky SG, Reeder DS, Werre SR, Hodgson DR, 2016: Seroprevalence of *B. burgdorferi* in horses presented for coggins testing in Soutwest Virginia an change in positive test results approximately 1 year later. *J Vet Int Med*, 30, 1300-1304.
- Hansen MG, Christoffeersen M, Thuesen LR, Petersen MR, Bojesen AM, 2010: Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Anaplasma phagocytophilum* in Danish horses. *Acta Vet Scand*, 52, 3.
- İzgür M, Arda M, Akay Ö, Esendal ÖM, Keskin O, 1996: Sığır kan serumlarında *Borrelia burgdorferi* antikorlarının floresan antikor tekniği ile saptanması. *I. Uluslararası Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi*, İstanbul, 174-175.
- Kiss T, Cadar D, Krupaci AF, Bordeanu A, Brudasca GF, Mihalca AD, Mircean V, Gliga L, Dumitrache MO, Spin M, 2011: Serological reactivity to *Borrelia burgdorferi sensulato* in dogs and horses from distinct areas in Romania. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11(9), 1259-1262.
- Kolk VJH, 2016: Lyme borreliosis in the horse. *JEBAS*, 4, 196-202.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, 1997: Lyme disease. color atlas and textbook of diagnostic microbiology, JB Lippincott Company, Philadelphia, 964, 971.
- Lee SH, Yun SH, Choi E, Park YS, Lee SE, Cho GJ, Kwon OD, Kwak D, 2016: Serological detection of *Borrelia burgdorferi* among horses in Korea. *Korean J Parasitol*, 54(1), 97-101.
- Magnarelli LA, Ijdo JW, Van Andel AE, Wu C, Padula SJ, Fikrig E, 2000: Serologic confirmation of *Ehrlichia equi* and *Borrelia burgdorferi* infections in horses from the northeastern United States. *J Am Vet Med Assoc*, 217, 1045-1050.
- Maurizi L, Marié JL, Aoun O, Courtin C, Gorsane S, Chal D, Davoust B, 2010: Seroprevalence survey of equine Lyme borreliosis in France and in sub-Saharan Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 10, 535-537.
- Skotarczak B, 2002: Canine borreliosis – epidemiology and diagnostics. *Ann Agric Environ Med*, 9, 137-140.
- Stefancikova A, Stepanova G, Derdakova M, Pet'ko B, Kysel'ova J, Ciganek K J, Strojny L, Cislakova L, Travnicek M, 2002: Serological evidence for *Borrelia burgdorferi* infection associated with clinical signs in diary Cattle in Slovakia. *Vet Res Commun*, 6, 601-611.
- Stefanciková A, Adaszek L, Petko B, Winiarczyk S, Dudinák V, 2008: Serological evidence of *Borrelia burgdorferi sensulato* in horses and cattle from Poland and diagnostic problems of Lyme borreliosis. *Ann Agric Environ Med*, 15, 37-43.
- Uslu O, 2008: Köpeklerde Lyme hastalığının araştırılması. Yüksek lisans tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- *Bu araştırma makalesi “Şanlıurfa’da Safkan Arap Atlarında *Borrelia burgdorferi* Seropozitifliğinin Belirlenmesi” isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiş i. Uluslararası Gevher Nesibe Sağlık Hizmetleri Kongresi (4-6 Mayıs 2018 Şanlıurfa)'inde sunulmuştur. Çalışma için izin belgesi Dollvet A.Ş. Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulundan alınmıştır.
- **Yazışma Adresi: Ömer DEMİR
Tarım ve Orman Bakanlığı Şehitkamil İlçe Müdürlüğü, Gaziantep, TÜRKİYE
E-mail: ofaruk0227@hotmail.com

Ratlarda Skrotal Ekstrakutan ve Ensizyonel Subkutan Ligatür Uygulamasının ve Etkilerinin Değerlendirilmesi *, **

Cafer Tayer İŞLER^{1,a,***}, Ahmet UYAR^{2,b}, Tuğba GÖKALP BOZAN^{3,c}

¹Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

³Batman Belediyesi Veteriner İşleri Müdürlüğü, Batman, Türkiye

^aORCID: 0000-0002-1910-8316, ^bORCID: 0000-0003-4345-6756, ^cORCID: 0000-0002-0696-253X

Geliş Tarihi: 20. 09. 2019

Kabul Tarihi: 05 . 12. 2019

Özet: Bu çalışma; sokak hayvanlarının üremelerinin kontrol altına alınmasına katkıda bulunmak amacıyla yapıldı. Bu amaçla yapılan invaziv veya noninvaziv uygulamaların hem başarısını arttırmak hem uygulama süreçlerini kısaltmak hem de masraflarını minimize ederek hayvan refahına olan etkilerini en aza indirmek için insani ve komplikasyonsuz bir metot geliştirmek planlanmıştır. Bu çalışmada 20 adet erkek rat kullanıldı. Ratlar onarlı iki eşit gruba ayrıldı. Gruplardan birine skrotal ekstrakutan diğerine ensizyonel subkutan ligatür uygulaması yapılarak iki ayrı teknikte kastrasyon uygulaması gerçekleştirildi. Deney hayvanlarına operasyon sonrası 3 gün antibiyotik uygulaması yapıldı ve 10 gün boyunca skrotal değişiklikler kliniksel olarak kontrol edildi. Histopatolojik incelemelerde testis dokusunun komple nekroze olduğu gözlemlendi. Her iki tekniğin de kastrasyon işleminde başarılı bir şekilde kullanılabilirdiği ortaya konuldu. Sonuç olarak ratlarda skrotal ekstrakutan ve ensizyonel subkutan ligatür uygulamasının kastrasyon için başarılı olduğu, uygulamanın pratik ve etkili olduğu, kliniksel olumsuzlukların bulunmadığı, masraflı, komplikasyonlu ve ağır anestezi uygulamalara gerek olmadığı belirlendi. Ekstrakutan ve subkutan ligatür ile kastrasyonun sokak hayvanlarında ve pet hayvancılığında üremenin kontrol altına alınmasında uygulaması kolay, pratik, başarılı ve alternatif bir çözüm olacağı, serbest veteriner hekimler ve Belediye Veteriner İşleri Müdürlüklerinin başarısını arttıracığı, toplumsal bir soruna pratik bir çözüm olacak yeni teknikler olarak tavsiye edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kastrasyon, Rat, Sokak hayvanları, Ligatür.

Evaluation of Scrotal Extracutaneous and Incisional Subcutaneous Ligature Application and Its Effects in Rats

Abstract: This study was conducted to contribute to the control of the reproduction of stray animals. For these reasons, it was planned to developed a humanitarian and un-complicated method in order to increase the success of invasive or noninvasive applications, to shorten the time of application processes, and to minimize the effects on animal welfare by reducing the costs. In this study, 20 male rats were used. The rats were divided into two equal groups. Two different castration techniques were performed: scrotal extracutaneous to one group and incisional subcutaneous ligature to another group. Antibiotics were applied to the rats postoperatively for three days and scrotal changes were checked clinically for 10 days. Histopathological examination revealed complete necrosis of testicular tissue. Both techniques were found to be successful in castration. In conclusion, scrotal extracutaneous and incisional subcutaneous ligature administration was found to be successful, practical and cost-effective for castration of rats, no clinically undesirable complications and did not require heavy anesthetic applications. Furthermore, these two methods are recommended as a new method to private veterinarians and Municipal Veterinary Affairs Directorate for the castration of stray and pet animals.

Keywords: Castration, Rat, Street animals, Ligature.

Giriş

Tıp diliyle kastrasyon (bilateral orşiektomi); memeli erkeklerinin üreme ve cinsel faaliyette bulunma yeteneğinin ortadan kaldırılması işlemidir (Root Kustritz, 2012). Bu işlem sperm üretimini ve testosteron hormonu salgısını ortadan kaldırarak erkek cinsiyetine özgü yapısal ve davranışsal özelliklerin değişmesine yol açar (Cheney, 2006; Driel, 2009; Halidi, 2017)). İnsanlık tarihi kadar eski, yararlı ve önemli bir operatif teknik olan kastrasyon

günümüzde en sık kullanılan metotların başında yer alır (Sarierler ve Bellek, 2015). Hayvan için daha sağlıklı, toplum içinse daha yararlı olan kastrasyon yöntemleri tarihin birçok devrinde gündem oluşturmuştur (Salmeri et al., 1991, Samsar, 1978; Sarierler ve Bellek, 2015). Son zamanlarda sokak hayvanlarının artışıyla beraber kastrasyonun önemi daha da belirginleşmiştir (Günay ve ark., 2004). Kastre edilmeyen hayvanlar birbirleri arasında

hastalıkların yayılmasına yol açmakta, saldırgan olmakta, istenmeyen gebelikler şekillenmekte ve toplumun huzurunu bozmaktadır. Bu nedenlerle kastrasyon, sokak hayvanlarının kontrolsüz üremelerinin önüne geçilmesinde önemli bir yer teşkil eder (Baran ve ark., 2016). Sokak hayvanlarının artışı ile beraber hayvan ve toplum sağlığı için cerrahi olmayan kastrasyon teknikleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Kısırlaştırmaya ilişkin endikasyonlar, verimli çiftleşmenin önlenmesi, davranış problemlerinin tedavisi ve testisleri veya skrotumu içeren üreme hastalığının önlenmesini içerir (Donnelly ve Brown, 2004; Reichler, 2009; Spain ve ark., 2004).

Kastrasyon şirurjikal ve nonşirurjikal olmak üzere iki teknikle gerçekleştirilmektedir (Baran ve ark., 2016; Sarierler ve Bellek, 2015). Şirurjikal ve nonşirurjikal teknik başlığı altında birbirinden farklı pekçok teknikler bildirilir. Bu tekniklerin birkaç tanesi hariç çoğunluğu, arzu edilen faydaları oluşturmadığı için klinisyenler tarafından kullanılmamaktadır. Şirurjikal kastrasyon cerrahi prensiplerle yapılan işlemdir (Bakır ve ark., 2006). Cerrahi kastrasyon; skrotal, preskrotal ve abdominal kastrasyon diye alt grupları halinde uygulanmaktadır (Guilmette ve ark., 2015).

Kastrasyon için yeni teknikler aramaya devam edilse de cerrahi teknikler yerini korumaktadır (Howe, 2006; Samsar, 1978; Towle, 2012). Şirurjikal kastrasyonlar için pek çok metotlar uygulanabilir. Bu amaçla; kapalı ve açık, perineal veya preskrotal kastrasyon (Fossum, 2007; Sarierler ve Bellek, 2015; Temizer, 1982), açık ya da laparoskopik teknikle vazektomi (Nabi, 2015), sadece funikulus spermatikus'un ligasyonu (Baba ve ark., 2013; Fazili ve ark., 2009) veya arter, ven ve funikulus spermatikus gibi yapıların hep birlikte ligatürü olarak ifade edilen spermatik kord ligatürü (Okwee-Aca ve ark., 2008; Ponvijay, 2007), funikulus spermatikusun skrotumla birlikte veya subkutan ligatürü, ductus deferensin ligatürü, funikulus spermatikus ligatürünü takiben testisin eksizyonu gibi yöntemleri bildirilmiştir (Abd-el wahed ve ark., 2014; Temizer, 1982).

Cerrahi olmayan kısırlaştırma teknikleri ise; immunokastrasyon (immunokontrasepsiyon, immunosterilizasyon), endojen steroid hormonlarının kullanımı, reproduktif toksinler, kimyasal sterilizan enjeksiyonlar (Ataman ve Türk, 2016, Hopkins ve Evans, 2003; Maenhoudt ve ark., 2014; Polat ve ark., 2018), 3-19 W ultrason ultrason enerjisi verilmesi gibi (İzol ve ark., 2013) non-invaziv mekanik yöntemler bildirilmiştir (İzol ve ark., 2013). Kimyasal kastrasyon olarak; sıcak uygulama, gliserol ile kastrasyon, etanol ile kastrasyon, çinko glukonat ile kastrasyon, Kalsiyum Klorür (CaCl₂) ile kastrasyon, formaldehit ile kastrasyon teknikleri kullanılmaktadır (Baran ve ark., 2016; Günay ve ark.,

2004; Hamman ve ark., 2011; Howe ve ark., 2001; Howe, 2006; İzol ve ark., 2013).

Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı DKMP Genel Müdürlüğü 2019 mart ayında ülkede bulunan üniversitelerindeki Veteriner Fakültelerinden bir komisyon oluşturarak kastrasyon için ekonomik ve pratik yöntemlerin belirlenmesine yönelik çalışmalar talep etmiştir. Bu çalışma ile, sokak hayvanları ile mücadelede ve pet hayvancılığında rahat, minimal masraflı, noninvaziv, hayvan refahına en az etkili, insani ve komplikasyonsuz bir metot geliştirmek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

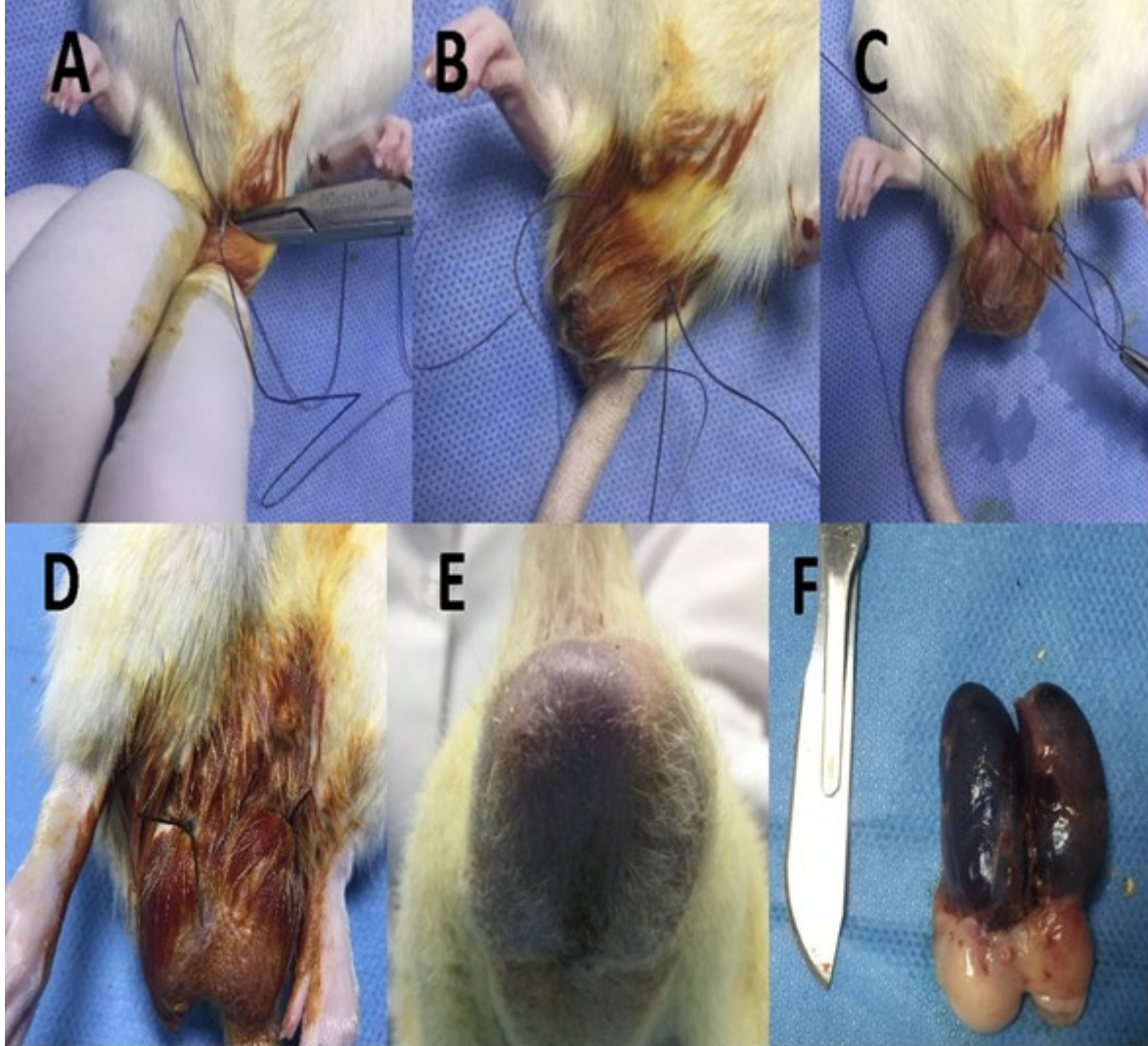
Çalışma için HMKÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2018/1-9 nolu kararı ile etik kurul izni alınmıştır. Çalışmada yaşı 8-9 aylık olan, 330-400 gr canlı ağırlıktaki, 20 adet erkek rat; Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi (HMKÜ) Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edildi. Ratlar onarlı iki gruba ayrıldı ve 10 mg/kg doz hesabı ile xylazine sedasyonu altında, kastrasyon işlemine tabi tutuldular. Kastrasyon işlemi; iki ayrı ligatür tekniğinin uygulanması ile gerçekleştirildi. Uygulama sonrası 10 gün deneklerin kliniksel ve skrotal değişiklikleri makroskopik olarak günlük kontrol edildi.

1. Grup: Ensizyonel Subkutan Ligatür Uygulaması: Sedasyon altındaki 10 tane ratta skrotal derinin traş ve temizliği yapılarak, bölgenin tentürdiyot ile antisepsisi sağlandı. Her iki testis ve funikulus spermatikus palpasyonla tespit edildi. Palpe edilen testisler abdomene kaçmaması için, bir yardımcı vasıtası ile tutuldu. Aseptik malzemelerle antisepsi eşliğinde raphe skroti üzerinden 2 mm'lik tam deri ensizyonu uygulandı. Ensizyon hattından 2/0 emilebilen 2/3 eğri nontravmatik cerrahi iğneli polyglycolic acid (PGA) iplik vasıtası ile spermatik kordu içine alan subkutan spermatik kord ligatürü uygulandı ve cerrahi düğüm atıldı. Grubun yarısı uygulama sonrası üçüncü gün testislerdeki hasarın kalıcılığını görmek için cerrahi usul kastrasyon ile kastre edilerek testisler patoloji laboratuvarına gönderildi. Grubun diğer beş üyesi on gün boyunca skrotal değişiklikler makroskopik olarak günlük kontrol edildi. On gün sonunda bu üyeler de cerrahi usulde kastre edilerek histopatolojik incelemeye gönderildi.

