



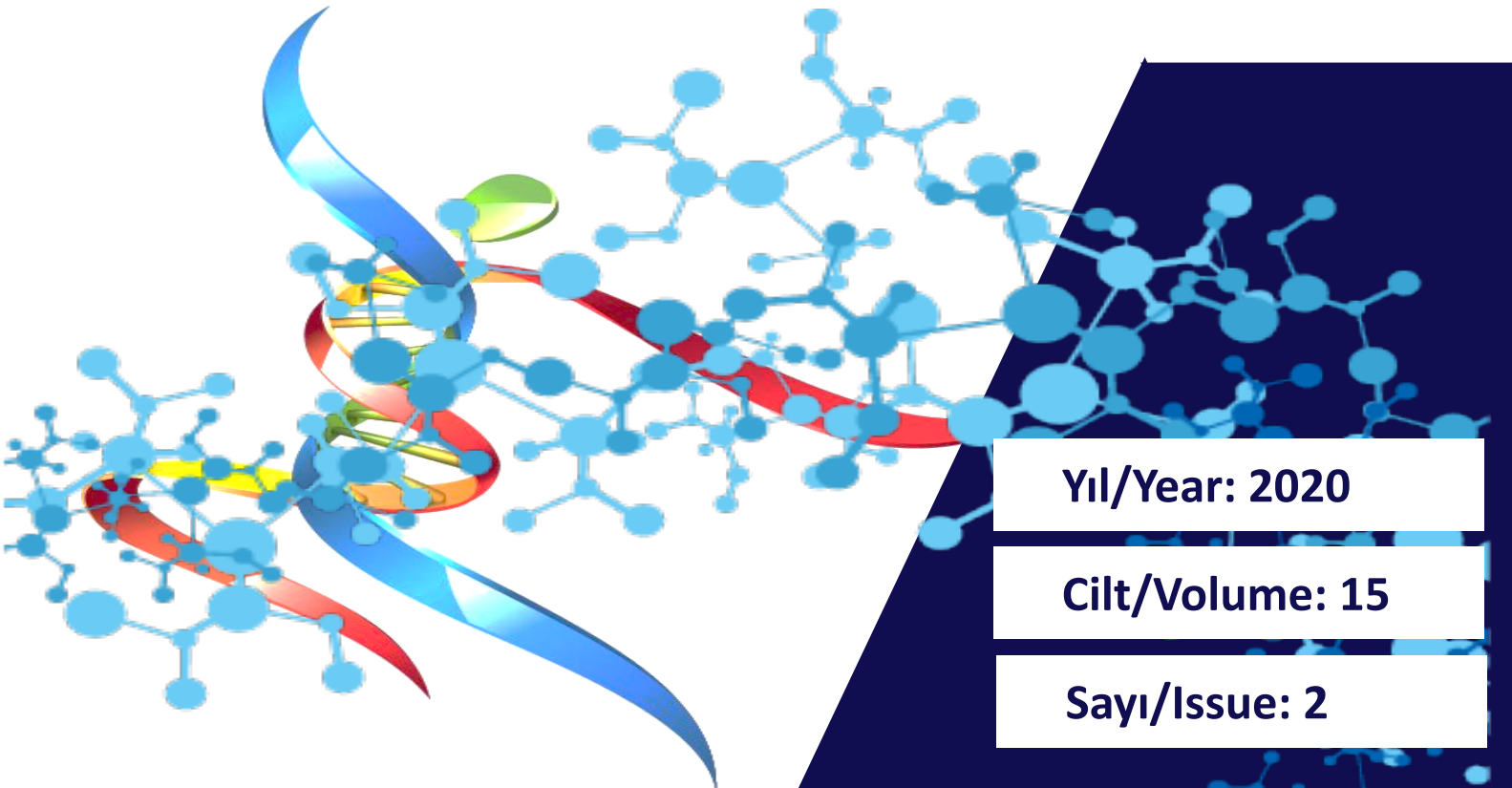
ISSN: 1306-6137
e-ISSN: 2147-9615

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

Veteriner Bilimleri Dergisi

ATATÜRK UNIVERSITY

Journal of Veterinary Sciences



Yıl/Year: 2020

Cilt/Volume: 15

Sayı/Issue: 2

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ataunivbd>

ISSN: 1306-6137
e-ISSN: 2147-9615

**Atatürk Üniversitesi
Veteriner Bilimleri Dergisi**

**Atatürk University
Journal of Veterinary Sciences**

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ataunivbd>

Ekim/October

Yıl/ Year: 2020

Cilt/Volume: 15

Sayı/Issue: 2



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ
ISSN: 1306 – 6137 / e-ISSN: 2147 – 9615
ATATÜRK UNIVERSITY
JOURNAL OF VETERINARY SCIENCE



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ ADINA SAHİBİ / OWNER

Prof. Dr. Hamza AVCIOĞLU

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD

Baş Editör / Editor-in-Chief

Prof. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ

Editör Yardımcıları / Associate Editors

Prof. Dr. Ekrem LAÇİN
(İstatistik Editörü / *Statistics Editor*)

Doç. Dr. Latif Emrah YANMAZ
(Yabancı Dil Editörü / *English Editor*)

Doç. Dr. Serkan YILDIRIM
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Doç. Dr. Hakan AYDIN
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Doç. Dr. Emin ŞENGÜL
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Doç. Dr. Serdar ALTUN
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Dr. Öğr. Üyesi Murat GENÇ
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Cemal ADIGÜZEL
(Bölüm Editörü / *Section Editor*)

YAYIN KURULU ÜYELERİ / EDITORIAL BOARD MEMBERS

Dr. Mustafa Atasever, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Zekai Halıcı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Mustafa Alişarlı, TÜRKİYE / TURKEY

Dr. Ardita Jahja-Hoxha, KOSOVA / KOSOVO

Dr. Aleksandra Gorecka-Bruzda, POLONYA / POLAND

Dr. Daniel Zahner, ALMANYA / GERMANY

Dr. Eva Voslarova, ÇEK CUMHURİYETİ / CZECH REPUBLIC

Dr. Tanvir Rahman, BANGLADEŞ / BANGLADESH

Sekreteryaya ve Web Tasarım *Secretariat and Web Design*

Doç. Dr. Serdar ALTUN

Dizgi *Typesetter*

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Cemal ADIGÜZEL

Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., ulusal hakemli bir dergi olup Nisan, Ekim ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Bu dergi, **ELSEVIER-Scopus**, **CAB Abstract**, **CABI full text**, **EBSCO**, **TÜBİTAK-ULAKBİM Yaşam Bilimleri Veritabanı** ve **Türkiye Atıf Dizini** tarafından taranmaktadır.

Atatürk University J. Vet. Sci., is a refereed national journal, is published tri-annually in April, October and December. This journal is abstracted in **ELSEVIER-Scopus**, **CAB Abstract**, **CABI full text**, **EBSCO**, **TUBİTAKULAKBİM-Life Science Database** and **Türkiye Citation Index**.

Yazışma Adresi / Correspondence Address

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü, 25240, Kampüs Erzurum / TÜRKİYE

Tel : +90 442 2317222, Fax: +90 442 2317244

E-posta: atavetderg@atauni.edu.tr; vetdergisi@atauni.edu.tr

Yıl / Year: 2020

Cilt / Volume: 15

Sayı / Issue : 2

Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 2020; 15(2)

Bu Sayının Hakem ve Danışman Listesi / List of Referees and Advisors for This Issue*

- Prof. Dr. Bülent POLAT, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Cahit KALKAN, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Gaffari TÜRK, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Meryem EREN, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kayseri, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Meryem KARAN, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Elazığ, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Mukaddes ÖZCAN, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veteriner Fakültesi, İstanbul, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Murat GÜZEL, Ondokuzmayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Samsun, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Oktay KESKİN, Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Şanlıurfa, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Semiha DEDE, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Van, TÜRKİYE.
- Prof. Dr. Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Aksaray, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Duygu Baki ACAR, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Emrah Hicazi AKSU, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Fatih BÜYÜK, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kars, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Furkan ORHAN, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Ağrı, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Hurrem Turan AKKOYUN, Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Siirt, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Mehmet CAN, Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Balıkesir, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Seyda CENGİZ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Erzurum, TÜRKİYE.
- Doç. Dr. Akın KIRBAŞ, Yozgat Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Yozgat, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Atilla TOPÇU, Rize Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Rize, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Aykut ULUCAN, Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bingöl, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Emin KARAKURT, Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Bingöl, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi H. Serkan EROL, Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kastamonu, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Muhammed YAYLA, Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kars, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Özgül GÜLAYDIN, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Van, TÜRKİYE.
- Dr. Öğr. Üyesi Volkan GELEN, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Kars, TÜRKİYE.