2. Grup: Ekstrakutan Çift İplikli Transfeksiyon Ligatürü Uygulaması: Birinci grupta olduğu gibi rutin işlemler yapıldıktan sonra çift iplikli transfeksiyon ligatürü uygulaması için, skrotum derisi ensize edilmeden, skrotuma raphe skroti üzerinden, antero-caudal yönlü ve tüm anatomik katları içine alacak şekilde 1/3 eğri travmatik cerrahi sutur iğnesi girildi. Bir makas vasıtası ile iğnenin

iplikler ile irtibatı kesilerek çift iplik elde edildi. İpliklerin biri sağ, diğeri sol testisi içine alacak şekilde, skrotal ekstrakutan transfiksasyon ligatürü

uygulandı. Cerrahi düğümler atılarak işlem tamamlandı. Ligatür sonrası işlemler ilk gruptaki işlemlerin aynı şekli ile yapıldı (Şekil 1-A-D).



Şekil 1. Ekstrakutan çift iplikli ligatür uygulaması A-İğnenin skrotuma batırılışı. B- Ligatür uygulaması için skrotumda çift ipliğin görünümü. C-Çift iplikle ligatür uygulaması. D- Uygulama sonrası görünüm. E- Uygulama sonrası 3. gün görünümü. F- 10 gün sonra alınan testislerin görünümü

Histopatolojik İnceleme: Deneme sonunda tüm hayvanların nekropsileri yapılarak testislerde gözlenen makroskobik bulgular kaydedildi. Histopatolojik inceleme için testislerden alınan doku örnekleri %10'luk tamponlu formaldehit solisyonunda fikse edildi. Rutin doku takip işlemleri, dehidrasyonları, şeffaflandırılmaları yapılarak parafinde bloklandı. Parafin bloklardan mikrotomda (Leica RM 2135) 5µm kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin (H.E.) ile boyanarak ışık mikroskopunda (Nikon 80i-DS-Ri2) incelendi.

Bulgular

Ratlar, uygulama öncesi ve sonrası kontrol altında tutuldu. Her iki gruptaki deneklerin

uygulama öncesi ve sonrası sağlık durumları, yeme-içme ve sosyal davranışları, şekillenebilecek olası değişiklikler, klinik semptomlar veya patolojik bulgular takip altına alındı.

1. Grup: Ensizyonel Subkutan Ligatür Uygulaması:

Bu gruptaki ratlarda uygulama sonrası birinci gün yeme içmede azalma ve yatma isteği gözlemlendi. İlk 24 saatte hareketlilik uygulama öncesine göre oldukça azdı. Uygulamayı takiben üç saat içinde testislerde lokal şişlik ve ödemleşmenin başladığı gözlemlendi. Ödem iki gün arttı ve testis normal hacminin iki üç katına ulaştı. Ödemleşen bölgede tüm bölgeyi içermeyen, lokal renk değişikliği -morarma-şekillenmeye başladı. Ödem ve morarma 24. saatte tam belirgin hale geldi. İkinci günden sonra ödem ve morarmada azalma başladı. Deri normal rengini almaya ve şişkinlik inmeye başladı. Onuncu günde

morarmanın eseri miktarda kaldığı, şişkinliğin önemli oranda azaldığı, ancak testisin anatomik büyüklüğünün normal sınırlara inmediği gözlemlendi. Uygulama sonrası şekillenen yeme içme alışkanlıklarında değişiklik ve hareketsizlikleri 25. saatten sonra azalmaya başladığı, 32. saate ise normale döndüğü gözlemlendi. Bu geçici semptomun haricinde 8 gün süresince yeme içme alışkanlıklarında değişiklik, ağrı, kaşınma, bölgeyi ısırma, huzursuzluk, kanama, saldırganlık, durgunluk veya düşkünlük gibi bir belirtiye rastlanılmadı. Uygulamanın hayvan refahını minimal etkilediği ve enfeksiyon şekillenmediği belirlendi.

2. Grup: Ekstrakutan Çift İplikli Transfeksiyon Ligatürü Uygulaması: Uygulama sonrası bu grupta da ilk bir gün yeme içmede azalma ve yatma isteği gözlemlendi. İlk 24 saatte hareketliliğin önemli oranda azaldığı, testiste üç saat içinde ödematöz şişkinliğin şekillendiği gözlemlendi. Ödematöz şişkinlik 24. saat sonunda testisin normal hacminin iki üç katına ulaştığı belirlendi. Ödemleşen skrotum derisinde lokal morarma gözlemlendi. Ödem ve morarmanın 24. saatten sonra gerileyerek rezorbe olmaya başladığı tespit edildi. Onuncu günde morarmanın büyük oranda kaybolduğu, şişkinliğin azaldığı ancak normal sınırlara dönmediği gözlemlendi. Uygulama sonrası şekillenen yeme içme alışkanlıklarında değişiklik ve hareketsizlik tercihleri uygulama sonrası birinci gün düzelmeye başladığı, 32. saate ise normale döndüğü gözlemlendi. Bu geçici semptomun haricinde 8 gün süresince yeme içme alışkanlıklarında değişiklik, ağrı, kaşınma, bölgeyi ısırma, huzursuzluk, kanama, saldırganlık, durgunluk veya düşkünlük gibi bir belirtiye rastlanılmadı. Uygulamanın hayvan refahını fazla bir etkisi olmadığı, enfeksiyon şekillenmediği belirlendi.

Histopatolojik Bulgular: Makroskobik incelemede, uygulama sonrası üçüncü güne ait numunelerde, şiddetli testiküler iskemi nedeniyle bütün skrotal bölgenin ve testislerin renginin morardığı görüldü (Şekil 1 E, F). Denemenin 3. günü her iki grupta histopatolojik olarak testislerde tubulusların bazal membranın germinatif epitelden ayrılmaya başladığı, seminifer tubul yapısının kısmen bozulduğu ve bazılarında spermatogenetik hücrelerin azaldığı, dejeneren olan spermatogenik hücrelerde vakuolizasyonların şekillendiği, bazı tubulusların atrofiye olmaya başladığı, tubuluslar arası aralığın açıldığı, leydig hücrelerini de içeren interstisyel yapılarda dejenerasyon ve nekrozların başladığı ve yer yer interstisyumda hiyalizasyonun şekillendiği görülmüştür (Şekil 2 ve şekil 3). Denemenin 10.gününe ait kesitlerde her iki grupta da nekrozun şekillendiği, tubulusların çok şiddetli atrofiye oldukları, atrofiye olan birtakım tubulusların lize olduğu, genellikle peritubuler olmak üzere interstisyumda yer yer inflamatuvar hücre

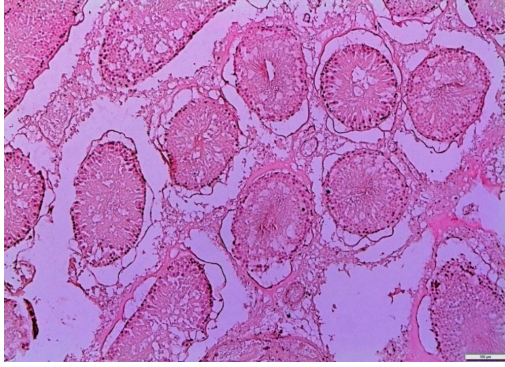
infiltrasyonlarına rastlandığı, spermatogenezin tamamen durduğu, germinatif epitel ve leydig hücreleri de dahil interstisyel yapılarının nekroza uğradığı, nekrotik bölgelerin distrofik kalsifikasyona uğradığı, interstisyumda yoğun hemosiderin pigmentinin şekillendiği belirlenmiştir (Şekil 4 ve şekil 5).

Tartışma ve Sonuç

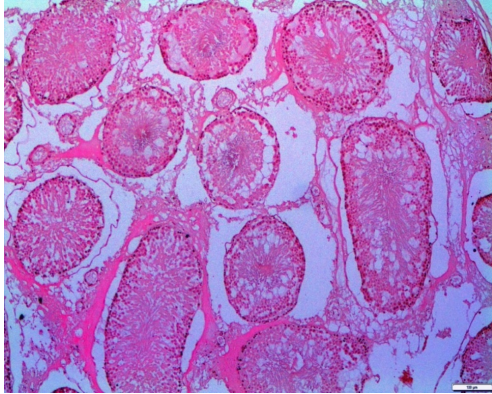
En yaygın kısırlaştırma yöntemi bilateral orşiektomidir. Hızlı yağlanmaya ve tembelleşmeye neden olduğundan, cerrahi kastrasyonun zorunlu olduğu haller dışında tercih edilmemelidir. Sokaktaki kedi ve köpek popülasyonlarını kontrol altına almak için kalıcı kısırlaştırma yani cerrahi kastrasyon, pahalı ve zaman alıcı bir uygulamadır. Günümüzde cerrahi kısırlaştırmaya farklı alternatif yöntemler araştırılmaktadır (Baran ve ark., 2016). Bilateral orşiektomi, uygulama olarak, zaman alıcı ve operatif bir girişimdir. İlaç ve ameliyat gibi masrafları dolayısı ile pahalı, anestezi risk ve komplikasyonları nedeni ile sıkıntılara yol açabilen bir metottur. Araştırmamızda skrotal ekstrakutan ve ensizyonel subkutan ligatür uygulaması ile sokak hayvanları sorununa pratik ve ekonomik çözüm sunmak amaçlanmış, çalışma sonunda testislerin tamamen nekroze olduğu için oldukça başarılı, uygulaması kolay, etkili ve ekonomik olduğu belirlenmiştir.

Cerrahi olmayan kastrasyon uygulamaları, intratestiküler ya da intraepididimal kimyasal enjeksiyon uygulamaları şeklinde yapılmaktadır (Ataman ve Türk, 2016; Türk ve ark., 2004). Testis içine enjekte edilen çeşitli kimyasal maddeler erkek hayvanlarda azospermi'yi uyarak infertiliteye neden olmaktadır. Nonşirurjikal kastrasyon ucuz ve başarılıdır. Bu işlem için erkek köpeklerde sedasyon, erkek kediler de ise genel anestezi yeterli olmaktadır (Bakır ve ark., 2006). Araştırmamızda skrotal ekstrakutan ve ensizyonel subkutan ligatür uygulaması kastrasyonun tüm etkilerini irreversible olarak yerine getirdiği, kastrasyonda alternatif ve başarılı bir yöntem olduğu belirlenmiştir.

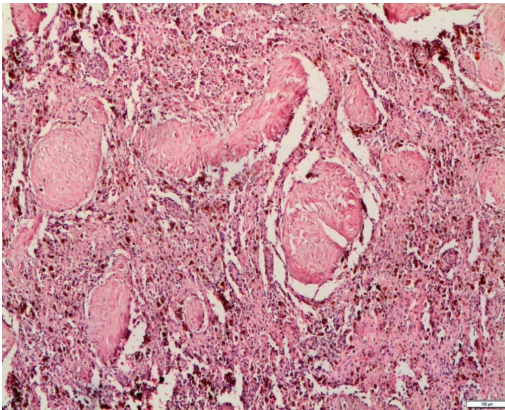
Nonşirurjikal kısırlaştırma amacıyla androjenler, progestagenler, anabolik steroidler, antiandrojenler ve GnRH (gonodotropin releasing hormon) antagonistleri yaygın olarak kullanıldığı, ancak bu hormonlar iyi bir azospermi oluşturmalarına rağmen etkileri sürekli olmadığından uygulamanın tekrarına gerek duyulduğu bildirilmiştir (Anand ve Vijayan, 1998; Gerendai ve ark., 1996; Günay ve ark., 2004, Theubet ve ark., 2010). İlaç tekrarını hayvanın hem sağlığı hem de masraf yönünden önemli bir dezavantaj olarak görmekteyiz. Özellikle sokak hayvanlarında ilaç tekrarı da mümkün değildir.



Şekil 2. Ensiyonel subkutan ligatür uygulaması grubu 3. gün testis dokusunun mikroskopik görünümü. HE, bar: 100 µm.



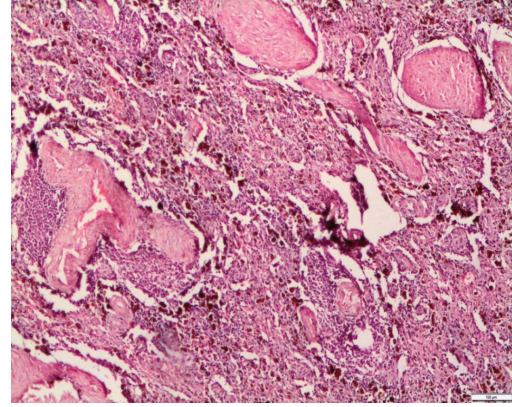
Şekil 3. Extrakutan çift iplikli transfiksion ligatürü uygulaması grubu 3. gün testis dokusunun mikroskopik görünümü. HE, bar: 100 µm.



Şekil 4. Ensiyonel subkutan ligatür uygulaması grubu 10. gün testis dokusunun mikroskopik görünümü. HE, bar: 100 µm.

Zira bu hayvanlar barınaklarda uzun süre tutulmamakta, sokak ortamına gönderilmektedirler. Kaldı ki kullanılan ilaçların çoğu hormon olduğu ve bağışıklık sistemini önemli oranda etkilediği için obeziteden salgın hastalıklara kadar pekçok yan etki ve komplikasyonu mevcut-tur. Araştırmamızda uygulanan skrotal ekstrakutan ve ensiyonel subkutan ligatür uygulaması kastrasyonun tüm etkilerini irreversible olarak yerine getiren ekonomik ve pratik bir tekniktir. Masrafı, komplikasyonu, yan etkisi az, kesin çözümdür.

Etil alkolün % 95'lik (Chinoy, 1984; Sharma ve ark., 1983), kalsiyum kloridin (Jana ve ark., 2002),



Şekil 5. Extrakutan çift iplikli transfiksion ligatürü uygulaması grubu 10. gün testis dokusunun mikroskopik görünümü. HE, bar: 100 µm.

sodyum floridin (Sprondo ve ark., 1996), etanolün (Canpolat ve ark., 2006; Raman ve ark., 1976;) tubulus seminiferus kontortuslarda dejenerasyon ve nekroza yol açarak spermatogenezisi durdurduğu ve leydig hücrelerinde de dejenerasyona neden olarak serum testosteron seviyesini düşürdüğü ancak kullanılan ilacın özelliğine, dozuna, çevre dokulara yayılmasına bağlı olarak prostatit, üriner sistem nekrozu ve yangıları, kontrolsüz ürinyasyon, idrar kesesi felci gibi komplikasyonlara yol açabileceği bildirilmiştir. Gliserol ve etanolün erkek köpeklerde intratestiküler enjeksiyonlarının kısırlaştırma üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Canpolat ve ark., 2006; Hayat ve Biricik, 2008; Jana ve ark., 2002). Günay ve ark. (2004) ise kalsiyum klorür, gliserol veya etanol ile yapılan kimyasal kastrasyonda hayvanların testislerinde lokal semptomlar oluştuğunu, uygulamadan sonrası yatma isteği iştahsızlık ve sancı belirtilerinin görüldüğünü, testislerde orşitis ve buna bağlı fistülizasyon, skrotumda açık yaralar şekillendiği, vazektomi yönteminde anestezik risk ve postoperatif komplikasyonların gelişebileceği (Günay ve ark., 2004; Immegart ve Threlfall, 2000), duktus deferensin kimyasal ilaçlarla kapatılması yönteminde (Gerendai ve ark., 1996) ise başarı oranının düşük olacağı bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada lokal şişkinlik ve geçici iştah kaybı haricinde hayvan refahını etkileyen bir duruma rastlanılmadı. Hatta nekroze testisin irinleşme ve fistülleşmeye yol açması mümkün iken bu ihtimalin şekillenmediği, on gün sonra yapılan cerrahi kastrasyonda nekrotik testis dokusunda maserasyonun başladığı gözlemlendi. Anestezik risk ve postoperatif komplikasyonların önlenmesi ve kimyasal ilaç ve maddelerin kullanılarak sağlık sorunlarının önüne geçilmesi adına araştırmamızda kullanılan skrotal ekstrakutan ve ensiyonel subkutan ligatür uygulaması kastrasyonun tüm etkilerini komplikasyonsuz olarak yerine getirdiği, diğer doku ve organların hiçbir şekilde etkilenmediği, ağrı veya prostatit, idrar kesesi felci gibi çevre dokuların

hastalıklarına yol açmadığı, fistül, yara, apse, kontrolsüz idrar kaçırma gibi sekonder hastalıkların ortaya çıkmadığı belirlendi. Tekniğimizin komplikasyonsuz, daha insancıl, daha basit, kolay, kansız, ekonomik ve başarılı olduğu belirlenmiştir.

Sokak köpeklerinde genel anestezi altında perkütan spermatik kord ligasyonu yapıldığı, 28. günde skrotal ve testis boyutları ve testis hacmi değiştiği ve bilateral orşiektomi yapılarak alınan testislerin hacminin önemli oranda azaldığı, erkek köpek sterilizasyonu için minimal invaziv, ucuz, basit ve hızlı bir teknik olduğu Baba ve ark. (2013) tarafından bildirilmiştir. Klinik uygulama ve elde edilen sonuçlar Baba ve ark. (2013)'nin bildirdikleri ile birebir uyumlu iken, çalışmamızda hem makroskopik hem de patolojik olarak testis dokusundaki dejenerasyonun hem 3. hem de 10. günde tespit ettik. Bu durum daha erken sonuca ulaştığımızı ortaya koymuştur. Ayrıca; skrotal ekstrakutan ve ensizyonel subkutan ligatür uygulaması bir enjeksiyon yapacak kadar kolay bir uygulama olup, sedasyona, kimyasal ajana, masrafa ve komplikasyonlara yol açmayacak bir teknik olarak değerlendirilmiştir. Sokak hayvanlarında ekstrakutan ve subkutan ligatür uygulamasının başarılı sonuçlar vereceği düşünülmektedir.

Ülkemizde yerel ve büyükşehir belediyeleri aracılığı ile yürütülen projelerdeki kısırlaştırma metotları fazla ekipman, deneyimli personel ve maddi imkan gerektirmesi, personelin liyakatsizliği, gerek cerrahi gerekse nonşirurjikal yolla ve toplu olarak yapılan kısırlaştırma işlemlerinde istenilen sonuçlar elde edilememektedir (Baran ve ark., 2016). Çalışmamızda uygulanan ligatür tekniğinin her ikisi de pratik, kısa zamanda çok sayıda hayvana uygulanabilmesi, çok az maddi kaynağa ihtiyaç göstermesi açısından gelecekte cerrahi yolla kısırlaştırmaya güçlü bir alternatif olacağı görülmektedir.