*Hakem listesi akademik unvan ve isme göre alfabetik olarak sıralanmıştır.

▶ Derviş ÖZDEMİR, Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Hülya BALKAYA, Hülya KARA. Hasmer Koyununda Arteria Celiaca ve Dallarının Makroanatomik İncelenmesi (<i>Macroanatomic Investigation of Arteria Celiaca and Its Branches in Hasmer Sheep</i>).	100-105	
▶ Leyla ATASEVEN. Determination of Seroprevalence of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis Disease by ELISA and AGID (<i>Siğirilerin İnfeksiyöz Keratokonjunktivitis Hastalığının Seroprevalansının ELISA ve AGID Testi ile Belirlenmesi</i>).	106-112	
▶ Duygu KÖSE, Zekai HALICI, Erdem TOKTAY. Prepubertal ve Postpubertal Sıçanların Genital Sistem Organlarında Ürotensin 2 Reseptörünün Karşılaştırılması (<i>A Comparison of Urotensin 2 Receptor in Genital System Organs of Prepubertal and Postpubertal Rats</i>).	113-121	
▶ Gizem ESER, Serkan YILDIRIM, Yavuz Selim SAĞLAM, Demet ÇELEBİ, Ahmet YILMAZ. Koyun Pnömonilerinde <i>Mannheimia (Pasteurella) haemolytica</i> İzolasyonu ve Patolojik İncelemeler (<i>Isolation and Pathological Examinations of Mannheimia (Pasteurella) haemolytica in Sheep Pneumonia</i>).	122-129	
▶ Safak SANDAYUK, Pınar AKSU KILICLE. Investigation of The Genotoxic Effect of Acetamidiprid in Mouse Bone Marrow Cells by KA (chromosomal aberration) and MN (micronucleus) Test Methods (<i>Asetamidipridin Fare Kemik İliği Hücrelerinde Genotoksik etkisinin KA (Kromozomal Aberasyon) ve MN (Mikronükleus) Test Yöntemleri ile Araştırılması</i>).	130-137	
▶ Recep Hakkı KOCA, Muhammed Mesud HÜRKUL, Serdal KURT, Ayşegül KÖROĞLU. Wistar Albino Sıçanlarda <i>Michauxia campanuloides L'Hér.</i> 'in Bazı Sperma Parametreleri Üzerine Etkisi (<i>The effect of Michauxia campanuloides L'Hér. on Some Semen Parameters in Wistar Albino Rats</i>).	138-144	
▶ Emrah BAYYİT, Oğuz MERHAN. Normal ve Güç Doğum Yapan İneklerde Bazı Akut Faz Proteinlerinin ve Oksidatif Stres Düzeyinin Belirlenmesi (<i>Some Acute Phase Proteins and Oxidative Stress Level in Cows with Normal Parturition and Dystocia</i>).	145-150	
▶ İsmail AYTEKİN. Botulismuslu İneklerde Serum Total Sialik Asit Konsantrasyonunun ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi (<i>Evaluation of Serum Total Sialic Acid Levels and Some Biochemical Parameters in Cows with Botulism</i>).	151-155	
▶ Hüban GÖÇMEN, Hazel TAMAKAN, Halit ŞÜKRÜ, Ömer Memduh ESENDAL. Kedi ve Köpeklerden İzole Edilen <i>Staphylococcus</i> Türlerinde Çoklu İlaç Dirençliliğinin Araştırılması (<i>Investigation of Multidrug Resistance among Staphylococcus Species Isolated from Cats and Dogs</i>).	156-166	
▶ Osman YILMAZ, Zafer SOYGÜDER, Alpaslan YAVUZ. Van Kedilerinde Skeleton Manus'un Bilgisayarlı Tomografi ile Üç Boyutlu Olarak İncelenmesi (<i>Three-Dimensional Investigation by Computed Tomography of The Skeleton Manus in Van Cats</i>).	167-176	
Olgu Sunumu / Case Report		
▶ Gizem AKIN. <i>Rottweiler</i> Irkı Köpekte Uterin Leyomyosarkom, Miyometritis ve Hemanjiyosarkom Olgusu (<i>A Case of Uterine Leiomyosarcoma, Myometritis and Hemangiosarcoma in a Rottweiler Dog</i>).	177-180	
Derlemeler / Reviews		
▶ Beyzagül POLAT ERKAYMAN. Sepsis Oluşturmak İçin Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri (<i>Experimental Animal Models for Sepsis</i>).	181-186	
▶ Oğuzcan KOCA, Nurcan DÖNMEZ. İkinci Beyin: Bağırsak (<i>Second Brain: Gut</i>).	187-195	
Yıl / Year: 2020	Cilt / Volume: 15	Sayı / Issue: 2



Hasmer Koyununda Arteria Celiaca ve Dallarının Makroanatomik İncelenmesi

Derviş ÖZDEMİR^{1a✉}, Zekeriya ÖZÜDOĞRU^{2b}, Hülya BALKAYA^{1c}, Hülya KARA^{1d}

1. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

2. Aksaray Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Aksaray, TÜRKİYE.

ORCID: 0000-0002-6038-0485^a, 0000-0002-0789 3628^b, 0000-0001-6164-158X^c, 0000-0002-7678-6471^d

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
23.12.2019	05.02.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Özdemir D, Özudoğru Z, Balkaya H, Kara H: Hasmer Koyununda Arteria Celiaca ve Dallarının Makroanatomik İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 100-105, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.663691

Öz: Bu çalışmada, hasmer koyun ırkının arteria celiaca ve dallarının makro-anatomik olarak incelenmesi amaçlandı. Araştırmada altı adet hasmer koyunu kullanıldı. Karın boşluğu açılan materyallere, aorta abdominalis'ten renklendirilmiş latex ve monopolymethymethacrylate (takilon) verildi. Aorta abdominalis'in cavum abdominis'te verdiği ilk dalın arteria celiaca olduğu belirlendi. Arteria celiaca'dan önce arteria lienalis'in daha sonra arteria hepatica ile arteria gastrica sinistra'nın ortak bir kök halinde ayrıldığı tespit edildi. Arteria lienalis'in; rami pancreatici, ramus epiploicus, arteria ruminalis sinistra ve arteria ruminalis dextra isimli dallara sahip olduğu gözlemlendi. Arteria hepatica'nın, porta hepatis seviyesinde arteria cystica, arteria gastrica dextra ve rami pancreatici'yi verdiği ve damarın devamının arteria gastroduodenalis olduğu belirlendi. Arteria celiaca'nın devamı durumunda olan arteria gastrica sinistra'nın, en kalın dal olduğu, seyri esnasında arteria reticularis'i, arteria gastroepiploica sinistra ile arteria reticularis accessoria'yı verdiği ve daha sonra arteria gastrica dextra ile anastomoz yaparak sonlandığı tespit edildi. Arteria reticularis, ramus ruminalis ve ramus reticularis isimli dallara ayrılmaktaydı. Arteria reticularis accessoria'nın ise reticulum'un visceral yüzü ile omasum'un parietal yüzüne birkaç dal vererek sonlandığı belirlendi. Sonuç olarak; hasmer koyun ırkında arteria celiaca'nın aorta abdominalis'teki başlangıcından, organları vaskülarize eden dallarına kadar birtakım farklılıklara sahip olduğu belirlendi. Tespit edilen farklılıkların ırk özelliğinden kaynaklanabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Anatomi, Arteria celiaca, Hasmer koyunu.