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı 2019 Mart ayında resmi yazı ile tüm veteriner fakültelerinden bir komisyon oluşturmuş ve kastrasyon için ekonomik ve pratik yöntemlerin belirlenmesini istemiştir. Bu çalışma; bakanlığın çalışmalarına önemli bir adım ve referans bir kaynak mahiyetindedir. Yani; bu uygulamanın tüm meslektaşlarımıza, akademik camiaya, Tarım Bakanlığı, Belediye Veteriner İşleri Müdürlüklerince uygulanabilir, pratik, ekonomik ve başarılı bir metot olarak tavsiye edilmesi tarafımızca uygun olarak değerlendirilmiştir. Magazin haberlerine konu olan sokak hayvanlarının saldırganlığı ve popülasyonunun kontrol edilememesi toplum hayatı için ciddi bir handicap kaynağı oluşturmakta, büyüyen bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Hem insan hem hayvan sağlığı açısından potansiyel bir tehlike olan sokak hayvanları zoonoz, viral, parazitolojik,

enfeksiyöz birçok hastalığın yayılmasından da sorumludurlar. Bu olumsuzluklar araştırmacıları ve bakanlığı bu konu üzerinde daha çok çalışmaya itmiş ve cerrahi olmayan yollarla testis içi kimyasal kısırlaştırma teknikleri geliştirilme çalışmaları bakanlık kanalı ile yeni başlamıştır.

Ratlarda Scrotal Excracutan ve Ensizyonel Subkutan Ligatür Uygulamasının kastrasyon işlemi için başarılı olduğu, uygulamanın kolay olduğu, ligatürlerin açılması sonucu veya bölgenin ısırılarak veya kaşınarak uygulamanın başarısızlığa düşmesi gibi olumsuzlukların yaşanmadığı, klinik olumsuzluklara yol açmadığı ve ağır anestetik uygulamalara gerek olmadığı belirlendi. Çalışmamızda uygulanan her iki tekniğin kolay, pratik, masrafı yok denecek kadar az olduğu ve irreversibl olarak kastrasyonu işlemini gerçekleşmesi nedeni ile sokak hayvanları ile mücadelede de etkili olacağı kanaatine varıldı.

Sonuç olarak; çalışmamızda uygulanan ligatür tekniğinin her ikisi de pratik olduğu, kısa zamanda çok sayıda hayvana uygulama imkanı sağladığı, ekonomik giderin çok düşük olduğu, bu sebeplerle cerrahi yolla kısırlaştırmaya güçlü bir alternatif olacağı ön görülmektedir.

Kaynaklar

- Adair BM, 1986: Abd-el wahed RE, Korritum AS, Abu-ahmed HM, Samy AA, 2014: Evaluation of pinhole castration technique compared with traditional method for castration in dogs. *Alex J Vet Sci*, 42(1), 90-98.
- Türk G, Sağlıyan A, Yaman İ, Sönmez M, Günay C, 2004: Erkek köpeklerde intratestiküler gliserol ve etanol uygulamalarının kısırlaştırma üzerine etkilerinin karşılaştırılması, *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 10(1-2), 55-60.
- Hayat A, Biricik HS, 2008: Atların kastrasyonlarında görülen başlıca komplikasyonlar. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi*, 84-88.
- Ataman O, Türk G, 2016: Erkeklerde kullanılan cerrahi ve cerrahi olmayan kontrasepsiyon yöntemleri. *Fırat Üniversitesi, Sağ. Bil. Vet. Dergisi*, 30(1), 67 – 73.
- Temizer A, 1982: Evcil hayvanlarda operasyon bilgisi. Fırat Üniverstiesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 28 (Ders kitabı:10). Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Driel MV, 2009. *Reaktion Books*, Manhood: The Rise and Fall of The Penis. English Translate by Vincent P, Lon.
- Baba MA, Fazili MR, Athar H, Mir MS, Moulvi BA, Khan I, 2013: Pinhole castration technique: an alternative to orchietomy in stray dogs. *Anim Reprod Sci*, 137(1-2), 113-118.
- Bakır B, Gülyüz F, Karaca F, Yüksel H, Şahin A, Uslu BA, 2008: Köpekler kimyasal kastrasyon. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9(1), 195-202.
- Baran A, Özdaş ÖB, Sandal Aİ, 2016: Erkek Kedi ve Köpeklerde Üremenin Önlenmesi. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics*, 2(2), 9-18

- Canpolat I, Gur S, Gunay C, Bulut S, Eroksuz H, 2008: An evaluation of the outcome of bull castration by intra-testicular injection of ethanol and calcium chloride. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 157(8/9), 420.
- Cheney VT, 2006: A Brief History of Castration: Second Edition. AuthorHouse. ISBN-13: 978-1420897203.
- Chinoy MR, Chinoy NJ, 1984: Vasocclusion Sterility Induced by Ethanol, Prostaglandin or Ascorbic Acid in Male Rats. *Endokrinol Exp*. 18(1), 65-77.
- Donnelly TM, Brown CJ, 2004: Guinea pig and chinchilla care and husbandry. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 7, 351-373.
- Fazili MR, Bhattacharyya HK, Buchoo BA, Kirmani MA, Darzi MM, Khan I, 2009: Evaluation of pinhole castration technique in rams. *Small Rumin Res*, 84, 61-4.
- Fossum TW, 2007: Surgery of the reproductive and genital systems. In: Fossum TW, eds. *Small Animal Surgery*. 3rd ed. Missouri: Mosby Inc, 702-74.
- Gerendai I, Csaba Z, Csernus V, 1996: Effect of Intratesticular Administration of Somatostatin on Testicular Function in Immature and Adult Rats. *Life Sci*, 59(10), 859-866.
- Guilmette J, Langlois I, Hélie P, De Oliveira El Warrak A, 2015: Comparative study of 2 surgical techniques for castration of guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Canadian Journal of Veterinary Research*, 79(4), 323-328.
- Günay C, Sağlıyan A, Yaman İ, Sönmez M, Türk G, 2004: Erkek köpeklerde intratesticular gliserol ve etanol uygulamalarının kısırlaştırma üzerine etkilerinin karşılaştırılması. *Veteriner Cerrahi Dergisi*, 10(1-2), 55-60.
- Halidi G, 2017: Farinelli Örneğinde Kastrasyon. *Lokman Hekim Dergisi*, 7(3), 215-231.
- Hamman WO, Musa SA, Ikyembe DT, Umana UE, Adelaiye AB, Nok, A J, Ojo SA, 2011: Ethanol extract of *Carica papaya* seeds induces reversible contraception in adult male wistar rats. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2(5), 257-261.
- Hopkins M, Evans LE, 2003: Artificial insemination. In: Pineda MH, Dooley MP, eds. *McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction*. 5th ed. Iowa: Iowa State Press.
- Howe LM, Slater MR, Boothe HW, Hobson HP, Holcom JL, Spann AC, 2001: Longterm outcome of gonadectomy performed at an early age or traditional age in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 218(2), 217-221.
- Howe LM, 2006: Surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology*, 66(3), 500-509.
- İzol V, Değer M, Arıdoğan İA, 2013: Erkek kontrasepsiyon yöntemleri. *Androloji Bülteni*, 15(53), 117-121.
- Immegart HM, Threlfall WR, 2000: Evaluation of intratesticular injection of glycerol for nonsurgical sterilization. *AJVR*, 61(5), 544-548.
- Jana K, Samanta PK, Ghosh D, 2002: Dose dependent response to an intratesticular injection of calcium chloride for induction of chemosterilization in adult albino rats. *Vet Res Commun*, 26(8), 651-673.
- Maenhoudt C, Santos NR, Fontbonne A, 2014: Suppression of fertility in adult dogs. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 58-63.
- Nabi G, 2015: An update on male contraception. *J Biol Life Sci*, 6, 15-28.
- Okwee-Acai J, Acon J, Okello-Owiny D, Agwai B, Oloya J, 2008: Evaluation of pinhole castration as an alternative technique for goat sterilization. *Bull Anim Health Prod Afr*, 56, 299-306.
- Polat S, Ozhan O, Parlakpınar H, 2018: Kimyasal kastrasyon (medikal orşiektomi). *İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 7(2), 56-60.
- Ponvijay KS, 2007: Pinhole castration: a novel minimally invasive technique for in situ spermatic cord ligation. *Vet Surg*, 36(1), 74-9.
- Raman G, Purandare TV, Munshi SR, 1976: Sterility induced in male rats by injection of chemical agents into the vas deferens. *Andrologia*, 8(4), 321-325.
- Reichler IM, 2009: Gonadectomy in cats and dogs: a review of risks and benefits. *Reprod Dom Anim*, 44(2), 29-35.
- Root Kustritz MV, 2012: Effects of surgical sterilization on canine and feline health and on society. *Reprod Dom Anim*, 4(7,4), 214-22.
- Salmeri KR, Olson PN, Bloomberg MS, 1991: Elective gonadectomy in dogs: a review. *J Am Vet Med Assoc*, 198(7), 1183-1192.
- Samsar E, 1978: Köpeklerde skrotal kesenin çıkarılmasıyla yapılan kastrasyon. *A.Ü. Vet.Fak. Dergisi*, 1, 37-47.
- Sarıerler M, Bellek CG, 2015: Erkek köpek ve kedilerde cerrahi kastrasyon teknikleri ile kastrasyonun avantaj ve dezavantajları. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics*, 1(3), 52-56.
- Anand LN, Vijayan E, 1998: Studies on effect of intratesticular administration of opioid peptides, naloxone or n-acetyl beta-endorphin antiserum on some testicular parameters in rats. *Indian J Physiol Pharmacol*, 42(1), 107-112.
- Sharma JD, Chinoy NJ, Dixit VP, 1983: Fertility control in vas occluded rats and the biochemical effects of ascorbic acid feeding. *Exp. Clin. Endocrinol*, 82 (3), 337-341.
- Spain CV, Scarlett JM, Houpt KA, 2004: Long-term risks and benefits of early-age gonadectomy in cats. *J Am Vet Med Assoc*, 224(3), 372-9.
- Sprondo RL, Black TN, Ames MJ, 1996: Effect of intratesticular injection of sodium fluoride on spermatogenesis. *Food Chem Toxicol*, 34(4), 377-384.
- Theubet G, Thun R, Hilbe M, Janett F, 2010: Effect of vaccination against GnRH (Bopriva®) in the male pubertal calf. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*, 152(10), 459-469.
- Towle HA, 2012: Testes and scrotum. In: Tobias KM, Johnston SA, eds. *Veterinary Surgery Small Animal*. Set, Missouri: Elsevier Saunders, 1903-1920.

*Bu yayın aynı isimli yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

**Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 18.YL.038 nolu proje olarak desteklenmiştir.

***Yazışma adresi: Cafer Tayer İŞLER

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye.

e-mail: cafer.isler@gmail.com

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniğine Getirilen Hastaların Değerlendirilmesi: 1742 olgu (2014-2017)

Ali HAYAT^{1,a,*}, Ünal YAVUZ^{1,b}, Kerem YENER^{1,c}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

^aORCID: 0000-0002-8597-0705, ^bORCID: 0000-0002-4981-2355, ^cORCID: 0000-0002-6947-0356

Geliş Tarihi: 30.09.2019

Kabul Tarihi: 15.12.2019

Özet: Yapılan çalışmada 2014-2017 yılları arasında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi cerrahi kliniğine getirilen hastaların değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Cerrahi kliniğine başvuran 1742 hastadan; %33.40'ını sığır, %26.40'ını köpek, %12.57'sini kedi, %8.15'ini koyun, %6.48'ini keçi, %4.76'sını kanatlı, %4.36'sını tazi, %2.35'ini ceylan %1.03'ünü at ve %0.45'ini tavşan oluşturmuştur. Değerlendirilen hastaların toplam sayılarının yıllara göre dağılımı 2014 yılından 2017 yılına doğru sırasıyla %14.12, %20.26, %25.71 ve %39.89 olarak giderek bir artış olduğu görülmüştür. Sunulan bu çalışma; hayvanlarda klinik olarak teşhis edilen hastalıklara göre incelendiğinde; köpek, kedi, kanatlı, tazi, keçi, ceylan ve tavşanda kemik dokusu ve iskelet sistemi lezyonları, genel yangısal olaylar ve travmatik lezyonlar; sığır ve koyunda genel yangısal olaylar, göbük lezyonları ve göz hastalıkları; atlarda ise genel yangısal olaylar, göz hastalıkları, kemik dokusu ve iskelet sistemi lezyonlarının daha fazla görüldüğü tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Cerrahi hastalıklar, Retrospektif çalışma, Sığır, Köpek, At.

Evaluation of patients referred to the surgery clinic of Harran University Veterinary Faculty: 1742 Cases (2014-2017)

Abstract: The aim of this study was to evaluate patients brought to the surgical clinic of Harran University Faculty of Veterinary Medicine between the years 2014 and 2017. Of the 1742 patients admitted to the surgical clinic, 33.40% were cattle, 26.40% were dogs, 12.57% were cats, 8.15% were sheep, 6.48% were goats, 4.76% were poultry, 4.36% were Greyhounds, 2.35% were gazelles, 1.03% were horses and 0.45% were rabbits. The distribution of the total number of patients evaluated by years increased from 2014 to 2017 by 14.12%, 20.26%, 25.71% and 39.89%, respectively. According to the presented study, clinically diagnosed diseases were bone tissue and skeletal system lesions, general inflammatory disorders and traumatic lesions in dogs, cats, poultry, greyhounds, goats, gazelles and rabbits; general inflammatory disorders, umbilical lesions and eye diseases in cattle and sheep; and general inflammatory disorders, ocular diseases, bone tissue and skeletal system lesions were more common in horses.

Keywords: Surgical diseases, Retrospective study, Cattle, Dog, Horse.

Giriş

Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi 1995 yılında kurulmuştur. Fakültenin altyapısının yetersiz olması nedeniyle 1998-2000 yılları arasında yöre çiftçisine gezici klinik hizmeti vermiş 2000 yılında Eyyübiye kampüsünde açılan hastane ile klinik hizmeti vermeye başlamıştır. Ancak eğitim öğretim yapılan hizmet binası ile hastane farklı yerleşkelerde olduğu için sınırlı bir hizmet verilmiş, 2010 yılında dekanlık binasının da aynı kampüse taşınmasından sonra düzenli hizmet verilmeye başlamıştır. Farklı zamanlarda Türkiye'nin değişik illerinde bulunan veteriner fakültesi cerrahi kliniğine tedavi amacıyla getirilen hastalarda görülen problemler ya ortaya çıktığı dönem ve hayvan türleri açısından (Altan ve ark., 2013; Cihan ve ark., 2006; Elma, 1992; Görgül ve ark., 2002; Karabulut ve Ünsaldı, 2001; Karabulut ve ark., 2001; Koç ve Alkan, 2001; Pamuk ve ark., 2009; Punc, 2001; Sarierler ve ark., 2003; Yanık ve

Çamlıoğlu, 1990) değerlendirilmiş, ya hastalıkların en çok görüldüğü organlar dikkate alınarak (Güzel ve Erden, 2000; İşler ve ark., 2008; Karabulut ve Ünsaldı, 2001; Kılıç ve ark., 2005; Koç ve Alkan, 2001; Sarierler ve ark., 2003; Süer ve Sağlam, 2006) incelenmiş veya karşılaşılan hastalıklar dikkate alınarak (Altan ve ark., 2013; Altuğ ve ark., 2017; Beşaltı ve ark., 2011; Cihan ve ark., 2006; Düzgün, 2005; İşler ve ark., 2015; Karabulut ve ark., 2001; Kaya ve ark., 2011; Koç ve Alkan, 2001; Yanmaz ve ark., 2014) retrospektif çalışmaları yapılmıştır. Elma (1992), Yanık ve Çamlıoğlu (1983) ve Görgül ve ark. (2002) tür ele alınarak yaptıkları incelemelerinde hastalıkların en çok sığırlarda ikinci sırada ise köpeklerde karşılaştıklarını ifade etmişlerdir. Sarierler ve Kılıç (2003), olguları tür ve karşılaştıkları hastalıklar açısından incelemiş ilk üç türün köpek, sığır ve kedi olduğunu bildirmişlerdir. Elma (1992),

cerrahi kliniğine getirilen hastaları tür sıralamasına göre sınıflandırdığında en çok sığırların daha sonra ise ikinci sırada atların olduğunu vurgulamıştır. Son yıllarda İşler ve ark. (2015)'nin yaptığı retrospektif çalışmada bu sıralamayı pet hayvanları, çiftlik hayvanları ve yabani kanatlılar olarak rapor etmişlerdir. Bölgesel olarak tür ve hastalıklar incelendiğinde önemli değişiklikler görülmektedir. Çalışmanın amacı; 2014-2017 yıllarında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi cerrahi kliniğine getirilen hastalarda görülen hastalıklardan hangilerinin daha yoğun olduğunu tespit edilmesi ve bu çalışmadan çıkan sonuçların sonraki yıllarda yapılacak çalışmalara yardımcı olması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

2014-2017 yılları arasında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi kliniğine getirilen değişik tür, ırk, yaş ve cinsiyette 1742 hastada 1769 hastalık incelenmiş, bu hastalıklar doku ve organ sistemleri yönünden değerlendirilmiştir (Tablo 3). İstatistiki değerlendirmeler yüzdelik ortalama değerler şeklinde yapılmıştır.

Bulgular

Kliniğe getirilen hasta hayvan sayılarının yıllara göre dağılımı ele alınarak incelendiğinde bu sayı 2014 ten 2017 ye kadar olan dönemde 2014 yılından 2017 yılına doğru sırasıyla düzenli bir artış gösterdiği tespit edilmiş bu artışın %14.12, %20.26, %25.713 ve %39.89 şeklinde olduğu görülmüştür (Tablo 1). Kliniğimize 2014-2017 yıllarında hastalık şikâyeti ile getirilen 1742 hasta da 1769 cerrahi vaka tespit edilmiş bu hastaların 582'sini (433 erişkin + 149 buzağı %33.40) sığır, 460'ını (%26.40) köpek, 219'unu (%12.57) kedi, 142'sini (%8.15) koyun, 113'ünü (%6.48) keçi, 83'ünü (%4.76) kanatlı, 76'sını (%4.36) tazi, 41'ini (%2.35) ceylan, 18'ini (%1.03) at ve 8'ini (%0.45) tavşan oluşturmuştur (Tablo 2). Kliniğimize getirilen hastaların %49.59'unu dişi hayvanlar oluştururken % 50.17'sini erkek hayvanlar %0.22'sini hermafrodit (buzağı) hayvanlar oluşturmuştur. Yıllara göre dişi ve erkek hastaların sayıları ile oranları Tablo 1'de sunulmuştur.