Macroanatomic Investigation of Arteria Celiaca and Its Branches in Hasmer Sheep

Abstract: In this study, it was aimed to investigate the arteria celiaca and its branches macro-anatomically. Six hasmer sheep were used in the study. Latex and monopolymethymethacrylate (tachilon) colored to abdominal aorta were given to the abdominal cavity. It was determined that the first branch of aorta abdominalis in the cavum abdominis was arteria celiaca. Arteria lienalis before arterial celiaca and then arteria hepatica and arteria gastrica sinistra were separated into a common root. Arteria lienalis branched rami pancreatici, ramus epiploicus, arteria ruminalis sinistra and arteria ruminalis dextra. Arteria hepatica gave arteria cystica, arteria gastrica dextra and rami pancreatici at the porta hepatis level and the continuation of the vessel was arteria gastroduodenalis. The arteria gastrica sinistra, which is the continuation of the arterial celiaca, was found to be the thickest branch, during which it gave arteria reticularis, arteria gastroepiploica sinistra and arteria reticularis accessoria, and then ended up with anastomosis with arteria gastrica dextra. Arteria reticularis, ramus ruminalis and ramus reticularis were divided into branches. Arteria reticularis accessoria was terminated by giving a few branches to the visceral face of the reticulum and the parietal face of the omasum. As a result; in the hasmer sheep breed, the origin of the artery celiaca in the aorta abdominalis and vascularizing branches of the organs were determined to have several differences. It was concluded that the differences could be due to race characteristics.

Keywords: Anatomy, Arteria celiaca, Hasmer sheep.

✉ Derviş Özdemir

Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
e-posta: dozdemir@atauni.edu.tr

GİRİŞ

Türkiye’de düşük verimli yerli ırkları geliştirmek ve tekstildeki hammadde ihtiyacını karşılamak amacıyla, et ve yapağıya yönelik koyun ırkları ıslah çalışmaları planlanmıştır. Günümüz tekstil sanayisinde suni elyafın daha çok kullanılması ve koyunculuk alanındaki getirilerin büyük bir kısmını et veriminin teşkil etmesi nedeniyle, Türkiye’de de etçi koyun ırkı geliştirilmesi çalışmaları başlatılmıştır. Bu amaçla, 1980’li yıllardan sonra yurtdışından İngiliz ve Alman etçi koyun ırklarının koçları ithal edilmiş ve bu ırklar yerli ırklarla melezlenerek kasaplık kuzular yetiştirilmiştir (1,2). Bu melez ırklardan biri olan hasmer koyunu, Hampshire, Alman Siyah Başlı ve Merinos koyun ırklarının üçlü melezlemesiyle elde edilen bir koyun ırkıdır (3).

Koyun (4-14), keçi (5,7,15-19) ve bazı memeli türlerinde (20-24) arteria celiaca anatomik olarak araştırılmıştır. Ancak, Türkiye’de yerli bir ırk olarak bulunan Hasmer koyun ırkının arteria celiaca ve dalları hakkında herhangi bir çalışmanın bulunmadığı tespit edilmiş ve bu araştırmayla konu hakkındaki eksikliğin giderilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

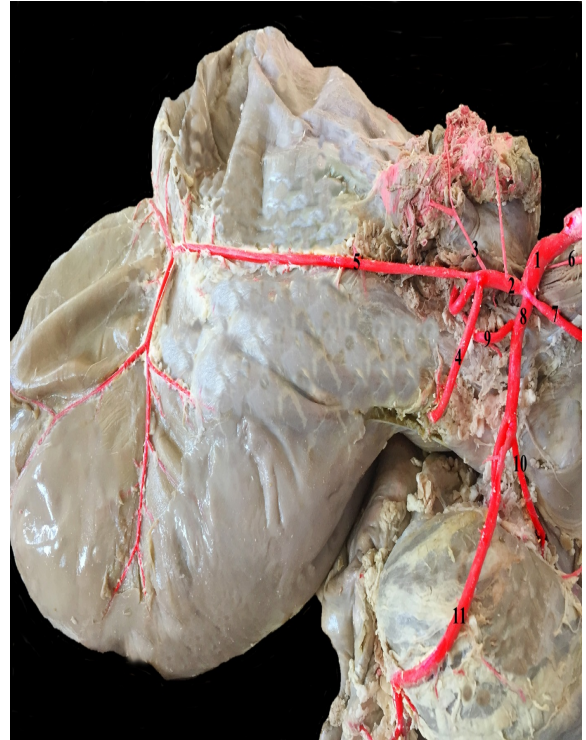
Çalışmada, Konya Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Deney Hayvanları Ünitesi Birimi’nden tedarik edilen altı adet hasmer koyunu kullanıldı. Aorta abdominalis içerisine %10’luk tuzlu su verilerek yıkandıktan sonra, kırmızı kumaş boyası ile latex karıştırılarak damar içine enjekte edildi. Materyaller %10’luk formaldehit solüsyonunda 24 saat süre ile bekletildi ve diseke edildi. Diseksiyonları tamamlanan materyallerin, Nikon P900 83X Optik Zoom marka fotoğraf makinesi ile fotoğrafları alındı. Terminolojide Nomina Anatomica Veterinaria (N.A.V.) esas alındı (25). Çalışma için gerekli izin, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Birim Etik Kurul’undan alındı (Tarih: 14.05.2018, sayı: 2018/55).

BULGULAR

Aorta abdominalis’in, hiatus aorticus aracılığı ile cavum thoracis’ten cavum abdominis’e geçtiği

gözlemlendi. Cavum abdominis’te verdiği ilk dal olan arteria celiaca’nın birinci lumbal omur hizasında ventrale doğru seyrettiği belirlendi.

Arteria celiaca’dan ilk ayrılan damarın arteriae phrenicae caudales olduğu gözlemlendi. Daha sonra sırasıyla arteria lienalis ve arteria hepatica ile arteria gastrica sinistra’nın ortak bir kök halinde orijin aldığı tespit edildi (Şekil 1).



Şekil 1. Arteria lienalis ve arteria gastrica sinistra’nın dalları.

Figure 1. Arteria lienalis and arteria gastrica sinistra’s branches.

1-a. celiaca, 2- a. lienalis, 3- ramus epiploicus, 4- a. ruminalis dextra, 5- a. ruminalis sinistra, 6-a. phrenica caudalis, 7- a. hepatica, 8- a. gastrica sinistra, 9- a. reticularis, 10- a. reticularis accessoria, 11- a. gastroepiploica sinistra.

Arteria lienalis

Arteria lienalis, pancreas’a giden rami pancreatici’yi verdikten sonra omentum majus içinde ramus epiploicus ve arteria ruminalis sinistra ve arteria ruminalis dextra’yı verdikten sonra arteria lienalis olarak hilus lienalis’e giren damarın iki dala ayrıldığı görüldü (Şekil 1,2).

pancreas'ı besleyen dallar verdiği gözlemlendi. Arteria mesenterica cranialis'in bir dalı olan arteria pancreaticoduodenalis caudalis ile anastomoz yaptığı görüldü.

Arteria gastrica sinistra

Arteria hepatica ile ortak bir kök halinde arteria celiaca'dan orijin alan arteria gastrica sinistra'nın, damarın devamı durumunda olduğu gözlemlendi. Arteria celiaca'nın verdiği dalların en kalını olmasıyla dikkat çekmekteydi. Bu damarın seyri esnasında ilk olarak arteria reticularis'i verdiği, omasumla reticulum arasındaki alanda ise arteria gastroepiploica sinistra ile arteria reticularis accessoria'yı verdikten sonra omasum'un visceral yüzünde sağlı ve sollu dallar vererek seyrine devam ettiği belirlendi (Şekil 1,2). Abomasum'un curvatura minor isimli kenarında arteria gastrica dextra ile anastomoz yaparak sonlandığı tespit edildi.