Türlere göre cerrahi yönünden en sık görülen hastalıklar sığırlarda, göbek lezyonları, genel yangısal olaylar ve göz hastalıkları; Köpeklerde, kemik dokusu ve iskelet sistemi hastalıkları, genel yangısal olaylar ve travmatik oluşumlar; Kedilerde, kemik dokusu ve iskelet sistemi hastalıkları, travmatik oluşumlar ve göz hastalıkları; Koyunlarda, genel yangısal olaylar, atresia ani-recti ve ürogenital sistem hastalıkları; Keçilerde, kemik dokusu ve

iskelet sistemi hastalıkları, genel yangısal olaylar ve ürogenital sistem hastalıkları; Kanatlılarda, kemik dokusu ve iskelet sistemi hastalıkları, genel yangısal olaylar ve travmatik oluşumlar; Tazıda, kemik dokusu ve iskelet sistemi hastalıkları, genel yangısal olaylar ve travmatik oluşumlar; Ceylanda, kemik dokusu ve iskelet sistemi hastalıkları, genel yangısal olaylar ve göz hastalıkları; Tavşanda, kemik dokusu ve iskelet sistemi hastalıkları, göz hastalıkları ve ürogenital sistem hastalıkları görülme sıklığı açısından en fazla tespit edilen hastalıklar olarak sıralanmıştır (Tablo 3).

Tartışma ve Sonuç

Klinik hastalarımızın dağılımı incelendiğinde birinci sırada sığır, ikinci sırada köpek, ikinci sırada kedi olduğu görülmektedir. Benzer çalışmada Elma (1992), SÜ Veteriner Fakültesinde yaptığı çalışmada birinci sırada sığır, ikinci sırada at, üçüncü sırada köpek gösterilmiş, Sarierler ve Kılıç (2003) Adnan Menderes Üniversitesinde yaptığı çalışmada birinci sırada köpek, ikinci sırada sığır, üçüncü sırada kedi sıralanmış, İşler ve ark. (2015) birinci sırada pet hayvanları, ikinci sırada çiftlik hayvanları ve üçüncü sırada yabani kanatlı hayvanları MKÜ veteriner fakültesi cerrahi kliniklerine en fazla getirilen hayvanlar olarak farklı bir sıralama bildirmiştir. Pamuk ve ark. (2009) benzer çalışmada birinci sırada sığır, ikinci sırada köpek ve üçüncü sırada kedi olarak sıralamayı yapmıştır. Buna göre mevcut çalışmada sıralama Pamuk ve ark. (2009)'nin yaptığı çalışma ile paralellik göstermektedir. Birinci sırada sığır olması Şanlıurfa ilinin gelir kaynağının tarım ve hayvancılığa dayanan bir il olma özelliğini koruduğu ikinci ve üçüncü sırada köpek ve kedi olması ise, son yıllarda pet hayvanlarının sayısında önemli oranda artış olduğunu göstermektedir. Ayrıca ceylan ve tazi gibi diğer yörelerde daha az oranda bulunan hayvanların sayıca önem arz ettiği görülmektedir. Bu durumun yöre coğrafyasının bir sonucu olarak açıklanabilir.

Kliniğe getirilen hayvanlar cinsiyet yönünden incelendiğinde erkek hayvanların dişi hayvanlardan fazla olduğu görülmektedir. Bu parametre İşler ve ark. (2015)'nin yaptığı çalışma ile uyumlu bulunmuştur.

Bazı yazarların (Elma, 1992; Pamuk ve ark., 2009; Sarierler ve ark., 2003) daha önce yaptıkları retrospektif çalışmaları incelendiğinde atların cerrahi kliniğindeki sayısı önem arz ederken son yıllarda İşler ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada ve mevcut çalışmada bu sayının oldukça düşük bir düzeyde kalması atların iş gücünden yararlanmanın azalması şeklinde açıklanabilir. Yıllara göre cerrahi kliniğine başvuran hayvanlar incelendiğinde, gerek hayvan sevgisi bilincinin

Tablo 1. Yıllara göre cinsiyet ve hasta sayılarının dağılımı.

HAYVAN CİNSİYETİ	2014	2015	2016	2017	Toplam
Erkek	133 (%54.06)	171 (%48.44)	222 (%49.55)	348 (%50.07)	874 (%50.17)
Dişi	113 (%49.60)	182 (%51.56)	224 (%50)	345 (%49.64)	864 (%49.59)
Hermafrodit	-	-	2 (%0.45)	2 (%0.29)	4 (%0.22)
Toplam	246 (%14.12)	353 (%20.26)	448 (%25.71)	695 (%39.89)	1742

Tablo 2. Hasta türlerinin yıllara göre dağılımı.

HAYVAN TÜRÜ	2014	2015	2016	2017	Toplam
Köpek	83 (%33.73)	96 (%27.19)	98 (%21.87)	183 (%26.33)	460 (%26.40)
Kedi	31 (%12.60)	44 (%12.46)	34 (%7.58)	110 (%18.82)	219 (%12.57)
Siğir	58 (%23.55)	108 (%30.68)	177 (%39.5)	239 (%34.38)	582 (%33.40)
At	4 (%1.62)	7 (%1.98)	3 (%0.66)	4 (%0.57)	18 (%1.03)
Kanatlı	15 (%6.09)	16 (%4.53)	18 (%4.01)	34 (%4.89)	83 (%4.76)
Koyun	10 (%4.06)	37 (%10.48)	35 (%7.81)	60 (%8.63)	142 (%8.15)
Keçi	12 (%4.87)	28 (%7.93)	30 (%6.69)	43 (%6.18)	113 (%6.48)
Ceylan	7 (%2.84)	6 (%1.69)	22 (%4.91)	6 (%0.86)	41 (%2.35)
Tazı	22 (%8.95)	11 (%3.12)	30 (%6.69)	13 (%1.87)	76 (%4.36)
Tavşan	4 (%1.62)	-	1 (%0.23)	3 (%0.43)	8 (%0.45)
Toplam	246	353	448	695	1742

Tablo 3. Hastalıkların Türleri Göre dağılımı

HASTALIK	Köpek	Kedi	Siğir	At	Kanatlı	Koyun	Tavşan	Keçi	Ceylan	Tazı
Genel yangısal olaylar	130 (%2.80)	22 (%9.82)	76 (%12.44)	11 (%55)	23 (%26.74)	37 (%26.24)		26 (%23)	6 (%12.5)	16 (%20.51)
Şekilsel bozukluklar	1 (%0.21)		2 (%0.33)							
Tümöral kiteller	8 (%1.72)	1 (%0.45)	36 (%5.89)		2 (%2.94)	3 (%2.13)		5 (%4.42)		
Travmatik oluşumlar	48 (%10.34)	44 (%19.64)	28 (%4.58)	2 (%10)	10 (%11.62)	5 (%3.54)		7 (%6.19)	2 (%8.33)	14 (%17.95)
Yaraların septik ve aseptik komp.	9 (%1.93)	1 (%0.45)	4 (%0.65)							
Deri hastalıkları	3 (%0.65)									
Bursitis	3 (%0.65)		3 (%0.49)							
Kas hastalıkları	2 (%0.43)		4 (%0.65)							
Sinir dokusu hastalıkları	1 (%3.01)	12 (%5.36)	13 (%2.13)		2 (%2.94)	3 (%2.13)	1 (%12.5)	7 (%6.19)	1 (%4.17)	1 (%1.28)
Kemik dokusu ve iskelet sistemi hastalıkları	157 (%33.84)	85 (%37.95)	45 (%7.36)	2 (%10)	40 (%46.51)	12 (%8.51)	5 (%6.25)	27 (%23.89)	11 (%45.83)	35 (%44.87)
Eklemler hastalıkları	14 (%3.01)	3 (%1.34)	71 (%11.62)	1 (%5)	1 (%1.47)	7 (%4.96)		5 (%4.42)	1 (%4.17)	6 (%7.69)
Göz hastalıkları	29 (%6.25)	28 (%12.5)	72 (%11.78)	3 (%15)	6 (%6.98)	5 (%3.54)	1 (%12.5)	7 (%6.19)	2 (%8.33)	3 (%3.85)
Kulak hastalıkları	3 (%0.65)									
Ağız boşluğu hastalıkları	9 (%1.94)	5 (%2.23)	4 (%0.65)							
Farenks ve İarenks hastalıkları	6 (%1.29)		8 (%1.30)							
Peritonitis			1 (%0.16)						1 (%4.17)	
Gastrointestinal sistem hastalıkları	6 (%1.29)	5 (%2.23)	21 (%3.44)		2 (%2.94)	3 (%2.13)		1 (%0.88)		
Üregenital sistem hast.	13 (%2.80)	16 (%7.14)	7 (%1.15)			14 (%9.93)	1 (%12.5)	12 (%10.62)		1 (%1.28)
Tırnak deformasyonları	1 (%0.22)	1 (%0.45)	20 (%3.27)	1 (%5)	1 (%1.47)	9 (%6.38)		6 (%5.30)		
Ayak hastalıkları	1 (%0.22)		6 (%0.98)			3 (%2.13)				1 (%1.28)
Prolapsus recti	3 (%0.65)							4 (%3.54)		
Atreza ani-recti			20 (%3.27)			28 (%19.85)		2 (%1.77)		
Arçure-bouleture			23 (%3.76)							
Atreza coli			2 (%0.32)							
Diğer doğumsal anomaliler	4 (%0.86)		17 (%2.78)			5 (%3.54)		1 (%0.88)		
Göbek lezyonları			128 (%20.95)			7 (%4.96)		3 (%2.65)		1 (%1.28)
Toplam	464	224	661	20	86	141	8	113	24	78
1769	% 26.22	% 12.66	%34.53	%1.13	% 4.86	% 7.97	% 0.45	% 6.38	% 1.35	% 4.40

artması gerekse gelişen teknoloji ile daha önce teşhis ve tedavideki güçlüklerin azalması tedavisi yapılamayan hayvan hastalıklarının teşhis ve tedavilerinin yaygınlaşarak yapılması cerrahi

kliniğine getirilen köpek ve kedi sayısında ki artışın sebepleri arasında sayılabilir.

Tüm hayvan gruplarında en fazla karşılaşılan üç cerrahi problemler incelendiğinde; hayvan türlerine göre köpek, kedi, kanatlı, tazı, keçi, ceylan ve tavşan

da kemik dokusu ve iskelet sistemi lezyonları, genel yangısal olaylar ve travmatik lezyonlar ilk üç sırayı alırken sığır ve koyun da genel yangısal olaylar, göbük lezyonları ve göz hastalıkları, atlar da ise genel yangısal olaylar, göz hastalıkları, kemik dokusu ve iskelet sistemi lezyonları oluşturmuştur. Bu verilerin daha önce (Elma, 1992; İşler ve ark. 2015; Pamuk ve ark. 2009; Sarierler ve ark. 2003) yapılan retrospektif çalışmalar ile karşılaştırıldığında Elma, (1992) atlarda diş bozukluklarının, İşler ve ark. (2015), göz hastalıklarının daha fazla oranda görüldüğünü ifade etmelerine rağmen diğer lezyonlar göz önüne alınarak yapılan incelemede mevcut çalışmada da hemen hemen benzer olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, 2014-2017 yılları arasında Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi cerrahi kliniğine tedavi amacı ile getirilen 1742 hasta; teşhis edilen hastalıklar yönünden değerlendirildiğinde en sık getirilen hayvanlar ve bu hayvanlarda karşılaşılan hastalıkların köpek, kedi, kanatlı, tazi, keçi, ceylan ve tavşan gibi küçük hayvanlarda kemik dokusu ve iskelet sistemi lezyonları, genel yangısal olaylar ve travmatik lezyonlar; sığır ve koyun gibi geviş getiren hayvanlarda da genel yangısal olaylar, göbük lezyonları ve göz hastalıkları; atlarda ise genel yangısal olaylar, göz hastalıkları, kemik dokusu ve iskelet sistemi lezyonlarının olduğu tespit edilmiştir.

Kaynaklar

- Altan S, Alkan F, Koç Y, Özdemir Ö, Yavuz O, 2013: Retrospective evaluation of canine neoplasms in Konya region between 2006 and 2010. *Eurasian J Vet Sci*, 29, 185-191.
- Altuğ ME, Devenci MZY, İşler CT, Yurtal Z, Gönenci R, 2017: Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniği'ne Getirilen Ortopedi Olgularının Genel Değerlendirilmesi: 564 Olgu (2009-2014). *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 6(2): 158-162.
- Besaltı Ö, Pekcan Z, Çalışkan M, Aykut ZG, 2011: A retrospective study on traumatic diaphragmatic hernias in cats. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 58, 175-9.
- Cihan M, Aksoy Ö, Özyayın İ, Özba B, Baran V, 2006: Buzağlarda umbilikal lezyonların değerlendirilmesi: 322 olgu (1996-2005). *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 12, 141-145.
- Düzgün O, 2005: A retrospective study: Evaluation of patellar luxation cases in cats. *Turk J Vet Anim Sci*, 29, 279-283.
- Elma E, 1992: SÜ Veteriner fakültesi cerrahi kliniğine 1985-1990 yılları arasında getirilen hastalara toplu bir bakış. *SÜ Vet Fak Derg*, 8, 58-60.
- Görgül OS, Seyrek-İntaş D, Gül NY, Çeçen G, Sağlık Y, Çelimli N, Kanık S, 2002: Bursa yöresinde sığırlarda karşılaşılan cerrahi hastalıkların değerlendirilmesi: 565 olgu (1996-2001). VIII. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi, Van, Türkiye, pp. 75-76.
- Güzel N, Erden H, 2000: Aydın yöresi sığırcılık işletmelerinde ayak hastalıklarının dağılımı. *Vet Cer Derg*, 6, 8-10.
- İşler CT, Bulut S, Kılıç S, 2008: Hatay bölgesinde yetiştirilen sığırlarda karşılaşılan göz problemlerinin insidanslarının araştırılması. *FÜ Sağ Bil Derg*, 22, 255-259.
- İşler CT, Altuğ ME, Devenci MZY, Gönenci R, Yurtal Z, 2015: Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner fakültesi cerrahi kliniği'ne Getirilen Olguların Değerlendirilmesi, 1293 olgu (2014-2017). *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 29 (2), 97-102.
- Karabulut E, Ünsaldı S, 2001: 1991-2000 yılları arasında F.Ü. Veteriner Fakültesi cerrahi kliniği'ne getirilen hayvanlardaki göz hastalıkları olguları, *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 15, 361-366.
- Karabulut E, Ünsaldı S, Durgun T, 2001: 1991-2000 yılları arasında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi cerrahi kliniği'ne getirilen buzağlardaki doğumsal anomali olguları, *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 15, 367-374.
- Kaya M, Okumuş Z, Doğan E, Çetin EM, Yanmaz LE, 2011: Erzurum yöresindeki buzağlarda doğumsal anomalilerin görülme sıklığı ve sağkalım oranları. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 25, 83-93.
- Kılıç N, Yayınçıl OÖ, Derincegöz R, 2005: Surgical correction of umbilical disease in calves: a retrospective study of 95 cases. *YYÜ Vet Fak Derg*, 16, 35-38.
- Koç Y, Alkan F, 2001: Evcil hayvanlarda testis, penis ve prepusium hastalıklarının klinik değerlendirilmesi. *Vet Bil Derg*, 17, 67-74.
- Pamuk K, Sarıtaş K, Demirkan İ, Korkmaz M, 2009: Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi cerrahi kliniğine getirilen hastaların değerlendirilmesi 1090 olgu (2001-2008). *Kocatepe Vet J*, 2, 29-33.
- Punch PA, 2001: Reptospective study of the succes of the medical and surgical treatment of wild Australian Raptors. *Aust Vet J*, 79, 747-752.
- Sarıerler M, Kılıç N, 2003: Adnan Menderes Üniversitesi (ADÜ) veteriner fakültesi cerrahi kliniğine getirilen hastalara toplu bir bakış (1999-2003). *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, 22, 75-79.
- Süer C, Sağlam M, 2006: Köpeklerde arka ekstremitte travmatik lezyonlarının dağılımı ve sağaltımı üzerine klinik çalışmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 53, 15-23.
- Yanık K, Çamoğlu A, 1990: 1983-1989 Yılları arasında karşılaşılan cerrahi hastalıkların toplu bir değerlendirilmesi. II. Ulusal Veteriner Cerrahi Kongresi, Mersin, Türkiye, pp. 70-75.
- Yanmaz LE, Kaya M, Doğan E, Okumuş Z, 2014: Sığır ve buzağlardaki kırık olgularının değerlendirilmesi. *YYÜ Vet Fak Derg*, 25, 23-26.

*Yazışma Adresi: Ali HAYAT

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye

e-mail: ahayat@harran.edu.tr

The Effects of Drinking Water Treated with Energized Oxygen on Fattening Performance in Beef Cattle

Volkan KONAC^{1,a}, Aykut Asım AKBAS^{2,b,*}, Mustafa SAATCI^{3,c}

¹Degree of Veterinary Medicine, Günaç Veterinary Clinic, 32090, Isparta-Turkey

²Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Science, Burdur-Turkey

³Muğla Sıtkı Koçman University, Fethiye Agriculture Faculty, Department of Animal Science, Fethiye-Turkey

^aORCID: 0000-0002-4471-3905, ^bORCID: 0000-0003-2235-9439 ^cORCID: 0000-0003-3697-8804

Geliş Tarihi: 10.10.2019

Kabul Tarihi: 12.12.2019

Abstract: This study was conducted to determine the potential effects of drinking water enriched with oxygen on fattening performance and dressing percentages of cattle in a commercial beef enterprise. In the study, a total of 20 male 9-10 month-old cattle, including 10 Simmental cattle and 10 Holstein cattle were used. The animals were equally divided into two groups. While the animals in the first group consumed current drinking water at the enterprise, those in the second group consumed drinking water enriched with oxygen. While the live weights of Holstein and Simmental cattle were 571.60 kg and 615.00 kg, respectively at the end of the semi-annual fattening period, the differences between breeds were statistically significant ($P < 0.05$) for all periods, except for the first month. Daily live weight gains of Holstein cattle were detected as 633 g and 1133 g, respectively at the beginning (1st month) and the end (6th month) of the fattening period. The same values for Simmental breed were 933 g and 1233 g, respectively. The animals in the group consuming water enriched with oxygen had relatively higher values than the well water group for live weight change and daily live weight gains during the fattening periods. However, these differences were not statistically significant ($P > 0.05$). In addition, the average feed conversion ratios during fattening were 7.18. and 7.26 respectively for the oxygen- enriched drinking water group and the well water group. It was determined that Simmental cattle (56.55%) had higher hot dressing percentage value than Holstein cattle (54.83%) and also those consuming water enriched with oxygen (56.02%) had higher dressing percentage value (55.36%) than those consuming well water. This was the first study on potential effects of drinking water with energized oxygen on fattening performance of cattle. Thereby, it is thought that the present study would provide a data archive for further studies.