Arteria reticularis

Arteria gastrica sinistra'dan orijin alan arteria reticularis'in (Şekil 1,2), sulcus reticuloruminalis içerisindeki seyrinde ramus ruminalis ve ramus reticularis isimli dalları verdiği gözlemlendi.

Arteria gastroepiploica sinistra

Atrium ruminis üzerinde arteria gastrica sinistra'dan cranioventral yönde orijin alan arteria gastroepiploica sinistra'nın (Şekil 1,2), sulcus reticulo-omasi'den geçerek abomasum'un curvatura major adlı kenarında arteria gastroepiploica dextra ile anastomoz yaptığı ve seyri sırasında ve omentum majus, reticulum, omasum ve abomasum'a dallar verdiği tespit edildi.

Arteria reticularis accessoria

Arteria gastroepiploica sinistra'dan hemen sonra arteria gastrica sinistra'dan orijin alan arteria reticularis accessoria'nın (Şekil 1,2), reticulumun visceral yüzü ile omasum'un parietal yüzünde birtakım dallar verdiği belirlendi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Hiatus aorticus aracılığı ile cavum thoracis'ten cavum abdominis'e geçen aorta abdominalis'in, cavum abdominis'te verdiği ilk dalın arteria celiaca olduğu tespit edildi. Arteria celiaca'nın birinci lumbal omur hizasında ventrale doğru seyrettiği belirlendi. Arteria celiaca'nın orijini ve aorta abdominalis'in ilk dalı olduğu şeklindeki bulgular, bazı koyun (9,10) ve keçi ırklarında da (17,18) saptanmıştır. Özudoğru ve ark. (4) Konya merinosunda; Dursun (26) ve Türkmenoğlu (7) ruminantta arteria celiaca'nın son thoracal ve birinci lumbal omur arasından orijin aldığını bildirirken, Alsafy (15) ile El Gendy (16) keçide, 1. ve 2. lumbal omur düzeyinde aorta abdominalis'in ventralinden orijin aldığını rapor etmişlerdir. Bazı araştırmacılar (5,6,8,15,20) ise materyallerin bir kısmında arteria celiaca'nın, arteria mesenterica cranialis ile ortak bir kök halinde aorta abdominalis'ten orijin aldığını bildirmişlerdir.

Özudoğru ve ark. (4), Türkmenoğlu (7) materyal olarak kullandığı koyunların üç tanesinde arteria hepatica ile arteria gastrica sinistra'nın ortak bir kök halinde çıktığını ve Maala ve ark. (19) keçide arteria celiaca'nın dallanmasının altı değişik şekilde olduğunu ve bunlardan birisinde arteria gastrica sinistra ile arteria hepatica'nın ortak bir kök şeklinde çıktığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada da arteria gastrica sinistra ile arteria hepatica'nın ortak bir kök olarak arteria celiaca'dan orijin aldığı tespit edildi. Bazı yazarlar (5,6,8,21,27,28) ise arteria celiaca'dan; arteria lienalis, arteria gastrica sinistra ve arteria hepatica'nın ayrı üç dal olarak çıktığını ifade etmişlerdir. Bazı araştırmacılar da (10,15,24) arteria celiaca'dan; arteria lienalis, arteria hepatica, arteria gastrica sinistra ve arteria ruminalis sinistra olmak üzere dört ayrı dal olarak ayrıldıklarını belirtmişlerdir.

A. lienalis'in; ramus epiploicus, arteria ruminalis sinistra ve arteria ruminalis dextra'yı verdikten sonra arteria lienalis olarak dalakta sonlandığı tespit edildi. Benzer bulguların koyun (10), keçi (15) ve buffaloda (20) da gözlemlendiği belirtilmiştir.

Arteria gastrica sinistra'nın arteria celiaca'nın verdiği en kalın dal olduğu ve aynı zamanda damarın devamı niteliği taşıdığı şeklindeki tespit, Boccaletti ve Borelli (11) ile Mohamed ve ark. (10) ile koyunda, Mohamed ve ark. (17)'nin keçide tespit ettikleri bulgularla uyumludur.

Literatürde (26) arteria hepatica'nın arteria gastrica sinistra'dan daha kalın bir damar olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da arteria hepatica'nın arteria gastrica sinistra'dan daha ince bir damar olduğu belirlenmiştir.

Arteria cystica'nın, keçi (15), ruminant ve sus'ta (29) arteria hepatica'dan başlangıç aldıktan sonra karaciğerin visceral yüzünde seyrettiği ve vesica fellea'ya kadar uzandığı şeklindeki bildirim araştırma bulgularıyla benzerdir.

Rumen'in atrium ruminis ile reticulum'un caudal yüzünü besleyen arteria reticularis'in, arteria gastrica sinistra'dan orijin aldığı belirlenmiştir. Nayar ve ark. (30) keçide, Türkmenoğlu (7) koyunda, Smuts ve Bezuidenhout (28) deve, Machado ve ark. (20) buffaloda arteria reticularis'in arteria gastrica sinistra'dan; Alsafy (15) keçide arteria ruminalis sinistra'dan; Mohamed ve ark. (10) koyunda arteria gastrica sinistra'dan veya arteria ruminalis sinistra'dan orijin aldıklarını rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak; araştırma materyali olarak kullanılan hasmer koyununda, arteria celiaca'nın aorta abdominalis'teki başlangıcından, organları vaskülarize eden dallarına kadar diğer koyun ırklarına göre birtakım farklılıklar saptandı. Tespit edilen farklılıkların ırk özelliğinden kaynaklanabileceği kanısına varıldı.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Akçapınar H., Tekin ME., Kadak R., Akmaz A., Müftüoğlu Ş., 1992. Merinos, Alman Siyah Başlı Etçi x Merinos, Hampshire Down x Merinos ve Lincoln x Merinos (F1) kuzularının büyüme, besi ve karkas özellikleri. Hayvancılık Araştırma Derg, 2, 18-23.
2. Tekin ME., Akçapınar H., 1992. Türk Merinosu ve Lincoln x Türk Merinosu (F1) melezi kuzuların büyüme, besi ve karkas özelliklerinin karşılaştırılması. II. Besi özellikleri. Lalahan Hayvancılık Araştırma Derg, 32, 28-39.
3. Kaymakçı M., Taşkın T., 2008. Türkiye koyuncululuğunda melezleme çalışmaları. Hayvansal Üretim, 49, 43-51.
4. Özudoğru Z., Özdemir D., Balkaya H., Kara H., 2019. Konya Merinosunun arteria celiaca'sı ve dalları üzerine macroanatomik bir çalışma. Atatürk Üniv Vet Bil Derg, 14, 45-51.
5. Karadağ H., 1988. The anatomical comparative study on the celiac artery and its branches in Akkaraman sheep and ordinary goat. J Vet Sci, 12, 196-204.
6. Karmona KH., Kovachev G., 1985. Variability of the celiac artery and its branches in sheep. Vet Med Nauki, 22, 31-37.
7. Türkmenoğlu İ., 1996. Akkaraman Koyunu ve Ankara Keçisinde karın boşluğu arterleri üzerinde karşılaştırmalı makroanatomik araştırmalar. Selçuk Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
8. Langenfeld M., Patea E., 1977. Anatomical variants of the celiac artery in the sheep, with special reference to the celiomesenteric arterial trunk. Anat Anz, 142, 168-174.
9. Mohamed R., Adogwa A., Driscoll M., Rampersad S., 2016. Arterial supply of the stomach of the barbados black belly sheep in Trinidad. Int J Vet Sci, 5, 142-147.
10. Balkaya H., Özudoğru Z., Özdemir D., 2017. Güney Karaman koyununda arteria celiaca ve dallarının makroanatomik yapısı. I. Uluslararası Türkiye Veteriner Anatomi Kongresi & X. Ulusal Veteriner Anatomi Kongresi 13-16 Eylül 2017, Sandıklı/Türkiye.
11. Boccaletti D., Borelli V., 1981. Ramification of the celiac artery in sheep of Corriedale race. Belo

- Horizonte, Minas Gerais, Brasil, Socied Brasil de Anat, pp: 47- 48.
12. Venkatesh B., Purushotham G., Pramod Kumar D., Raghavender KBP., 2018. Anatomical distribution of the hepatic artery in sheep. J Pharm and Phytochem, 7, 2529-2533.
 13. Venkatesh B., Purushotham G., Pramod Kumar D., Raghavender KBP., 2018. Anatomical studies on the cystic artery of sheep (*Ovis aries*). The Pharma Innov J, 7, 650-655.
 14. Koç O., Acar K., Özbek O., Güler İ., Sarıtaş K., Erdem TB., Solak Y., Toy H., Küçükapan A., Özbek S., Gaipov A., Haznedaroğlu İC., 2016. Splenic artery embolization with Ankaferd blood stopper in a sheep model. Diagn Interv Radiol, 22 (4), 354-357.
 15. Alsafy M., 2009. Celiac trunk and the variability of its branches in goats. J App Biolog Sci, 3, 65-70.
 16. El Gendy SAA., 2007. Surgical anatomical approach of the abdomen in the goat. PhD thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Alexandria.
 17. Mohamed R., Adam Z., Gad M., 2017. Arterial supply of the stomach of the Egyptian native goat. J Adv Vet Anim Res, 4, 80-87.
 18. Youssef GA., 1991. Some anatomical studies on the coeliac, cranial mesenteric and caudal mesenteric arteries of goat. PhD Thesis, Faculty of Vet. Med. Moshtohor, Zagazig University; Benha, Egypt.
 19. Maala C., Reyes EV., Ducusin RJ., 1988. Some contributions to the anatomy of the arterial supply to the stom-ach of the goat. Philipp. J Vet Med, 25, 47-52.
 20. Machado F., Miglino A., Didio A., Oliveira Borges C., 2002. The arterial supply of buffalo stomachs (*Bubalus Bubalis*). Buffalo J, 18, 257-265.
 21. McCarthy PH., 1984. Transruminial palpation of abdominal arteries of the permanently fistulated dairy cow. Am J Vet Res, 45, 1632-1937.
 22. Yousefi MH., 2016. Ramification of celiac artery in the pine marten (*Martes martes*). Iranian J Vet Sci and Tech, 8, 60-65.
 23. Kuru N., 2016. Macroanatomic investigations of the course and distribution of the celiac artery in the New Zealand rabbit. Van Vet Journal, 27, 117-122.
 24. Perez W., Vazques N., Ungerfeld R., 2016. Arterial vasularization of the gastrointestinal tract of the pampas deer. Anat Histol Embryol, 45, 240-245.
 25. Anonymous., 2012. Nomina Anatomica Veterinaria, 5th. Ed. Copyright by the World Association of Veterinary Anatomists.
 26. Dursun N., 2008. Veteriner Anatomi II. 12. Baskı. Medisan Yayınevi, 128-163, Ankara.
 27. Dyce KM., Sack WO., Wensing CJG., 1987. Text Book of Veterinary Anatomy. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
 28. Smuts MMS., Bezuidenhout AJ., 1987. Anatomy of the Dromedary. Clarendon press, pp: 156-170, 175-177, Oxford.
 29. Getty R., 1975. Sisson and Grossman's The Anatomy of the Domestic Animals. Vol.2, Fifth ed., W. B. Saunders Company, Philedephia, London.
 30. Nayar KN., Singh MG., Singh Y., Singh P., Singh R., 1983. Comparative arteriographic anatomy of the abdominal viscera and lumbar region in goats, dogs, pigs and rabbits. Indian j Anim Sci, 53, 1310-1314.



Determination of Seroprevalence of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis Disease by ELISA and AGID*

Lale ATASEVEN^{1a}✉

1. Hatay Food Control Laboratory, Hatay, TURKEY.
ORCID: 0000-0003-0443-5418^a

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
07.12.2019	15.04.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Ataseven L: Determination of Seroprevalence of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis Disease by ELISA and AGID. Atatürk University J. Vet. Sci., 15(2): 106-112, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.656701

Abstract: Infectious Bovine Keratoconjunctivitis (IBK) is a highly contagious disease of conjunctiva and cornea in cattle which causes significant economic losses in cattle breeding. The objective of this study is to determine serum antibodies against *M. bovis* and obtaining information about the seroprevalence of IBK by AGID test and ELISA. Serum samples, collected from 552 cattle in different herds in Turkey were examined for specific antibodies against *Moraxella bovis* (*M. bovis*). The seropositivity of IBK in cattle sera with clinical signs was determined as 26.1% and 5.8% by ELISA and AGID, respectively. Seropositivity in sera samples of healthy appeared cattle were detected as 26.3% and 5.6% by ELISA and AGID, respectively. According to the results, the highest seropositivity (36.5%) was detected in the animals aged 12-24 months. Similar seroprevalence detection rates were recorded in cattle with and without clinical signs. Clinical signs, specifically, does not give knowledge about the exact percentage of the IBK. Therefore, besides isolation and identification of the agent, serological tests like ELISA, as a screening test, should be preferred to determine the presence and spread of IBK in the herd.

Keywords: Agar gel immunodiffusion, ELISA, *Moraxella bovis*, Seroprevalence, Turkey.

Sığırların İnfeksiyöz Keratokonjunktivitis Hastalığının Seroprevalansının ELISA ve AGID Testi ile Belirlenmesi

Öz: Sığırların infeksiyöz keratokonjunktivitis hastalığı (IBK) sığır kornea ve konjunktivasının çok bulaşıcı bir infeksiyöz hastalığı olup sığır yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu çalışmada, ELISA ve AGID ile sığır serumlarında *M. bovis*'e karşı oluşmuş serum antikorlarının belirlenmesi ve IBK'nın seroprevalansı ile ilgili bilgi edinilmesi amaçlandı. Araştırmada Türkiye'deki çeşitli çiftliklerdeki sığırlardan temin edilen toplam 552 kan serumu *Moraxella bovis* (*M. bovis*)'e karşı oluşmuş spesifik antikorlar yönünden teste tabi tutuldu. Klinik bulgu gösteren hayvanlara ait serumların %26.1' i ELISA, %5.8' i ise Agar jel immünodifüzyon testi ile pozitif tespit edildi. Sağlıklı görünen hayvanlara ait serumların ise %26.3'ü ELISA, %5.6'sı Agar jel immünodifüzyon testi ile pozitif olarak tespit edildi. Sonuçlara göre en yüksek seropozitiflik 12 ila 24 aylık sığırlarda (%36.5) saptandı. Klinik bulgu gösteren ve klinik bulgu göstermeyen sığırlarda seroprevalans oranlarının benzer olduğu tespit edildi. Keratokonjunktivit gibi klinik bulgular, spesifik olarak IBK'nın sürüdeki gerçek oranı hakkında bilgi vermemektedir. Bu nedenle etkenin izolasyon ve identifikasyonunun yapılmasının yanısıra hastalığın sürüdeki varlığının ve yaygınlığının tespiti için tarama amacıyla ELISA gibi serolojik bir test tercih edilebilir.

Anahtar Kelimeler: Agar jel immünodifüzyon, ELISA, *Moraxella bovis*, Seroprevalans, Türkiye.

✉ Lale ATASEVEN

Hatay Food Control Laboratory, Hatay, TURKEY.
e-mail: laleata@hotmail.com

*The paper is summarized from the same named PhD thesis of author.

INTRODUCTION

Infectious Bovine Keratoconjunctivitis (IBK) has been associated with ocular disease characterized by lacrimation, photophobia, conjunctivitis, keratitis, corneal opacity, and corneal ulceration in cattle and, the disease causes severe economic loss in cattle breeding worldwide as a highly contagious disease (1-6). *Moraxella bovis* (*M. bovis*) is considered as primary etiologic agent of IBK (3,5,7,8) which was characterized as the Gram-negative aerobic/microaerophilic rod-shaped coccobacillus (9). Many serotypes of *M. bovis* vary in pathogenicity and some other *Moraxella* species like *Moraxella bovoculi* (*M. bovoculi*) and *Moraxella ovis* (*M. ovis*) have also been isolated from the IBK cases. According to new investigations, the most significant bias is the failure to show a specific association between cases and organism colonization, so, *M. bovoculi* or other alike bacteria may be the secondary invading pathogen in IBK lesions (6,10-12).