Keywords: Fattening Performance, Oxygen, Water.

Enerjilendirilmiş Oksijen ile Muamele Edilmiş İçme Suyunun Besi Danalarında Performans Üzerine Etkisi

Abstract: Bu çalışma ticari bir besi işletmesinde sığırların içme sularının oksijenle zenginleştirilerek hayvanların besi performansı ile karkas randımanları üzerine olası etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada 9-10 aylık yaşlardaki 10' ar baş Simental ve Holştayn olmak üzere toplam 20 baş erkek dana kullanılmıştır. Hayvanlar eşit sayıda iki gruba ayrılarak, birinci grup, işletmede halihazırda bulunan içme suyundan; ikinci gruptaki hayvanlar ise oksijenle zenginleştirilmiş içme suyundan tüketmiştir. Holştaynların 6 aylık besi sonundaki canlı ağırlığı 571,60 kg olurken; Simentallerin ise 615 kg olarak belirlenmiş, ilk ay hariç tüm dönemler için ırklar arasındaki farklar istatistiki açıdan önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Holştaynların besi başında (1. ay) ve besi sonundaki (6. ay) günlük canlı ağırlık artışı değerleri sırasıyla 633 g ile 1133 g olurken; aynı dönemlerdeki Simental ırkı için 933 g ile 1.233 g olarak belirlenmiştir. Çalışmada oksijenle zenginleştirilmiş su içen gruptaki hayvanların besi süresince gerek canlı ağırlık değişimi gerek de günlük canlı artışı değerleri açısından kuyu suyu içen gruba göre nispeten daha yüksek değerlere ulaştığı görülmekle birlikte, söz konusu farklılıklar istatistiki önem teşkil etmemiştir ($P > 0.05$). Yine oksijenle zenginleştirilmiş içme suyunu tüketen grubun besi süresindeki ortalama yemden yararlanma oranı 7.18 olurken; aynı oran kuyu suyu tüketenler için ise 7.26 olmuştur. Çalışmada besi süresi sonrasında kesime sevk edilen Simentallerde (%56.55), Holştaynlara göre (%54.83), zenginleştirilmiş su tüketenlerde de (%56.02) kuyu suyu tüketenlere göre (%55.36) daha yüksek sıcak karkas randımanı değerleri belirlenmiştir. Çalışma, enerjilendirilmiş oksijenli içme suyunun sığırlarda besi performansı üzerine olası etkilerinin belirlenmesine yönelik ilk olma özelliğini taşımakta ve sonraki araştırmalar için de önemli bir veri niteliğinde olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Besi Performansı, Oksijen, Su.

Introduction

Besides the production amount of animal products, consumption amount is also taken into consideration as an important criterion in comparing development levels of countries (Sariozkan et al., 2007). Considering the shortage in red meat production against the rapid population growth, it is required to increase both yield and consumption of animal products by utilizing them optimally (Akdag, 2004).

Despite rapidly growing world population, especially the decreased number of the slaughter animals reared healthfully in Turkey has led to the deficiency of animal protein. Even though the rates of the culture animals and crossbred animals in the cattle population have increased in almost all the regions of Turkey primarily in the Marmara and Aegean regions, this is not enough to meet the red meat demand (Akman et al., 2005).

In this respect, the quality in fattening enterprises should be enhanced in quality and quantity. Fattening is called as the process of applying a special feed to animals in order to produce meat in the quality and quantity demanded by consumers (Akbulut and Tuzemen, 1994) and it is a crucial activity in terms of increasing meat amount obtained from slaughtered animals, enhancing their quality, and utilizing various animal feeds and industrial residues better (Catikkas, 2015). In addition, fattening is a part of business that contributes to income for breeders. There are lots of factors such as age, management, type of diet, pre- and post-slaughter conditions affecting beef quality, carcass traits and profitability of the fattening of cattle. Breed is one of the most important factors. The live weight gains and feed consumption are not identical for different cattle breeds (Mundan et al., 2012; Guerrero et al., 2013). Holstein is a widely reared breed for milk production in the world and also about 78% of the European breeds in Turkey are Holstein. The males of this breed are mainly used for beef production, as well. Moreover, Simmental is one of the other European breeds raised in Turkey (Catikkas and Koc, 2017)

Besides the quality of feed, it is important for animals to consume continuously clean and quality water in order to increase profitability in fattening enterprises. The quality of water used for cattle may be generally described by physical properties such as turbidity, color, and temperature as well as chemical properties such as hardness, alkalinity, pH, nitrate, nitrite, and metals and microbiological properties such as bacteria and virus (Unlu et al., 2008).

“Energized oxygen (EO)” is a gas that is generated from the stratosphere through sunrays and takes all its strength and efficiency from oxygen through Profoks generators. This technology derives the oxygen from the air (Protais et al., 2003; Yapiçier and Saatçı, 2018). Some studies have revealed that animals such as chickens and turkeys grow heavier for a given grain consumption if their drinking water has elevated oxygen levels (Hough and Carlson, 1998). It is observed that the scientific interest has not been shown sufficiently on the yield of animals even though water is important in terms of their life functions. The aim of the study was to investigate the effect of the drinking water treated with energized oxygen on the fattening performance in order to enhance the quality of water consumed by animals.

Material and Methods

Animals and Data Collection: The study was conducted using a total of 20 male cattle aged 9-10 months including 10 Simmental and 10 Holstein cattle in a commercial fattening enterprise, operating in Isparta province, between 2017-2018. The animals were equally separated into two groups (5 Holstein and 5 Simmental in each) with 13 m² paddock surface per animal. While the current drinking water of the enterprise (well water) was used in the first group, the animals in the second group drank the drinking water saturated by high energy oxygen generator (profoks) installed as a separate main line by a private company in the well water system of the enterprise. The generator used in the study operates on a 24-hour basis. The amount of water consumed by each group was not detected.

The male animals in both groups (those consuming well water and enriched water) were fattened for 6 months. During the fattening process, the animals were fed with commercial feed concentrate containing 14.00% CP and 2600 kcal/kg ME along with hay and barley and consumed water *ad libitum*. They were weighed on a monthly basis and their yield records such as the live weight changes, daily live weight gains and feed conversion ratio were kept during certain periods of fattening and throughout the fattening period. At the end of the fattening period, all the animals were slaughtered and their hot carcass weights and dressing percentages were determined.

Approval from the Burdur Mehmet Akif Ersoy University Local Ethics Committee on Animal

Experiments (06.12.2017, resolution number: 351) were obtained for the study.

Statistical Analyses: All statistical analyses were carried out using Minitab 16.1 statistical software (2011). The effects of breed and drinking water on fattening performance and dressing percentages were analyzed by using ANOVA GLM procedure based on initial age and liveweights as a linear covariate. Additionally, Tukey's analysis was employed in controlling significance of differences between sub-groups ($P < 0.05$). When the dual interactions between the groups were examined, the interaction analyses were not performed since no statistical significance was found.

Table 2 shows the effects of breed and drinking water status on the live weights at different periods of fattening. The live weights of Holstein and Simmental at the first, third, and last month were detected as 426.30 kg and 427.20 kg, 479.50 kg and 503.70 kg; 571.60 kg and 615.00 kg, respectively, and these values were statistically significant ($P < 0.05$), except for the first month.

Results

Table 1 shows the values of the animals at the beginning of fattening period. According to this table, initial age and live weights were detected as 298.00 day and 407.20 kg for Holstein cattle and 286.20 day and 399.10 kg for Simmental cattle, respectively. The initial live weight of the animals consuming water enriched with oxygen was relatively lower (395.70 kg) than the other group (411.60 kg). The animals consuming water enriched with oxygen had higher values than the other group in terms of change of live weights during the fattening periods. However, these differences were not statistically significant ($P > 0.05$).

Daily live weight gains of animals in the oxygen-enriched drinking water group were detected as 1066 g and 1333 g, respectively at the beginning (1st month) and the end (6th month) of the fattening period. These values of the other group (well water) were also 833 g and 1266 g, respectively (Table 3). Daily live weight gains were detected as 633 g and 1133 g for Holstein cattle and 933 g and 1233 g for Simmental cattle, respectively for the abovementioned periods.

Table 4 shows the feed conversion values of the groups. According the table, relatively high values were detected, the average feed conversion ratio of the oxygen- enriched drinking water group was 7.18. The ratio was detected as 7.26 for the other group. In addition, the differences between the groups were not statistically significant

($P > 0.05$). Table 5 shows the effects of breed and drinking water on hot carcass and dressing percentages. As seen in this table, it was determined that Simmental cattle had higher hot dressing percentage value (56.55%) than Holstein cattle (54.83%) and this was statistically significant ($P < 0.05$). While the oxygen-enriched drinking water group had higher value (56.02%) than the well water group (55.36%) in terms of dressing percentages, there was no significant difference between the groups ($P > 0.05$).

Table 1. Values of cattle at the beginning of fattening.

Traits	Holstein	Simmental
Initial age (day)	298.00±8.90	286.20±7.75
Initial live weight (kg)	407.20±8.30	399.10±8.13
	Consumed water enriched with oxygen	Consumed well water
Initial age (day)	286.60±7,56	297.60±8.12
Initial live weight (kg)	395.70±7,50	411.60±7.69

Discussion and Conclusions

In the literature review, no study investigating the effect of the drinking water treated with energized oxygen on the fattening performance was found. Therefore, this study is important as it is the first study from this aspect.

When both breeds and both groups were assessed within the scope of the study, it was observed that the age at which the animals started fattening varied between 286-298 days. Likewise, some researchers (Akbulut and Tuzemen, 1994; Akcan et al., 1991; Ozdogan, 2007) have reported that the age to start fattening is 8-10 months in Holstein and Simmental cattle.

In the study, the live weights at the beginning and end (6th month) of the fattening were determined to be 407.20 kg and 571.60 kg for Holstein male cattle and 399.10 kg and 615.00 kg for Simmental male cattle, respectively and the total live weight gain for 6-month fattening period was 164.4 kg and 215.9 kg, respectively for those breeds. These live weight gains determined for Holstein cattle in the present study were found to be higher than the values reported by Tuzemen et al. (1990) and Gunes et al. (2001) and lower than the values reported by Basaran and Akcan (1997) and Erkus et al. (1990). The live weight gains found in this study were also lower than the values reported by Altuntas and Arpacık (2004) for CAA Simmental cattle and by Catikkas (2015) and Aslan (2009) for Holstein and Simmental cattle. This was considered to be associated with the fact that the animals were more or less affected by environmental effects during fattening.

Table 2. Least squares for the effects of breed and drinking water status on live weight changes of the cattle during fattening periods (kg) ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$).

Trait	FATTENING PERIOD					
	1 st month	2 nd month	3 rd month	4 th month	5 th month	6 th month
Breed						
Holstein	426.30±2.54	447.70±2.15	479.50±3.47	510.10±3.96	537.40±3.25	571.60±2.57
Simmental	427.20±2.48	464.50±3.33	503.70±4.01	540.70±4.17	578.30±4.07	615.00±3.33
P	0.832 ^{ns}	0.041*	0.016*	0.025*	0.009**	0.015*
Drinking water status						
Consumed water enriched with oxygen	427.10±2.35	460.90±4.75	502.70±3.47	533.80±3.77	563.00±4.21	603.80±2.05
Consumed well water	426.20±3.15	451.30±9.75	485.30±4.03	519.00±2.90	553.01±3.74	583.30±3.29
P	0.809 ^{ns}	0.243 ^{ns}	0.100 ^{ns}	0.207 ^{ns}	0.481 ^{ns}	0.248 ^{ns}

^{ns}: non-significant (P>0.05). *: P<0.05, **: P<0.01

Table 3. Least squares for the effects of breed and drinking water status on daily live weight gains of the cattle during fattening periods (kg) ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$).

Trait	FATTENING PERIOD					
	1 st month	2 nd month	3 rd month	4 th month	5 th month	6 th month
Breed						
Holstein	0.633±0.044	0.700±0.043	1.066±0.069	1.033±0.042	0.900±0.073	1.133±0.070
Simmental	0.933±0.083	1.233±0.76	1.300±0.022	1.235±0.061	1.266±0.061	1.233±0.061
P	0.832 ^{ns}	0.020*	0.045*	0.633 ^{ns}	0.013*	0.043*
Drinking water status						
Consumed water enriched with oxygen	1.066±0.046	1.100±0.027	1.266±0.047	1.033±0.044	1.000±0.072	1.333±0.048
Consumed well water	0.833±0.076	0.835±0.073	1.133±0.072	1.130±0.067	0.966±0.046	1.266±0.079
P	0.819 ^{ns}	0.202 ^{ns}	0.188 ^{ns}	0.361 ^{ns}	0.131 ^{ns}	0.196 ^{ns}

^{ns}: non-significant (P>0.05). *: P<0.05

Table 4. Feed conversion ratio of groups in fattening periods ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$).

Fattening period	Consumed water enriched with oxygen	Consumed well water	P
1 st month	5.42±0.127	5.44±0.108	0.556 ^{ns}
2 nd month	5.31±0.224	5.39±0.207	0.613 ^{ns}
3 rd month	6.52±0.186	6.63±0.343	0.596 ^{ns}
4 th month	7.53±0.176	7.61±0.179	0.483 ^{ns}
5 th month	9.08±0.331	9.19±0.404	0.545 ^{ns}
6 th month	9.23±0.406	9.33±0.226	0.301 ^{ns}
Overall	7.18±0.247	7.26±0.314	0.642 ^{ns}

^{ns}: non-significant (P>0.05)

Table 5. Least squares for the effects of breed and drinking water status on hot carcass weight and dressing percentage ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$).

Traits	Hot carcass weight (kg)	Dressing percentage (%)
Breed		
Holstein	317.61±6.67	54.83±1.06
Simmental	343.69±5.73	56.55±1.24
P	0.015*	0.001**
Drinking water status		
Consumed water enriched with oxygen	337.61±5.45	56.02±0.89
Consumed well water	323.69±6.01	55.36±0.95
P	0.165 ^{ns}	0.128 ^{ns}

^{ns}: non-significant (P>0.05). *: P<0.05, **: P<0.01

In the study, it was observed that the oxygen-enriched drinking water group had relatively higher live weight gain during the fattening compared to the group consuming well water and daily live weight gains were in favor of the oxygen-enriched drinking water group ($P>0.05$).

Likewise, in a study (Akbulut and Tuzemen, 1994) in which Holstein and Simmental cattle were fattened together, lower daily live weight gains were reported than the values reported in this study for Simmental cattle. On the other hand, Karakas (2002), Dannenberger et al., (2006) and Catikkas (2015) reported relatively higher (1340 g and 1350 g) daily live weight gains than those determined in the present study. In this study, daily live weight gain differences between Simmental and Holstein breeds were found to be statistically significant in general ($P<0.05$). Some studies indicating similarity with the breeds in this study (Karakas, 2002; Dannenberger et al., 2006; Ozdogan, 2007) have revealed that the effect of breed is statistically significant. There are also studies reporting that the effect of breed on daily live weight gain is not statistically significant (Akbulut and Tuzemen, 1994; Aslan, 2009; Catikkas, 2015).

In the study, group feeding was performed for both fattening groups (those that drank oxygen-enriched water and well water) due to the difficulties in determining the individual feed consumption of animals, and their feed conversion ratio (FCR) during fattening was determined. FCRs in the first, third, and sixth months were 5.42, 6.52 and 9.23, respectively, for the oxygen-enriched drinking water group and 5.44, 6.63 and 9.33, respectively, for the well water group. Concerning the FCRs (7.18 and 7.26) calculated in the six-month fattening period, it was determined that the oxygen-enriched drinking water group had a better performance in terms of FCR than the other group but this was not statistically significant ($P>0.05$). This may be associated with the fact that enhancing the quality of drinking water may cause an increase in the fattening performance of animals. Some studies in which the sulfate level was increased and the quality of the drinking water was impaired (Lonerakan et al., 2001; Zinn et al., 1997) reported that fattening performance values of cattle decreased, which supports this result. In addition, some researchers reported the positive effect of using energized oxygen treatment as a disinfectant for poultry sector (Yapıcıer and Saatçı, 2018; Sarı et al., 2018).

The FCRs determined in the study were found to be higher than the values reported by Akbulut and Tuzemen (1994) for Brown Swiss, Holstein and Simmental breeds (6.39, 6.74 and 6.27), those

reported by Ozdoğan (2007) for Holstein and Brown breeds (6.85 and 6.40), and those reported by Yanar et al., (1990) for Brown Swiss (6.78 and 6.91). Also, the FCRs found in the present study were lower than the FCRs reported by different researchers (Altuntas and Arpacık, 2004; Baspınar et al., 1999; Gunes et al., 2001; Karakas, 2002) for Holstein and Simmental breeds.

All the animals completing fattening periods were slaughtered. It was determined that the hot carcass weight and dressing percentages of Simmental cattle (343.69 kg and 56.55%) were higher than the hot carcass weight and dressing percentages of Holstein cattle (317.61 kg and 54.33%) and the oxygen-enriched drinking water group had higher values than the other group and the difference between the breeds was statistically significant ($P<0.05$) and the difference between the groups was not statistically significant ($P>0.05$). The fact that the carcass values were observed in favor of Simmental cattle was thought to be caused by breed characteristics. On the other hand, the fact that the values were observed in favor of the oxygen-enriched drinking water group was thought to be associated with the positive effect of the water quality.

The dressing percentages are one of the important factors determining carcass quality. The dressing percentages determined in the present were compatible with a study (Akbulut and Tuzemen, 1994), examining the dressing percentages of the Holstein and Simmental cattle fattened at the age of 8-12 months. On the other hand, the values reported by Danneberger et al. (2006) have similarities in terms of Simmental cattle. Also, a study in which Holstein and Simmental cattle were fattened and slaughtered (Aslan, 2009), reported that yield values were quite higher; whereas, Catikkas (2015) reported relatively lower hot carcass yield values than the values determined in the present study.

Fattening material output from Holstein cattle, the mostly reared culture breed in Turkey, for certain periods may be evaluated as a model that may be a solution for red meat deficit. Also, it is important to utilize the breeds with high fattening performance, slaughter and carcass characteristics in order to meet the increasing demand in Turkey and Simmental cattle, being one of these breeds, included in the study, is considered valuable for the sector.

Several researchers have conducted the studies on the fattening performance and slaughter properties of the breeds, which were used in this study and the importance of which was stated above, under different conditions.