In order to determine the antibodies against *M. bovis* in natural or experimentally infected cattle; techniques like plate and tube agglutination tests, passive hemagglutination, agar gel immunodiffusion (AGID), indirect immunofluorescent and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) can be used (7, 13-17). Although the immunodiffusion test can detect the serum antibodies against *M. bovis*, ELISA detects the antibodies against *M. bovis* both in blood

sera and lacrimal secret (15,17). That's why, ELISA remains an important tool for diagnostic purposes, particularly in determining seroconvert animals within the population on field investigations about IBK.

Several studies indicated that the infection is more prevalent in the world including the USA, Australia, Ethiopia, India, Britain, Scotland, Ireland, Japan, Hungary, Nigeria, and New Zealand etc. (3,18-23). Although there have been reports about the isolation of *M. bovis* in Turkey (24-26) serological studies about the disease are limited (24). The objective of the present study was to determine the anti-*M. bovis* antibodies by ELISA and AGID and obtain data about the seroprevalence of IBK. This is the first use of ELISA for the investigation of the disease in Turkey.

MATERIALS and METHODS

Serum Samples

A total of 552 blood sera obtained from 483 healthy-appearing and 69 symptomatic (epiphora, conjunctivitis, keratitis, opacity) cattle from 6 different regions were examined. Herds sampled and the number of samples were shown in Table 1. The current study was carried out in accordance with ethical principles.

Table 1. The source of test serum and distribution of serum numbers by age groups.

Tablo 1. Test serumlarının kaynağı ve serum sayılarının yaş gruplarına göre dağılımı.

	Clinical signs (+/-)		Ages				Total
	+	-	0-6 months	7-11 months	12-24 months	>24 months	
Bala AE*(Ankara)	24	115	77	24	7	31	139
Gelemen AE* (Samsun)	9	43	-	20	32	-	52
Karaköy AE* (Samsun)	24	218	46	76	47	73	242
Bolu-Düzce-Gerede	4	72	11	12	15	38	76
Bursa	6	18	10	1	6	7	24
Kars	2	17	-	-	19	-	19
Total	69	483	144	133	126	149	552

*A.E. : Agricultural Enterprise (Tarım işletmesi)

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

The ELISA protocol to *M. bovis* specific antibodies was adapted from Bishop et al. (15). *Haemolytic M. bovis* strain (IBH63 Iowa Strain, NADC, Ames) was used as a test and immunization antigen. In order to assess the absorbance values as positive or negative, 10 negative and 2 positive control sera were included in each plate. Sera, which have 3 fold OD values than the mean OD values of negative control sera were accepted as positive. Positive control immunosera were prepared according to the method reported by Pugh et al. (27) ELISA antigen was prepared by a method reported by Bishop et al. (15) and, the chessboard method was used to determine the optimal dilutions of conjugate and antigen which used in the assay.

Agar Gel Immunodiffusion (AGID)

Immunization antigen, test antigen, and positive sera were prepared according to the method reported by Gil-Turnes and Araujo (16). For the standardization of AGID test, different percentages of Noble Agar and Purified Agar were examined as test media, and different dilutions of AGID antigens

were tested. It was concluded to use the 1% of purified agar in veronal buffer solution as test media and ½ of antigen dilution was concluded to use as test antigen. The protein quantity of the test antigen was determined as 1167 µg/ml by the Lowry method. The titer of immunosera was determined by the use of this antigen. At each test media (plate) one positive and one negative control sera were included.

Statistical Analysis

According to *M. bovis* antibodies, statistics expressed in numbers and percentages. The Kappa (K) test was used to determine the correlation between the tests and the difference between the age groups was evaluated by the Chi-square test (28).

RESULTS

Of 552 sera, 145 (26.3%) were found positive with ELISA, and 31 (5.6%) were found to be positive by AGID. While the correlation between ELISA and AGID test was found as 0.28 by Kappa analyze, the difference between analyses was found significant ($P < 0.001$). The seroprevalence results of the sampled sera are shown in Table 2.

Table 2. ELISA** and AGID*** test results of serum samples.

Tablo 2. Serum örneklerinin ELISA** ve AGID*** testi sonuçları.

Sampling Areas	Number of Sera samples (n)	ELISA positive sera % (n)	AGID positive sera % (n)
Bursa	24	62.5 (15)	16.6 (4)
Kars	19	36.8 (7)	0 (-)
Bolu-Düzce-Gerede	76	25 (19)	5.26 (4)
Karaköy* (Samsun)	242	19 (46)	2.89 (7)
Gelemen* (Samsun)	52	59.6 (31)	7.69 (4)
Bala* (Ankara)	139	19.4 (27)	8.6 (12)
Total	552	26.3** (145)	5.6** (31)

*A.E. : Agricultural Enterprise, **Difference was found significant by Kappa Analyse ($P < 0.01$).

** Enzyme Linked Immunosorbent Assay *** Agar Gel Immunodiffusion

Sera from the cattle with clinical signs and without clinical signs were found 26.1% (18/69) and 26.3% (127/483) positive via ELISA respectively; and 5.8% (4/69) and 5.6% (27/127) of them were found seropositive by AGID.

According to the seropositivity, the difference between the animals with or without clinical signs was determined as statistically not significant ($P > 0.05$). The results were summarized in Table 3.

Table 3. The ELISA** and AGID*** results of clinical sign positive and negative animals.**Tablo 3.** Klinik belirti gösteren ve göstermeyen hayvanların ELISA** ve AGID*** sonuçları.

Clinical sign (+/-) (n)	ELISA antibody positive* % (n)	AGID antibody positive* % (n)
Clinical sign positive (69)	26.1 ^a (18/69)	5.8 ^b (4/69)
Clinical sign negative (483)	26.3 ^a (127/483)	5.6 ^b (27/483)

* The difference between the groups with the same letters was not significant ($P > 0.05$) and the difference between the groups with different letters in the same row was significant ($P < 0.01$). ** Enzyme Linked Immunosorbent Assay *** Agar Gel Immunodiffusion

According to the age groups ELISA positivity rates were as follows 18.05% (26/144) in 0-6 months, 29.3% (39/133) in 7-11 months, 36.5% (46/126) in 12-24 months, and 22.8% (34/149) were positive in elder animals. The difference between the age groups was found significant statistically ($P < 0.01$).

DISCUSSION and CONCLUSION

In Turkey, Erdeğer (24) reported seropositivity against *M. bovis* as 6.3% (32/507) in sera delivered from the slaughterhouse of Meat and Fish Authority (Ankara), Karacabey Agricultural Enterprise (Bursa) and Veterinary Control Central Research Institute (originated from Sivas, Bala, Malatya, Urfa) by AGID. AGID results (5.6%) here were compatible with the results of Erdeğer.

In the current study seropositivity against *M. bovis* was determined as 26.3% by ELISA. This rate is higher than the AGID results. In fact, ELISA can detect even very low levels of antibodies against the agent (29). Additionally, experimental infection and vaccine studies have shown that precipitant antibodies became to be determined on the 28th day by AGID (27,30). The difference between the antibody determination rates is thought to be because of the higher sensitivity of ELISA than AGID and the ability of ELISA to detect the antibodies that occur in the early stages of infection.

Clinical sign positive animals were determined as positive (5.8%) by AGID. This rate was found to be 5.6% in healthy-looking animals. Antibody positivity in healthy-looking animals suggests that these animals were previously infected or that they were persisted following an acute infection. After an IBK epidemic, the infection can persist for up to 10 weeks. Animals that do not show clinical signs are

reservoirs especially for a young and sensitive herd (7,31). Eyes, which are less affected, healed in two weeks, and the animals who have not lost their vision have recovered in four weeks. While the recovery in some animals lasting 4-6 weeks, chronic keratoconjunctivitis may be developed in others (20,32). The reason for the low rate of precipitant antibodies in animals with clinical signs was suggested that *M. bovis* infection was due to the fact that antibody titers were not yet formed at a detectable level. Because, serum precipitant antibodies in experimentally generated infections were began to be determined on 28-48 days (27,32). Different variants of *M. bovis* vary in pathogenicity and pink eye has multifactorial etiology (6,10).

In this study, the sonicated antigen was used in the ELISA technique, and in 26.3% of the sampled animals, *M. bovis* specific antibodies were detected. 26.1% of the animals with clinical findings and 26.3% of healthy-looking animals were found positive with ELISA. The antibody positivity in animals without corneal signs in three herds previously IBK detected was reported between 33% to 100% (32). It suggested that this result might be due to a non-symptomatic low-pathogenic *M. bovis* infection. In the current study, the presence of *M. bovis* antibodies in single blood serum sampled from each animal was investigated. There was not any data about seroprevalence determined by ELISA in Turkey, so it could not be possible to compare here. The positivity in healthy-looking animals was considered due to a previous infection with *M. bovis*, or due to a low-pathogenic strain, or because of a persistent infection. The absence of detectable anti-*M. bovis* antibodies in the presence of clinical symptoms suggested other agents except for *M. bovis* that could

cause the same symptoms. In addition, it may be possible that the detectable level of IgG response could not be established in these animals due to acute infection.

Although infection is seen in adult and elder cattle, young animals are more sensitive to IBK infection is more severe in young animals and higher infection rates are reported in animals younger than 2 years old (1,3,34). In addition, symptoms can be observed in calves of healthy-looking infected mothers (31). In a previous study described by Pugh et al. (33), all the vaccinated and non-vaccinated calves (1.7 and 4-4.5 months old) has infected after *M. bovis* challenge. However, no significant difference was found between the prevalence of IBK in very young and relatively older calves. Dodt (34), classified animals as cattle, young oxen, and calves in his prevalence study in Australia in northeastern Queensland. In his study, 50.11% of Shorthorn cattle, 18.53% of the young ox, and 30.46% of 6 months old calves were found IBK positive. On the other hand, positivity percentages of Brahman hybrids cattle, young oxen, and calves were 7.47%, 7.07%, and 5.18% respectively. In this study, the ages were grouped as 0-6, 7-11, 12-24 months, and <2 years. The highest percentage of ELISA positivity was 36.5% in 12-24 months of animals. The difference between these age groups was statistically significant. The presence of infection in young animals (12-24 months and 7-11 months, respectively) was more consistent with other studies. However, when the seropositivity rates of cattle older than 2 years of age and calves with 0-6 months of age (22.8% and 18.05%, respectively) were compared, the difference between rates were not found statistically significant but the relative difference between them was similar as described by Dodt (34).

In conclusion, serological data about IBK were obtained by ELISA in Turkey for the first time. Especially animals those who have persistent IBK infection are a reservoir for the young and sensitive herds. Therefore, it is very important to determine the presence of this very contagious disease (IBK) in

the herd. By ELISA, we detect the prevalence of about 26% and by AGID it was about 5.6-5.8%. Serological tests like ELISA can be preferred to determine the presence and situation of IBK in the sensible herds. Also, by this study, the seroprevalence of *M. bovis* was determined by ELISA in Turkey for the first time. Infection is prevalent in cattle with and without clinical signs. According to the same seropositivity rates in these animals, it is concluded that clinical signs do not give knowledge about the exact situation of IBK in the herd. Therefore, besides isolation and identification of the agent, serological monitoring is necessary. As ELISA detects the antibodies against *M. bovis* in higher percentages, it can be preferred for this aim.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

REFERENCES

1. Wilcox GE., 1968. Infectious bovine keratoconjunctivitis: A review. *Vet Bull*, 38, 349-359.
2. Baptista JHP., 1979. Infectious bovine keratoconjunctivitis. A review. *Br Vet J*, 135, 225-242.
3. Punch PI., Slatter DH., 1984. A review of infectious bovine keratoconjunctivitis. *Vet Bull*, 54, 193-207.
4. Singh S., Grice ID., Peak IR., Frost T., Yue G., 2018. The role of lipooligosaccharide in the biological activity of *Moraxella bovis* strains Epp636, Mb25 and L183/2, and isolation of capsular polysaccharide from L183/2. *Carbohydr Res*, 467,1-7.
5. Fonseca JC., Maia JMS., Varago FC., Gern JC., Carvalho WA., Silva SR., Mosqueira VCF., Brandao HM., Gulmarars AS., 2020. Cloxacillin nanostructured formulation for the treatment of bovine keratokonjunctivitis. *Vet Anim Sci*, 9, 100089.
6. Seid A., 2019. Review on Infectious Bovine Keratoconjunctivitis and its Economic Impacts in

- cattle. Dairy and Vet Sci J, 9, 1-8.
7. Gallagher CH., 1954. Investigation of the etiology of infectious ophthalmia of cattle. Aust Vet J, 30, 61-68.
 8. Pugh GW., Hughes DE., 1968. Experimental bovine infectious keratoconjunctivitis caused by sunlamp irradiation and *Moraxella bovis* infection: Correlation of hemolytic ability and pathogenicity. Am J Vet Res, 29, 835-839.
 9. Holt JG., Krieg NR., Sneath PHA., Staley JT., Williams ST., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed., 90, Williams and Wilkins, Baltimore.
 10. Robbins K., Dickey AM., Clawson ML., Loy JD., 2018. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry identification of *Moraxella bovoculi* and *Moraxella bovis* isolates from cattle. J Vet Diagn Invest, 30, 739-742.
 11. Ely VL., Vorgos AC., Costa MM., Oliveira HP., Pötter L., Reghelin MA., Fernandes AW., Pereira DIB., Sangioni LA., Botton SA., 2019. *Moraxella bovis*, *Moraxella ovis* and *Moraxella bovoculi*; biofilm formation and lysozyme activity. J App Microbiol, 126, 369-376.
 12. Dickey AM., Schuller G., Loy JD., Clawson ML., 2018. Whole genome sequencing of *Moraxella bovoculi* reveals high genetic diversity and evidence for interspecies recombination at multiple loci. PLOS One, 17, 12.
 13. Arora AC., Killinger AH., Myers WL., 1976. Detection of *Moraxella bovis* antibodies in infectious bovine keratoconjunctivitis by a passive hemagglutination test. Am J Vet Res, 37, 1489-1492.
 14. Killinger AH., Weisiger RM., Helper LC., Mansfield ME., 1978. Detection of *Moraxella bovis* antibodies in the sIgA, IgG and IgM classes of immunoglobulin in bovine lacrimal secretions by an indirect fluorescent antibody test. Am J Vet Res, 39, 931-934.
 15. Bishop B., Schuring GG., Troutt HF., 1982. Enzyme-linked immunosorbent assay for the measurement of anti *Moraxella bovis* antibodies. Am J Vet Res, 43, 143-144.
 16. Gil Turnes C., Araujo F., 1982. Characterization of strains of *Moraxella bovis* using double immunodiffusion. Can J Comp Med, 46, 165-168.
 17. Maidment DC., Batty DL., 1986. Changes in titres of *Moraxella bovis* specific IgG in growing cattle. Br Vet J, 142, 65-69.
 18. Formston C., 1954. Infectious keratoconjunctivitis of cattle (New Forest Disease). Vet Rec, 66, 522-527.
 19. Slatter DH., Edwards MB., Hawkins CD., Wilcox GE., 1982. A national survey of occurrence of infectious bovine keratoconjunctivitis. Aust Vet J, 59, 65-68.
 20. Slatter DH., Edwards MB., Hawkins CD., Wilcox GE., 1982. A national survey of the clinical features, treatment and importance infectious bovine keratoconjunctivitis. Aust Vet J, 59, 69-72.
 21. Makinde AA., Ezeh AO., Onoviran O., Umo I., 1985. Prevalance of serum antibodies to *Moraxella bovis* in cattle in Nigeria. Br Vet J, 141, 643-646.
 22. Thakur DK., Shaheen JM., Roy BK., 1996. An outbreak of infectious keratoconjunctivitis in caprine and bovine in Ranchi (Bihar). Indian Vet J, 73, 770-771.
 23. Takele G., Zerihun A., 2000. Epidemiology of infectious keratoconjunctivitis in cattle in south-east Ethiopia. J Vet Med A, 47, 169-173.
 24. Erdeğer JE., 1989. Sığırlardan izole edilen *Moraxella bovis* suşlarının çeşitli özelliklerinin araştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
 25. Işık N., 2008. İnfeksiyöz bovine keratokonjunktivitisi sığırlarda *Moraxella bovis*'in izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılığının araştırılması. Dicle Üniv Vet Fak Derg, 1, 17-22.
 26. Parin U., Kirkan Ş., Gumus S., 2017. Isolation of *Moraxella bovis* in cattle and detection of antibiotic susceptibilities. Int J Vet Sci, 6, 228-231.