It is seen that the scientific interest has not been shown sufficiently on the yield of animals even though drinking water is important in terms of their life functions. However, the experimental design for enhancing the quality of water consumed by the animals in a commercial fattening enterprise by a device producing energized oxygen and revealing comparatively the fattening performance and slaughter properties of beef cattle in the experimental group and control group is crucial as being the first in its field. Also, the results indicating that the oxygen-enriched drinking water group had relatively higher values of both fattening performance and slaughter characteristics than well water group even though these values were not statistically significant are thought to be important in terms of providing opportunity for developing further projects.

Acknowledgments

This study was prepared from the first author's Master thesis and was supported financially by the Burdur Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Projects Commission (MAKÜ BAP), Project No: 0491-YL-17. The authors would like to thank to OMRAK Corporation

References

- Akbulut O, Tuzemen N, 1994: Fattening performance and carcass characteristics of Brown Swiss, Holstein and Simmental young bulls subjected to fattening at 8. and 12. month age. *Atatürk Ü Zir Fak Derg*, 25(2),134-144.
- Akcan A, Arpacık R, Generen G, Karagenc L, 1991: The effect of starting time on fattening performance in Holstein bulls. *Lalahan Zoot Araşt Enst Derg*, 31(3-4), 9-16.
- Akdag F, 2004: The effect of slaughter age on slaughter and carcass characteristics in indigenous water buffaloes. *J Fac Vet Med İstanbul Univ*, 30(2), 79-86.
- Akman N, Tuncel E, Yener M, Kumlu S, Ozkutuk K, Tuzemen N, Yanar M, Koc A, Sahin O, Kaya CY, 2005: Türkiye'de sığır yetiştiriciliği. In: Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Ankara.
- Altuntas M, Arpacık R, 2004: Fattening performance and optimum slaughter weights of Simmental bulls in different starting ages. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg*, 44(1), 7-16.
- Aslan E, 2009: Comparison of the fattening performance of Holstein Friesian, Brown Swiss and Simmental breed cattle in feedlot at Middle Anatolian condition. Master Thesis, Selcuk University The Graduate School of Natural and Applied Sciences, Konya.
- Baspınar H, Ogan M, Balcı F, 1999: Fattening performance and carcass characteristics of polish holstein bulls. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg*, 39(2), 1-6.
- Basaran A, Akcan A, 1997: The effects of season on fattening performance, slaughter and carcass characteristics and feeding cost of Holstein bulls. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg*, 37, 20-36.
- Catikkas E, 2015: A study on carcass and beef quality characteristics of Holstein-Friesian, Brown-Swiss and Simmental bulls fattened in Aydın province. Master Thesis, Adnan Menderes University, The Graduate School of Natural and Applied Sciences, Aydın.
- Catikkas E, Koc A, 2017: Fattening performance, carcass characteristics and beef quality of Holstein-Friesian, Brown-Swiss and Simmental bulls. *ADÜ Ziraat Derg*, 14(1), 59-64.
- Dannenberger D, Nuernberg K, Nuernberg G, Ender K, 2006: Carcass-and meat quality of pasture vs concentrate fed German Simmental and German Holstein bulls. *Arch Anim Breed*, 49(4), 315-328.
- Erkus A, Ozcelik A, Gurdogan T, Turan A, 1990: Siyah Alaca sığırlarının besisinde optimal besi süresinin tespiti. *Çiftçi ve Köy Dünyası Dergisi*, 6, 18-27.
- Guerrero A, Valero MV, Campo MM, Sanudo C, 2013: Some factors that affect ruminant meat quality: from the farm to the fork. Review. *Acta Scientiarum*, 35, 335-347.
- Gunes H, Kaygısız F, Kocak O, Pekgoz M, Gor M, 2001: Studies on the fattening performances of Holstein Friesian male cattle and economic analysis of fattening. *J Fac Vet Med İstanbul Univ*, 27(1), 243-253.
- Hough GS, Carlson DV, 1998: Method and Apparatus For Generating Oxygenated Water. <https://patentimages.storage.googleapis.com/ae/63/fc/79aa72b4171716/US5728287.pdf> Accessed; 14.11.2019.
- Karakas E, 2002: The birth weight weaning age, milk consumption and the survival rate of Holstein calves raised in dairy farms located in Bursa-Yenisehir district. *Uludag Univ J Fac Vet Med*, 21, 77-81.
- Loneragan GH, Wagner JJ, Gould DH, Garry FB, Thoren MA, 2001: Effects of water sulfate concentration on performance, water intake, and carcass characteristics of feedlot steers. *J Anim Sci*, 79(12), 2941-2948.
- Minitab, 2011: Minitab For Windows Version Release 16, Minitab Inc.
- Mundan D, Gogebakan S, Ergun C, Kaban IH, 2012: Evaluation of fattening performance of Holstein cattle at different initial weights under summer season conditions in the district of Silifke of Mersin province. *J Anim Vet Adv*, 11(2), 186-190.
- Ozdogan M, 2007: A research on some fattening performance parameters of Holstein Friesian and Brown Swiss young bulls under summer season conditions in Aydın province. *Hayvansal Üretim*, 48(2), 1-6.
- Protais J, Queguiner S, Boscher E, Piquet JC, Nagard B, Salvat G, 2003: Effect of housing system on the bacterial flora in the air and on egg shells. In: Proceedings of the Tenth European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Ploufragan, France, pp. 142-149.
- Sarı M, Yapıcıer OS, Usta Z, Saatçı M, 2018: Usage of energized oxygen gas as an alternative disinfection

- product on hatching eggs. In: Proceedings of the First International GAP Agriculture, Livestock Congress, Şanlıurfa, Turkey, pp. 407-410.
- Sariozkan S, Cevger Y, Demir P, Aral Y, 2007: The consumption situation and habits of livestock products among the students of Erciyes University Veterinary Faculty. *Sağlık Bilimleri Dergisi*, 16(3), 171-179.
- Tuzemen N, Yanar M, Tellioglu S, Emsen A, 1990: Sarı-Alaca, Siyah-Alaca, Esmer ve Norveç Kırmızısı x Esmer melezi tosunların besi performansı ve karkas özellikleri üzerine karşılaştırmalı bir araştırma. *Doğa Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 14, 47-54.
- Unlu A, Coban F, Tunc MS, 2008: Investigation of Lake Hazar water quality according to physical and inorganic chemical parameters. *J Fac Eng Arch Gazi Univ*, 23(1), 119-127.
- Yanar M, Tuzemen N, Aksoy A, Vanlı Y, 1990: İki ayrı yaşta besiye alınan Esmer tosunlarda besi performansı, optimum besi süresi ve karkas özelliklerinin saptanması üzerine bir araştırma. *Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi*, 14, 239-246.
- Yapıcıer OS, Saatçı M, 2018: Energized oxygen treatment in drinking water for laying hens: an alternative disinfectant. *Int J Poult Sci*, 17(12), 586-590.
- Zinn RA, Alvarez M, Mendez, Montano M, Ramirez E, Shen Y, 1997: Influence of dietary sulfur level on growth performance and digestive function in feedlot cattle. *J Anim Sci*, 75, 1723-1728.
- *Corresponding author:** Aykut Asım AKBAŞ
Burdur Mehmet Akif Ersoy University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Science, İstiklal Campus, TR-15030, Burdur -Turkey
e-mail: aykutaakbas@mehmetakif.edu.tr

Penis Prolapse in a Red-Eared Slider (*Trachemys Scripta Elegans*)

Rahime YAYGINGUL^{1,a,*}, Busra KIBAR^{1,b}, İbrahim SUNER^{1,c}, Sila SARI^{1,d}

¹Adnan Menderes University, Veterinary Faculty, Department of Surgery, Aydın, Turkey

^aORCID: 0000-0001-7402-9031, ^bORCID: 0000-0002-1490-8832, ^cORCID: 0000-0003-4711-880X, ^dORCID: 0000-0002-1758-6322

Geliş Tarihi: 12.04.2019

Kabul Tarihi: 24.10.2019

Abstract: This study aimed to evaluate the treatment outcomes of a rare occurrence of penis prolapse in a turtle. A 10-year-old terrapin (*Trachemys Scripta Elegans*), weighing 300 g, was brought to the Adnan Menderes University Faculty of Veterinary Medicine Surgery Clinics with complaints of blood stains in the area where it was found. The clinical examination revealed that a mass hung out of its anal area, and this mass was detected to the penis. The mucosal structure was alive and no necrotic tissues were observed. The turtle was anesthetized using an intramuscular administration of a combination of medetomidine and ketamine HCl. The penis was washed with antiseptic solutions, followed by a cold application and tissue rejection applications. The penis was then fixed to the mucosa using a tobacco-pouch suture. In this process, no complications relevant to urination and defecation were encountered. In conclusion, surgical intervention in penis prolapse case in this turtle was found to be unsuccessful with no complications.

Keywords: Penis prolapse, Red-eared sliders.

Kırmızı Yanaklı Su Kaplumbağasında (*Trachemys Scripta Elegans*) Penis Prolapsusu

Özet: Bu çalışmada, bir su kaplumbağasında nadir olarak görülen penis prolapsu olgusunun sağaltım sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlandı. 10 yaşında ve 300 gr ağırlığındaki su kaplumbağası, bulunduğu bölgede kan lekelerinin görülmesi ile Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Kliniğine getirildi. Klinik muayenede anüs bölgesinde bir kitlenin dışarı sarktığı ve bu kitlenin penis olduğu kanısına varıldı. Mukoza yapısı canlı idi ve herhangi bir nekrotik doku ile karşılaşılmadı. Kaplumbağa kas içi medetomidine-ketamin HCl kombinasyonu uygulanarak anesteziyeye alındı. Penis antiseptik solüsyonlarla yıkandı ve ardından soğuk uygulama ile dokunun reddi yapılarak bütün kesesi dikişi ile penis mukozaya sabitleştirildi. Bu süreçte ürinasyon ve defekasyon ile ilgili herhangi bir komplikasyon ile karşılaşılmadı. Sonuç olarak, prolapsus penis olgularında yapılan cerrahi müdahale başarılıdır ve komplikasyonlara neden olmamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Penis prolapsus, Kırmızı yanaklı su kaplumbağası.

Introduction

Male turtles have a single penis (phallus) without a solid lumen. It consists of a double corpora cavernosa and a urethral groove, and this organ is not used for urination. Depending on the species, the colors may vary from pink to dark purple to black. Except for mating, trauma, or death, the penis is retracted on the ventral surface of the cloaca (Kirchessner et al., 2008; Ojeh and Adetunji, 2008;). Penile prolapse is rarely seen in male turtles. Its causes include impaction of the cloaca with gastrointestinal foreign bodies, straining from intestinal parasites, nutritional secondary hyperparathyroidism, inflammation, infection, neurologic or traumatic defects involving the retractor penis muscles or cloacal sphincter, bladder, or cloacal uroliths and traction during copulation (Barten 2006; Norton 1994).

This case report aimed to evaluate the treatment outcomes of a rare occurrence of penis prolapse in a turtle.

Case History

A 10-year-old water turtle (*Trachemys Scripta Elegans*), weighing 300 g, was brought to Adnan

Menderes University Veterinary Faculty Department of Surgery because of blood stains in the area where it was found. Physical examination revealed a mass protruding from the cloaca that was later concluded to be the penis. The condition was diagnosed as a penis prolapse (Figure 1 A-B). As this case was only 1 day old, the mucosal structure remained alive and no necrotic tissue was encountered. No general condition impairment or other clinical abnormalities were found to pose a risk to general anesthesia. A combination of medetomidine (0.2 mg/kg, Domitor, Pfizer, Turkey) and ketamine HCl (10 mg/kg, Alfamine, Ege Vet, Turkey) was administered intramuscularly for anesthesia. The penis was washed with antiseptic solutions, followed by cold application, and the prolapsed penis was rejected (Figure 2 A-B) to its normal anatomical position into the cloaca using a tobacco-pouch (3/0 absorbable) suture (Figure 3 A-B). Enrofloxacin (10 mg/kg intramuscular) was administered for 10 days during postoperative care. In this process, no complications were encountered relevant to feed intake, urination, and defecation.

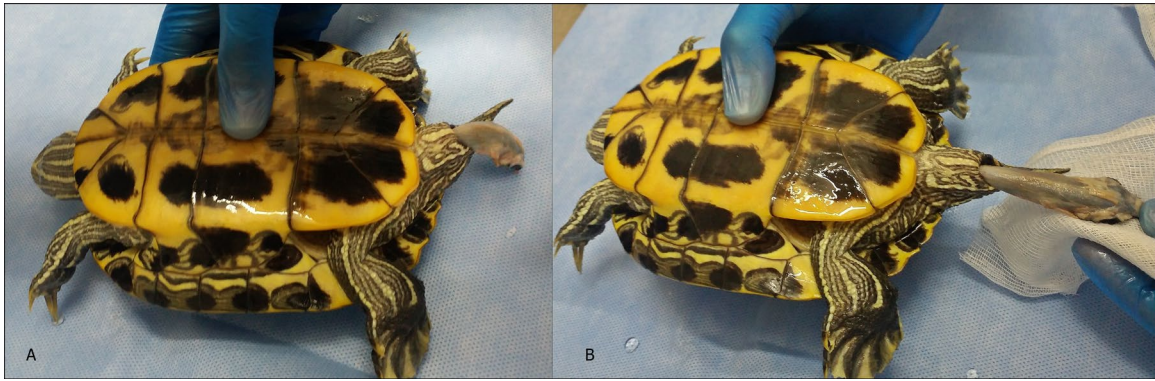


Figure 1. A-B) Preoperative appearance of prolapsed penis.

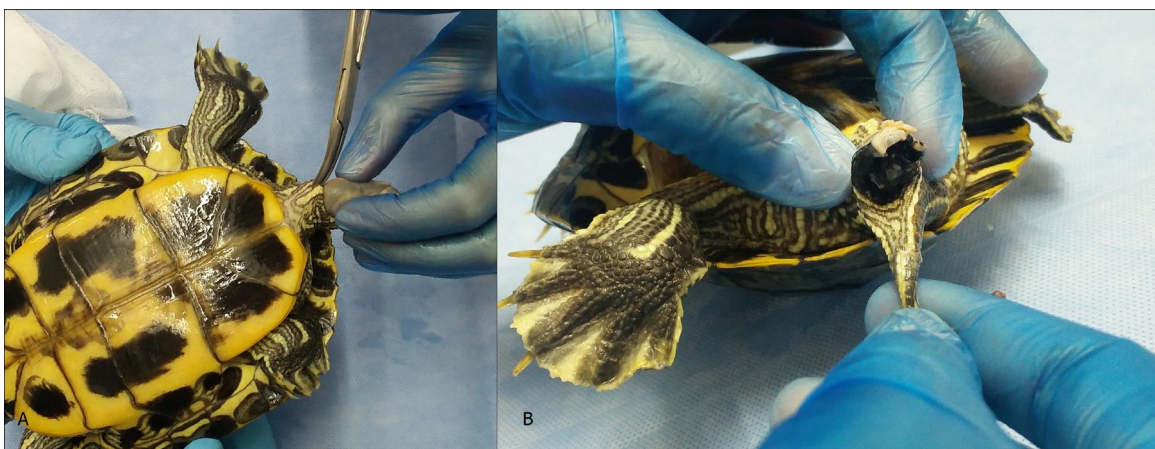


Figure 2. A-B) The prolapsed penis was rejected.

Discussion and Conclusions

Penile prolapse may occur in snakes and lizards but is rarely seen in chelonians (Barten 2006; Norton 1994). Penile prolapses may occur due to infection, forced separation during copulation, inflammation, nutritional secondary hyperparathyroidism, neurologic or traumatic defects involving the retractor penis muscles or cloacal sphincter, straining from intestinal parasites, and impaction of the cloaca with gastrointestinal foreign bodies (Barten, 2006; Innis, 2002; Korkmaz et al. 2014; Martinez-Jimenez and Hernandez-Divers 2007; Nisbet et al., 2011; Norton 1994). According to the owner's history in the present case, this condition might have happened after mating.

Previous reports emphasized that turtles experienced uncomplicated anesthesia with propofol/isoflurane, alfaxolon/isoflurane or tiletamine/zolazepam, and isoflurane combinations or medetomidine/ketamine combination (Korkmaz et al., 2014). A combination of medetomidine (0.2 mg/kg) and ketamine HCl (10 mg/kg) was

administered in the present case. No complication was experienced during anesthesia administration.

Penis prolapse should be repaired as soon as possible to save the organ. In the treatment, prolapse can be prevented by reducing the edema and fixing using tobacco-pouch or horizontal sutures after cleaning and lubrication. Previous studies have reported the use of cold application (Barten 2006a; Norton 1994; Podhade and Harne 2014; Silva et al. 2013), hypertonic saline (Barten 1996a; Bennett 2005; Boyer 1998) and granulated sugar to decrease edema (Doğu et al., 2015). In the present case, edema was controlled with a cold antiseptic solution (povidone-iodine). Prolapsed organ should be amputated by applying ligation from the base of the penis in cases where the organ is necrotic (Norton 1994; Boyer 1998; Barten 1996; Barten 2006a; Korkmaz et al., 2014; Nisbet et al., 2011; Ojeh and Adetunji 2008). Since the penile tissue in the present case was alive, the organ was rejected and a tobacco-pouch suture (3/0 absorbable) was applied to the cloaca.

Several previous studies recommended the use of antibiotics in penile prolapse cases for 3 weeks (Innis and Boyer 2002; Korkmaz et al., 2014, Nisbet

et al., 2011). Enrofloxacin (10 mg/kg, intramuscular) was also applied for 10 days in this study. During the postoperative period, no problems were encountered in terms of feed intake, urination, or defecation.

In conclusion, surgical intervention was found to be successful in penis prolapse cases and to cause no complications.

References

- Barten SL, 1996: Paraphimosis. In "Reptile medicine and surgery", Mader DR (ed)., WB Saunders Co., Philadelphia.
- Barten SL, 2006: Penile Prolapse In "Reptile medicine and surgery", Mader DR (ed)., WB Saunders Co., Philadelphia.
- Bennett RA, Mader DR, 2005: Cloacal prolapse. In "Reptile medicine and surgery", Mader DR (ed). WB Saunders Co., Philadelphia.
- Boyer TH, 1998: Emergency care of reptiles. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 1, 191-206.
- Doğu Z, Aral F, Şahinöz E, Taşkavak E, 2015: Penile prolapse in Euphrates soft-shelled turtle (*Rafetus euphraticus* Daudin, 1802). *Ege Journal of Fish Aquatic Science*, 32(3), 169-172.
- Innis C. Boyer TH, 2002: Chelonian reproductive disorder. *Vet Clin North America Exot Anim Pract*, 5(3), 555-578.
- Kirchgessner M, Mitchell MA, 2008: Chelonian. In "Manual of Exotic Pet Practice", Ed; Mitchell M, Tully TN., Saunders.
- Korkmaz M, Saritas ZK, 2014: Demirkan İ. Surgical Treatment of Penile Prolapse in a Red Eared Slider (*Trachemys scripta slegans*). *Res J Vet Pract*, 2 (1), 17 – 18.
- Martinez-Jimenez D, Hernandez-Divers SJ, 2007: Emergency care of reptiles. *Vet Clin North America Exot Anim Pract*, 10(2), 557–585.
- Nisbet HO, Yardımcı C, Ozak A, Sirin YS, 2011: Penile Prolapse in A Red Eared Slider (*Trachemys scripta elegans*). *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17, 151–153.
- Norton TM, 1994: Chelonian Emergency and Critical Care. *Seminars Avian Exot Pet Med*, 14, 106–130.
- Ojeh CK, 2008: Adetunji A. Penile prolapse in a tortoise (*Testudo gigantea*). *Afr J Ecol*, 18(2–3), 187–190.
- Podhade DN, Harne R, 2014: Surgical intervention in prolapsed rescued Russell Viper (*Daboia russelii*). *J Wildlife Res*, 2(2), 9- 10.
- Silva KB, Muñiz-da-Silva DF, Silva KMP, Garcia VC, Santos SMA, 2013: Hemipenectomy em Jararaca-Ilhoa (*Bothrops insularis*) – Relato de caso. *Vet e Zootec*, 20(3), 9-14.

** Bu makale Küçük hayvan veteriner hekimleri derneği sürekli eğitim kongresinde poster olarak sunulmuştur.

*Corresponding author: Rahime YAYGINGÜL
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Cerrahi Anabilim Dalı, 09016, Işıklı/Aydın
e-mail: ryayingul@adu.edu.tr

Simental Irkı Bir Buzağıda Atresia Ani ve Rektoüretal Fistül Olgusu

Ali Said DURMUŞ^{1,a,*}, Eren POLAT^{1,b}

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

^aORCID: 0000-0003-4873-5690, ^bORCID: 0000-0002-3999-1310

Geliş Tarihi: 01.10.2019

Kabul Tarihi: 04.12.2019

Özet: Bu olgu sunumunda prepisyumundan dışkı geldiği ve anüsten defekasyon yapamadığı şikâyetiyle kliniğimize getirilen üç günlük simental ırkı erkek bir buzağının operatif tedavisinin tanımlanması amaçlandı. Yapılan klinik ve radyografik muayeneler sonucunda atresia ani ve rektoüretal fistül tanısı konuldu. Premedikasyon ve lokal anestezi uygulamasını takiben deri ve derialtı bağ dokuları ensize edilerek rektuma ulaşıldı. Çevre dokulardan küt diseksiyon ile ayrılan rektum operasyon yarasından dışarı çekildi. Rektumun kapalı olan uç kısmı açıldıktan sonra üretraya açılan fistül deliği bulunan rektum parçası ekstirpe edildi. Ekstirpasyon işlemi sonrası rektum anal bölgedeki derialtı bağ doku ve deriye dikilerek anüs oluşturuldu. Postoperatif olarak 7 gün boyunca parenteral antibiyotik uygulaması ve ilk antiseptikli sularla yara bakımı gerçekleştirildi. Deri dikişleri 10 gün sonra alındı. Operasyon sonrası 6 ay boyunca hasta sahibi ile yapılan görüşmelerde olguda herhangi bir komplikasyon bulunmadığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Atresia ani, Rektoüretal fistül, Buzağ.

A Case of Atresia Ani and Rectourethral Fistula in a Simmental Calf

Abstract: In this case report, we aimed to describe the operative treatment of a three-day simmental breed male calf who was brought to our clinic with the complaint of stool coming from the preputium and not defecation from the anus. As a result of clinical and radiographic examinations, atresia ani and rectourethral fistula was diagnosed. Following premedication and local anesthesia, the skin and subcutaneous connective tissues were incised and the rectum was reached. The rectum, which was separated from the surrounding tissues by blunt dissection, was pulled out of the operation wound. After the closed end of the rectum was opened, the rectum part with a fistula hole opening into the urethra was extirpated. After the extirpation procedure, anus was created by suturing to the subcutaneous connective tissue and skin in the rectum anal region. Postoperative parenteral antibiotic administration and wound care with antiseptic warm water were performed for 7 days. Skin sutures were removed 10 days later. In the interviews with the owner for 6 months postoperatively, it was detected that the calf has any complication.

Keywords: Atresia ani, Rectourethral fistula, Calf.

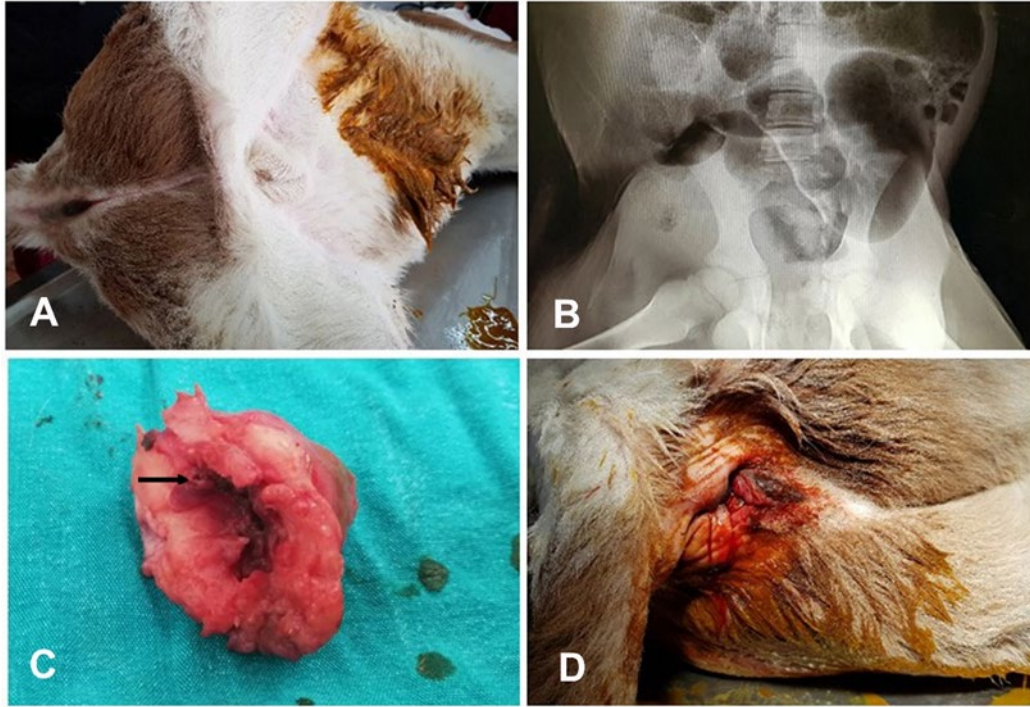
Giriş

Sindirim sistemi ve ürogenital sistem anomalileri, evcil hayvanlarda fazlaca karşılaşılan konjenital anomalilerdendir. Atresia ani, kolon agenezisi ve rektovaginal fistül yaygın olarak karşılaşılan doğmasal anomaliler iken, rektoüretal fistül gibi anomalilerle nadiren karşılaşılmaktadır (Chauhan ve ark., 2011; Özaydın ve ark., 2006; Varol ve ark., 2018; Yayla ve ark., 2016). Konjenital anomalilerin nedenleri tam olarak bilinmemesine rağmen, mutasyon ve kromozomal defektler gibi genetik faktörlere, intrauterin dönemde oluşan viral ve bakteriyel hastalıklara, gebelik sırasında oluşan yem kaynaklı intoksikasyonlara ve gebeliğin erken döneminde yapılan rektal muayenelere bağlı olarak gelişebileceği tahmin edilmektedir (Bademkiran ve ark., 2009; Chauhan ve ark., 2011; Han ve ark., 2005; Hussein, 2010; Kılıç ve ark., 2005; Kılıç ve ark., 2006; Özaydın ve ark., 2006; Varol ve ark., 2018; Yayla ve ark., 2016; Yayla ve ark., 2017). Bu olguda Simental ırkı bir buzağıda karşılaşılan atresia ani ve rektoüretal fistül olgusunun tanımlanması, teşhisi,

operatif yolla tedavisi ve postoperatif sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Olgu Tanımı

Olguyu normal yollarla defekasyon yapamama ve doğduğu günden itibaren preputiumunun ucundan dışkı gelmesi şikâyeti ile getirilen üç günlük simental ırkı erkek bir buzağı oluşturdu. Alınan anemnez doğrultusunda buzağıda iki gündür iştahsızlık bulunduğu ve karın bölgesinde şişlik olduğu öğrenildi. Yapılan klinik muayenelerde buzağıda anüsün kapalı olduğu, abdomende şişlik ve şişliğe bağlı sancı olduğu saptandı. Ayrıca dışkının prepisyumun ucundan dışarı aktığı gözlemlendi (Şekil 1A). Yapılan radyografik muayenede sindirim sisteminin yoğun gaz ve dışkıyla dolu olduğu tespit edilen (Şekil 1B) buzağıya atresia ani ve rektoüretal fistül tanısı konuldu.



Şekil 1. A: Atresia ani ve rektöüretal fistülden kaynaklı prepisyumdan dışkı gelişi. B: Buzağının preoperatif abdominal radyografisi. C: Rektumun ekstirpe edilen ucu ve fistül deliği (ok). D: Postoperatif görünüm.

Operasyon hazırlıkları yapılan buzağıya anestezi için 0.1 mg/kg dozunda intramuskuler olarak ksilazin hidroklorür (*Rompun, Bayer, 23.32 mg/ml*) verildikten 10 dakika sonra 4 mg/kg dozunda intramuskuler ketamin hidroklorür (*Ketasol %10, İnterhas, 100 mg/ml*) verildi. Operasyon yapılacak olan anal bölgeye ise 10 ml Lidokain hidroklorür (*L-Anestine, Alke, 20 mg/ml*) ile lokal infiltrasyon anestezi yapıldı. Anesteziyi takiben anal bölge derisi üzerine artı “+” şeklinde deri ensizyonu yapıldı. Deri altı bağ dokularının küt diseksiyonu sonrasında rektuma ulaşıldı. Pensler yardımıyla dikkatlice dışarı doğru çekilen rektumun kapalı olan ucu bir makas yardımıyla açılarak içerisinde birikmiş olan bol miktardaki mekonyumun boşaltılması sağlandı. Mekonyumun tamamen boşaltılması tamamlandıktan sonra rektum ventralindeki fistül deliği tespit edildi. Fistül deliğinin rektumun uç kısmına yakın olması nedeniyle fistül deliğini içerisine alacak şekilde rektumun kapalı olan uç kısmı ekstirpe edilip (Şekil 1C), rektumun uç kısmı anal bölgedeki derialtı bağ doku ve deriye 2/0 numara ipek iplikle dikilerek tespit edildi (Şekil 1D).

Postoperatif olarak 7 gün boyunca 1 mg/kg/gün dozunda seftiofur hidroklorid (*Eficure, Hipra 50 mg/ml*) intramuskuler olarak uygulandı. Anal bölgedeki yara 10 gün boyunca %0.1'lik povidone iodee' ile silindi. Postoperatif 10. gün buzağı kontrol edilerek dikişleri alındı. Altı ay boyunca hasta sahibi ile yapılan görüşmelerde buzağının normal yollardan defekasyon yaptığı ve

postoperatif herhangi bir komplikasyonu bulunmadığı tespit edildi.

Tartışma ve Sonuç

Atresia ani, özellikle buzağılarda olmak üzere bütün evcil hayvanlarda en çok karşılaşılan konjenital anomalilerden birisidir. Rektöüretal fistül ise nadiren karşılaşılan konjenital anomalilerdendir (Chauhan ve ark., 2011; Özaydın ve ark., 2006; Varol ve ark., 2018; Yayla ve ark., 2016). Bu olgu sunumunda simental ırkı bir buzağıda karşılaşılan atresia ani ve rektöüretal fistül olgusunun tanımı, teşhisi, operatif tedavisi ve postoperatif sonuçları konu edilmiştir.

Konjenital anomalilerin nedenleri tam olarak bilinmemekle birlikte kromozomal defektler ve mutasyonların sebep olduğu genetik faktörler, gebelik döneminde karşılaşılan bakteriyel ve viral hastalıklar ile yeme bağlı intoksikasyonlardan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Yine gebeliğin erken dönemlerinde sık olarak yapılan rektal muayenelerin de konjenital anomalilere sebep olabileceği bildirilmiştir (Bademkiran ve ark., 2009; Chauhan ve ark., 2011; Han ve ark., 2005; Hussein 2010; Kılıç ve ark., 2005; Kılıç ve ark., 2006; Özaydın ve ark., 2006; Varol ve ark., 2018; Yayla ve ark., 2016; Yayla ve ark., 2017).

Bu olguda hasta sahibinden alınan anamnezde, gebeliğin erken döneminde sık olarak rektal muayene yapıldığı bilgisinin alınması anomalinin

sebebinin bu durumdan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Anüsün açık fakat dar olarak şekillendiği ve rektumun normal olduğu (tip 1), anüsün ince bir membranla kapalı durumda bulunması ve rektumun kör bir kese şeklinde hemen anüsün önünde yer aldığı (tip 2), anüsün oluşmadığı ve rektumun kör bir kese şeklinde anüsün hemen önünde yer aldığı (tip 3), rektumun terminal bölümü ile anüsün normal olduğu ve pelvis kanalında rektumda atresianın bulunduğu (tip 4) 4 tip atresia bulunmaktadır (Chauhan ve ark., 2011; Durmuş ve ark., 2011; Ghanem ve ark., 2005; Purohit ve ark., 2006; Varol ve ark., 2018). Varol ve ark. (2018), bir Anadolu mandasının buzağısında, Durmuş ve Çınar (2011) ise simental ırkı dişi bir buzağıda Tip 2 atresia ani olgusu bildirirlerken; Chauhan ve ark. (2011), iki günlük bir buzağıda Tip 1 atresia ani olgusu bildirmişlerdir. Sunulan bu olguda ise, anüs tamamen oluşmadığı ve rektumun kör bir kese şeklinde anüsün önünde (Tip 3) olduğu tespit edildi.

Rektoüretal fistül, nadiren karşımıza çıkan ve genellikle başka diğer doğumsal anomalilerle beraber görülen konjenital bir defektir. Yayla ve ark. (2016), bir aylık simental ırkı bir buzağıda rektoüretal fistül ile birlikte şekillenen üretral dilatasyon ve segmental üretral agenezi olgusunu bildirmişlerdir. Özyayın ve ark. (2006), bir günlük Montafon ırkı erkek bir buzağıda rektoüretal fistül ile beraber atresia ani ve polimelia olgusunu bildirmişlerdir. Bu olguda da rektoüretal fistül ile atresia ani birlikte tespit edilmiştir.

Yayla ve ark. (2017), tespit ettikleri rektoüretal fistül olgusunda, klinik muayene sırasında buzağının perianal bölgesi ile skrotal bölgesi arasında şişlik oluştuğunu ve dışkıyla idrarın bu bölgede biriktiğini tespit etmişlerdir. Bu olguda ise, perianal bölgenin klinik muayenesinde herhangi bir şişlik olmadığı fakat prepisyumun ucundan dışkı ile bulaşık bir akıntı olduğu tespit edildi.

Sunulan bu olguda atresia ani'yi tedavi etmek amacıyla bilinen operatif yöntem kullanıldı ve alınan olumlu sonuçların daha önce bildirilen raporlarla (Durmuş ve ark., 2003; Durmuş ve ark., 2011; Suthar ve ark., 2010; Varol ve ark., 2018) uyumluluk gösterdiği belirlendi. Rektoüretal fistülün tedavisinde çoğunlukla rektum üzerinde bulunan fistül deliği onarılarak; bu olguda rektum ventralinde bulunan fistül deliğini içeren rektum kısmı ekstirpe edilip fistül ağzı kapatıldıktan sonra, rektum anal bölgedeki derialtı bağ dokusuyla birlikte deriye usulüne uygun olarak tespit edildi ve olumlu sonuç alındı.

Sonuç olarak, rektoüretal fistül ve Tip 3 atresia ani olgusunun birlikte oluşabileceği, bu tip olgularda yapılacak olan operatif tedavi ile hayvanının

yaşamını normal olarak devam ettirebileceği kanısına varıldı.

Kaynaklar

- Bademkiran S, İçen H, Kurt D, 2009: Congenital rectovaginal fistula with atresia ani in a heifer. *YYÜ Vet Fak Derg*, 20(1), 61-64.
- Chauhan PM, Parmar VR, Patel TP, Thakor KB, Parikh SS, 2011: Atresia ani: A congenital defect and its successful management in non-descript calf. *IJAVMS*, 5(6), 520-522.
- Durmuş AS, Han MC, 2003: Bir buzağıda rastlanan atresia ani ve perosomus elumbus olgusu. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi*, 2(1), 54-56.
- Durmuş AS, Çınar HN, 2011: Bir buzağıda rastlanılan rektoüretal fistül, atresia ani ve perosomus elumbus olgusu. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 25(1), 43-47.
- Ghanem ME, Yoshida C, Nishibori M, Nakao T, Yamashiro H, 2005: A case of freemartin with atresia recti ani in Japanese black calf. *Anim Reprod Sci*, 85(3-4), 193-199.
- Han MC, Durmuş AS, 2005: Buzağılarda bazı konjenital anomalileri olguları. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi*, 3(2), 175-177.
- Hussein RMN, 2010: Congenital anomalies in cattle and buffalo within mudaina city in Basrah province between period 2007-2009. *Kufa J Vet Sci*, 1(1), 207-218.
- Kılıç E, Öztürk S, Aksoy O, Özyayın İ, Özba B, Dağ-Erginsoy S, 2005: Preputial aplasia, urethral diverticulum and distal urethral atresia in kids. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 11(1), 73-76.
- Kılıç E, Özyayın İ, Aksoy O, Yayla S, Sözmén M, 2006: Multiple urogenital system anomalies in three calves. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 12(2), 193-197.
- Özyayın İ, Kılıç E, Aksoy Ö, Cihan M, Güngör E, 2006: Bir buzağıda üçlü malformasyon: atresi ani, rektoüretal fistül ve pygomelia. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 12(2), 189-191.
- Purohit S, Gahlot TK, Parashar MC, Rathore VS, 2006: Surgical management of rectovaginal fistula with atresia ani in a calf. *The Indian Cow*, 2(7), 39-40.
- Suthar DN, Chaudhary SR, Patel PB, 2010: Surgical management of atresia ani in a cow calf. *Vet World*, 3(8), 380-381.
- Varol K, Atalan G, Günes V, Alpman U, Yönez MK, 2018: A case of atresia ani in an anatolian water buffalo calf. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 15(3), 271-275.
- Yayla S, Kılıç E, Baran V, Özen H, 2016: A case of congenital rectourethral fistula, urethral dilatation and segmental urethral agenesis encountered in a calf. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 5(1), 70-73.
- Yayla S, Kılıç E, Özen H, Baran V, Aydın U, Karakurt E, 2017: Simental ırkı bir buzağıda çoklu ürogenital sistem anomalisi. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, 6(1), 95-98.

*Yazışma Adresi: Ali Said DURMUŞ

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye.

e-mail: asdurmus@firat.edu.tr

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ YAYIN KURALLARI *

- 1- Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi (Harran Üniv Vet Fak Derg), Veteriner Hekimliği bilim alanı ile ilgili olmak üzere insan ve hayvan sağlığını kapsayan Türkçe ve İngilizce olarak hazırlanmış orijinal klinik ve deneysel araştırmalar, olgu sunumları, derlemeler, kısa bilimsel makale ve editöre mektuplar yayınlayan hakemli bir dergidir. Dergi 6 ayda bir, yılda 2 sayı olarak yayınlanır. Yayınlanan makalelerden ücret alınmamaktadır.
- 2- Dergiye kabul edilen yayınlar başka bir yerde yayınlanmamış olmalıdır. Yayınlanan makalelerden doğacak her türlü hukuki ve cezai sorumluluk yazarlara aittir. Yazarlara yayın hakkı bedeli ödenmez. Gönderilen makaleler yayınlansın veya yayınlanmasın geri iade edilmez.
- 3- Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, etik ilkelere saygı çerçevesinde, TÜBİTAK ULAKBİM tarafından Türkiye'de tüm üniversitelerin kullanımına açmış olduğu "ithenticate" intihal tespit programı aracılığıyla gönderilen tüm makale, olgu sunumu ve derlemelerin ön değerlendirmesini yapmaktadır. Bu ön değerlendirme sonuçlarına göre, makale, olgu sunumu veya derlemelerin başka kaynaklarla benzerlik oranının %23'ü (özet, abstract ve kaynaklar hariç) aşmaması gerekmektedir. "ithenticate" programı aracılığı ile yapılacak ön değerlendirmede benzerlik oranının %23 değerini aşması durumunda yayımlanmak üzere Dergimize gönderilen makale, olgu sunumu veya derlemeler değerlendirilmeye alınmayacaktır.
- 4- Dergiye sunulan çalışmaların etik kurallara uygun olarak yapılması sorumluluğu yazarlara aittir. Bununla beraber editör, gerektiğinde yazarlardan etik kurul belgesi isteme hakkını saklı tutar.
- 5- Tüm yazarlar tarafından imzalanmış Telif Hakkı Devir Sözleşmesi gönderilmeyen makaleler değerlendirilmeye alınmazlar.
- 6- Makale başvurusu yalnızca online olarak "<http://dergipark.gov.tr/huvfd>" adresi üzerinden kabul edilmektedir.

YAZIM KURALLARI

Yazılar, MS Word formatında, Times New Roman yazı tipinde, 12 punto, çift satır aralıklı ve her kenardan 2.5 cm boşluk bırakılarak hazırlanmalıdır. Bu şekildeki yazılar, şekil ve tablolar dâhil olmak üzere orijinal bilimsel araştırmalar ve derlemelerde 15, kısa bilimsel makale ve olgu sunumlarında 5 sayfayı geçmemelidir.

Birimler ve ölçüler için Uluslararası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır.

Araştırma Makaleleri: Orijinal araştırma makaleleri aşağıdaki ana konu sıralamasına göre dizilmelidir: Başlık, Yazar adları (Sorumlu yazar (*) ile işaretlenmeli), Yazar adresleri, Özet ve Anahtar kelimeler (3 - 6 kelime), İngilizce başlık, Abstract ve Keywords ile Giriş, Materyal ve Metot, Bulgular, Tartışma ve Sonuç, Teşekkür veya Bilgilendirme ile Kaynaklar. Her bir Tablo ve Şekil ayrı sayfalarda yer almalıdır.

YAZIM DÜZENİ

Özet: Orijinal araştırma makalelerinde 250, diğer makale türlerinde 200 kelimeyi geçmeyecek şekilde hazırlanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: En fazla 6 tane olmak üzere her iki dildeki özetin altında verilmelidir. **Anahtar kelimeler, Türkiye Bilim Terimleri arasından seçilmelidir. Anahtar kelimelerin seçiminde Türkiye Bilim Terimleri internet adresinden (<http://www.bilimterimleri.com>) yararlanılmalıdır.**

Giriş: Sonuçların anlaşılabilirliği ve yorumlanabilirliği için o konu ile ilgili yapılmış olan çalışmalar hakkında bilgilere yer verilmelidir. Giriş'te çalışmanın hipotezi belirtilmelidir. Çalışmanın amacı bu bölümün en sonunda açık olarak yazılmalıdır.

Materyal ve Metot: Bu bölümde deneysel çalışmalar diğer araştırmacılar tarafından tekrarlanabilecek yeterlilikteki detayı ile verilmelidir. Uluslar arası indeksli dergilerde yayınlanmış bir makalede açıklanan bir teknik kullanıldığında, metodun çok kısa açıklanması ve ilgili orijinal makaleye atıf yapılması gereklidir. **Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne yayınlanmak amacıyla gönderilen bilimsel çalışmalarda "etik kurul onayı" zorunluluğu ve gerekliliği var ise, etik kurul onay/izin belgesinin "alındığı etik kurulun ismini, sayısını ve tarihini" içeren açıklayıcı bilgilerin materyal ve metot bölümünde açıkça belirtilmesi gerekmektedir.**

Bulgular: Araştırma bulguları açık ve anlaşılabilir şekilde verilmelidir. Bulgular, gerektiğinde tablo ve şekillerle desteklenerek kısa olarak sunulmalıdır.

Tartışma ve Sonuç: Bulgular gereksiz ayrıntıya girmeden literatürler ışığında tartışılmalı ve bulguların önemi vurgulanmalıdır. Sonuç ya da öneri cümlesi ile bitirilmelidir.

Teşekkür: Çalışma veya makaleye kişisel katkı ve parasal destek burada belirtilmelidir.

Derleme: Derginin yayın alanlarındaki konularda yenilikleri içeren, güncel kaynaklardan yararlanılarak hazırlanmış makaleler olup, **Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde değerlendirmeye alınan ve yayınlanan derlemeler çağrılı derlemelerden oluşmaktadır.** Derlemelerde; Özet, Giriş, Sonuç ve Kaynaklar bölümleri bulunmalıdır.

Olgu Sunumu: Yazarların, karşılaştıkları yeni veya ender gözlemlenen olguların ele alındığı, bilimsel değere sahip bilgileri içeren eserlerdir. En fazla 15 kaynak kullanılmalı ve bu kaynakların güncel olmasına özen gösterilmelidir. Olgu sunumları; Özet, Giriş, Olgu tanımı, Tartışma ve Sonuç ile Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır.

Kısa Bilimsel Makale: Kısa bilimsel makalelerde dar kapsamlı olarak ele alınmış, yeni bilgi ve bulgular sunulmalıdır. Araştırma makalesi formatında hazırlanmalı ve en fazla 5 sayfa olmalıdır. En fazla 2 tablo veya şekil içermelidir.

Kaynaklar

Metin içinde atıf yapılırken yazar veya yazarların soyadından sonra parantez içinde kaynağın yayın yılı belirtilmelidir [Örnekler: Adams (1998) tarafından; Wilkie ve Whittaker (1997) tarafından; Doyle ve ark. (2007) tarafından...]. Cümlelerin sonunda atıf yapıldığında ise yazar ismi ve yayın yılı parantez içinde belirtilmelidir. [Örnekler: ... bildirilmiştir (Adams, 1998); bildirilmiştir (Wilkie ve Whittaker, 1997); bildirilmiştir (Doyle ve ark., 2007)]. Birden çok kaynağa atıf yapılması durumunda önce alfabetik sonra kronolojik sıralama yapılmalıdır. [Örnekler: bildirilmiştir (Adams, 1998; Adams,

2008; Doyle ve ark., 2007; Wilkie ve Whittaker, 2006)]. Aynı yazarın aynı yıl yayınları söz konusu ise her biri "a" harfinden başlayarak küçük harflerle işaretlenmelidir. [Örnek: (Adams, 2005a; Adams, 2005b;...)].

Yazarı belli olmayan Web adresleri (Anonim, erişim yılı) şeklinde belirtilir.

Kaynak listesi aşağıdaki şekilde hazırlanmalıdır:

Makale; Sullivan JC, Sasser JM, Pollock JS, 2007: Sexual dimorphism in oxidant status in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*, 292, 64-68.

Kitap; Cadenas E, Packer L, 2001: Handbook of Antioxidants. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Kitaptan bir bölüm: Bernstein PS, Katz NB, 2001: The role of ocular radicals in age-related macular degeneration. In "Environmental Stressor in Health and Disease", Ed; Fuchs J and Packer L, Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Web sayfası: Anonim, 2010: <http://www.emea.europa.eu>, Erişim tarihi; 01.04.2010.

Bozkaya F, 2011: Biyoteknoloji ve Gen Mühendisliği. <http://www.emea.europa.eu>, Erişim tarihi; 01.04.2011.

Tez: Er A, 2009: Makrolid grubu antibiyotiklerin endotoksemide sitokin düzeylerine etkisi. Doktora tezi, SÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

Bilimsel toplantıda sunulan bildiri: Allen WR, Wilsher S, Morris L, Crowhurst JS, Hillyer MH, Neal HN, 2006: Re-establishment of oviducal patency and fertility in infertile mares. In: Proceedings of the Ninth International Symposium on Equine Reproduction, Kerkrade, Holland, pp. 27-28.

Tablo ve Şekiller: Her bir tablo ve şekil ayrı sayfalara yerleştirilmelidir. Kullanım sırasına göre numaralandırılmalı, kısa başlıklarla ifade edilmeli ve metin içinde tablo numarası verilerek atıfta bulunulmalıdır. Tablo başlıkları makalenin yazım dilinde tablonun üst bölümüne yazılmalıdır. Tabloda kullanılan kısaltmalar ve gerekli açıklamalar tablo altında verilmelidir. Şekil başlıkları makalenin yazım dilinde şeklin alt bölümüne yazılmalıdır. Elektronik posta ile gönderilecek olan eserlerde yer alan tüm resimler en az 600 dpi çözünürlükte, TIFF veya JPEG formatında kaydedilmiş olmalıdır.

INSTRUCTION for AUTHORS of JOURNAL of HARRAN UNIVERSITY FACULTY of VETERINARY MEDICINE*

1- The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Harran (Harran Univ (HRU) Vet Fak Derg) publishes original clinical and experimental research, case reports, reviews, preliminary report and Letters to Editor concerned with all aspects of veterinary sciences in Turkish and English.

The journal is published as 2 issues per year. There is no publication charge.

2- Papers are accepted for publication on the understanding that they have not been published and are not currently considered for publication elsewhere. All responsibilities from published articles merely belong to the authors. No copyright fee is paid to authors.

3- In frame of the respect to ethical principles, Harran University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine makes preliminary evaluations of all articles and case reports for plagiarism by using the program "ithenticate" made available by TUBITAK ULAKBIM to all universities. Therefore similarity index of the articles, case reports or reviews should not exceed 23% (Turkish abstract, abstract and references are excluded). When the similarity index detected via "ithenticate" program exceeds 23%, the articles case reports or reviews sent to our journal for publishing will not be further evaluated and returned to the author.

4- Ethical responsibility of all research submitted to the journal for publication belongs to the author(s). However, the Editor reserves the right to ask author(s) for an approval letter given by local ethics committee.

5- The Corresponding authors, all the files to be sent along with the article, and the "Copyright Form" can be added to the system by clicking the submit new article icon at the above address. Authors must register on Dergipark system before submitting a manuscript.

6- The article submission is only accepted online via "<http://dergipark.gov.tr/huvfd>".

Preparation of Manuscript

Papers submitted for publication should be written using MS Word 2007 or upper version in Times New Roman style, 12 font size, 1.5 line spacing and 2.5 cm from all margins. Original papers and reviews should not exceed 15 pages and case reports should not exceed 5 pages including tables, figures and graphs.

International Standard Unit (SI System) should be used for units and abbreviations.

Research Articles: Original research articles should be lined up as; Heading (Turkish), Authors names (corresponding author should be remarked with (*)), authors addresses, Abstract (Turkish) and Keywords (Turkish) (3-6 phrases), English heading, Abstract (English) and Keywords (English), Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and Conclusions, Acknowledgement and References. If the paper is written in English; firstly English heading, author(s) name(s), author(s) address(es), Abstract (English) and Keywords (English); Turkish heading, Abstract (Turkish) and Keywords (Turkish) should be lined up and the rest of the article should be in English. Tables and Figures should be printed on separate pages.

Writing order:

Abstract: Abstracts should not exceed 250 words in original articles and 200 words in other kind of articles.

Keywords: Keywords should be 6 at maximum and written at the bottom of the summaries in both languages. Keywords should be chosen from Turkish Scientific Terms. These terms can be obtained from internet address of Turkish Scientific Terms (<http://www.bilimterimleri.com>).

Introduction: This section should supply pertinent background information for understanding and interpretation of the results the hypothesis and the aim of the study should be clearly given at the end of this section.

Materials and Method: This section should describe the experimental procedures in sufficient detail to allow other scientists to repeat the experiment. Where techniques that have already been described in an indexed journal are used, this section may be concise and only provide relevant references. For studies requiring an approval of ethics committee, informations on the name of the ethics committee and the date and the number of the approval should be given in this section.

Results: The results section should provide data that are concisely explained, when required by including tables or figures.

Discussion: The results of the study should be discussed based on the literature and the importance of the findings should be stated. This section should be finished by concluding statements.

Acknowledgements: Any additional information concerning funding and personal contributions to the study or manuscript should be noted.

Reviews: Review articles aim to provide accessible, authoritative overviews in a field or topic. Harran University Journal of Faculty of Veterinary Medicine considers only invited reviews for publication. Reviews must contain following sections; abstract, introduction which can include sub sections, conclusions and references.

Case reports: Author(s) must prefer rare and original cases include scientific point of view. Case reports should not exceed 5 pages (excluding title page), and should not use more than 15 references. Case reports should include "Abstract, Introduction, Case, Results and Discussion as well as References" sections.

Short Communication: Short Communications should concisely presents results of a limited investigation they should be prepared in the form of original articles and not exceed 5 journal pages including figures, tables and references. They should include at most 2 figures and tables.

References

All references in the text must be given by author's surname and year of publication enclosed in round brackets [Example: Adams (1998) reported that...; Wilkie and Whittaker (1997) reported that.., Doyle et al. (2007) reported that... or It has been reported that... (Adams (1998)'; It has been reported that..." (Wilkie and Whittaker (1997); It has been reported that... (Doyle et al., 2007)]. Citations should be arranged in alphabetical order and then chronologically. [Example: It has been reported that... (Adams, 1998; Adams, 2008; Doyle et al., 2007; Wilkie and Whittaker, 2006)]. Publications by the same author(s) in the same year should be identified with a, b, c after the year of publication. [Example: It has been reported that... (Adams, 1998a; Adams, 1998b)

Web address should be referenced as anonym. For example Anonym 2010. Only official web pages should be used

The list of references should be prepared as follows:

Article; Sullivan JC, Sasser JM, Pollock JS, 2007: Sexual dimorphism in oxidant status in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*, 292, 64-68.

Book; Cadenas E, Packer L, 2001: Handbook of Antioxidants. 2nd ed., Marcel Dekker Inc., New York, USA.

Section in a Book; Bernstein PS, Katz NB, 2001: The role of ocular radicals in age-related macular degeneration. In "Environmental Stressor in Health and Disease", Ed; Fuchs J and Packer L, Marcel Dekker Inc., New York USA.

Web page; Anonym 2010. <http://www.emea.europa.eu/> Accession date; 01.04.2010.

Bozkaya F, 2011: Biotechnology and Genetical Engineering. <http://www.emea.europa.eu/> Erişim tarihi; 01.04.2011.

Thesis: Er A, 2009: Effect of macrolide antibiotics on cytokine levels in endotoxemia. PhD thesis, SU Institute of Health Sciences, Konya.

Proceedings abstracts: Allen WR, Wilsher S, Morris L, Crowhurst JS, Hillyer MH, Neal HN, 2006: Re-establishment of oviducal patency and fertility in infertile mares. In: Proceedings of the Ninth International Symposium on Equine Reproduction, Kerkrade, Holland, pp.27-28.

Tables and Figures: Tables and Figures should be printed on separate pages. Each table and figure should have a brief and self explanatory title and should be consecutively numbered with Arabic numbers. The text should include references to all tables and figures. The title of each table should be written above the table. Abbreviations and explanations used in the table should be placed at the bottom of the table.

Photographs should be of high quality. If manuscript is submitted by electronic mail, images must be scanned in a resolution of at least 600 dpi and submitted in JPEG or TIFF format. Offprints of the journal will be in black and white.

HARRAN ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ

TELİF HAKKI DEVİR FORMU

Harran Üniversitesi

Veteriner Fakültesi Dergisi Editörlüğüne

Biz aşağıda adı, soyadı ve imzaları bulunan yazarlar, tarafımızdan yazılmış,

.....
.....

İsimli makalenin içeriği, sonuçları ve yorumları konusunda, Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nin hiç bir sorumluluk taşımadığını kabul ederiz. Sunduğumuz makalenin orijinal olduğunu, herhangi bir başka dergiye yayınlanmak üzere gönderilmediğini, daha önce yayınlanmadığını beyan ederiz. Makalenin telif hakkından feragat etmeyi kabul ederek sorumluluğu üstlenir ve imza ederiz. Makalenin telif hakkı Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne devredilerek yayınlanması konusunda yetkili kılınmıştır.

Bununla birlikte yazarların aşağıdaki hakları saklıdır:

1. Telif Hakkı dışında kalan patent v.b. bütün tescil edilmiş haklar.
2. Yazarın gelecekteki kitaplar ve dersler gibi çalışmalarında; makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanma hakkı.
3. Makaleyi ticari amaçlarla kullanmamak koşulu ile çoğaltma hakkı.

Yazarın Adı ve Soyadı

Tarih

İmza

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

Sorumlu yazarın adı/yazışma adresi:

.....
.....

Telefon: Fax: E-mail:@.....

(Makale başvurusu ile bu formu bütün yazarlar tarafından imzalanmış olarak "<http://dergipark.gov.tr/huvfd>" adresinden yükleyiniz.)