27. Pugh GW., Hughes DE., Schultz VD., 1976. Experimentally induced infectious bovine keratoconjunctivitis: Resistance of vaccinated cattle to homologous and heterologous strains of *Moraxella bovis*. Am J Vet Res, 37, 58-60.
28. Sümbüllüoğlu K., Sümbüllüoğlu V., 1997. Bioistatistik. 7th ed., 156-159, Hatiboğlu Yayınları, Ankara.
29. Tizard I., 1982. Veterinary Immunology. 2nd ed., Chapter 9, W.B. Saunders, Philadelphia.
30. Pugh GW., Hughes DE., Packer RA., 1970. Bovine infectious keratoconjunctivitis interactions of *Moraxella bovis* and infectious bovine rhinotracheitis virus. Am J Vet Res, 31, 653-662.
31. Pugh GW., Hughes DE., 1975. Carrier state of *Moraxella bovis* and the development of preventive measures against disease. J Am Vet Med Assoc, 167, 310-313.
32. Smith DC., Grene WH., Allen JW., 1989. Antibodies related to resistance in bovine pink eye. Calif Vet, 34, 7-10.
33. Pugh GW., McDonald TJ., Booth GD., 1979. Infectious bovine keratoconjunctivitis. Influence of age on development of disease in vaccinated and non-vaccinated calves after exposure to *Moraxella bovis*. Am J Vet Res, 40, 762-766.
34. Dodt RM., 1977. The prevalence of bovine keratoconjunctivitis in a beef herd in northeastern Queensland. Aust Vet J, 53, 128-131.



Prepubertal ve Postpubertal Sıçanların Genital Sistem Organlarında Ürotensin 2 Reseptörünün Karşılaştırılması*

Duygu KÖSE^{1a}, Zekai HALICI^{2b}, Erdem TOKTAY^{3c}

1. Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
 2. Atatürk Üniversitesi, Klinik Araştırma, Geliştirme ve Tasarım Uygulama ve Araştırma Merkezi, Erzurum, TÜRKİYE
 3. Kafkas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.
- ORCID: 0000-0002-3468-1567^a, 0000-0001-6854-6059^b, 0000-0002-0715-2707^c

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
27.12.2019	15.04.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Köse D, Halıcı Z, Tokay E: Prepubertal ve Postpubertal Sıçanların Genital Sistem Organlarında Ürotensin 2 Reseptörünün Karşılaştırılması. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 113-121, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.666100

Öz: Çalışmada sıçanlarda genital organlarda (over, uterus ve testis) puberte öncesi ve sonrasında Ürotensin 2 Reseptör'ü (ÜTR 2) varlığını ve dağılımını karşılaştırmalı olarak araştırmayı amaçladık. Çalışma toplam 20 adet Wistar Albino cinsi sıçan ile yapıldı. Sıçanlar 2 grup (N:5) erkek (Grup 1: prepubertal erkek, Grup 2: postpubertal erkek) ve 2 grup (N:5) dişi (Grup 3: prepubertal dişi, Grup 4: postpubertal dişi) olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Sıçanlardan uterus, over ve testis örnekleri alındı. Moleküler çalışmada ÜTR 2 mRNA ekspresyon seviyeleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu ile incelendi ve immünohistokimyasal olarak ÜTR 2 boyaması ile sonuçlar karşılaştırıp bu dokularda ÜTR 2 varlığı ve dağılımı araştırıldı. Dişi sıçanlarda prepubertal ve postpubertal over ve uterus dokularında ÜTR 2 mRNA ekspresyon seviyeleri değerlendirildiğinde postpubertede istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olarak bulunurken, erkek sıçanların testis dokularındaki ÜTR 2 mRNA ekspresyon seviyelerinde prepuberte ve postpubertede arasında bir fark görülmedi. Postpubertal over ve uterusunda artan ÜTR 2 seviyelerinin artan östrojen ya da progesteron seviyeleri ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Over ve uterus hastalıklarında ÜTR 2' ünün ayrıntılı olarak araştırılması ve ÜTR 2'ü agonist ve antagonistleri ile ilgili over ve uterus hastalıklarında ileri araştırmalar yapılması gerekliliği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Over, Testis, Uterus, Ürotensin 2.

A Comparison of Urotensin 2 Receptor in Genital System Organs of Prepubertal and Postpubertal Rats

Abstract: In this study, we aimed to investigate the presence and distribution of urotensin 2 receptor (UTR 2) in the genital organs (ovary, uterus and testis) before and after puberty as prepubertal and postpubertal. A total of 20 Wistar Albino rats were used. The rats were divided into two groups (N: 5) male (Group 1: prepubertal male, Group 2: postpubertal male) and 2 groups (N: 5) female (Group 3: prepubertal female, Group 4: postpubertal female). Uterine, ovarian and testicular samples were collected from rats. In the molecular study, UTR 2 mRNA expression levels were examined by real-time polymerase chain reaction (Real Time-Polymerase Chain Reaction) and immunohistochemical results were compared with the results of UTR 2 staining. UTR 2 mRNA expression levels in the prepubertal and postpubertal ovary and uterine tissues of female rats were found to be significantly increased in postpubertal, but no difference was seen in UTR 2 mRNA expression levels in testicular tissues of male rats. It was thought that increased UTR 2 levels in the postpubertal ovary and uterus may be associated with increased estrogen or progesterone levels. It was concluded that UTR 2 should be investigated in detail in ovarian and uterine diseases and further investigations of ovarian and uterine diseases related to UTR 2 agonists and antagonists should be performed.

Keywords: Ovary, Testis, Uterus, Urotensin 2.

✉ Duygu Köse

Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.

e-posta: duygu.kose@atauni.edu.tr

* Bu çalışma Atatürk Üniversitesi tarafından THD-2018-6859 proje kodlu BAP projesi ile desteklenmiştir.

GİRİŞ

Ürotensinerjik sistem memeli organ sisteminde fizyolojik olaylarda çok önemli roller üstlenmiştir (1). Ürotensin 2 (ÜT 2) sağlıklı insanlarda plazmada ölçüldüğünde düşük miktarlarda tespit edilmektedir. Yapılan araştırmalar sonucu; sağlıklı insanlarda ÜT 2'nin belirgin bir görevi olmadığı, hastalık durumlarında ise görevinin belirginleştiği bilinmektedir (2-6). ÜT 2'nin önemi şimdiye kadar tanımlanan tespit edilmiş en güçlü vazokonstriktör olması nedeniyledir (7). ÜT 2 kan akımının rol oynadığı hemodinamik ve osmoregulator olaylarda ön plana çıkmaktadır (8). Kan akımının yoğun olduğu kalpteki pozitif inotrop ve kronotrop yanıtlarda (9) oldukça önemli roller üstlenmiştir. Bu rollere ilave olarak kardiyak ve vasküler hipertrofi (10), kollajen ve fibronektin birikimini indüklemeye (11) ve inflamatuvar cevap modülasyonunda (12) da rol oynamaktadır. Bu etkilerinin yanı sıra ÜT 2 güçlü anjiyojenik etkilidir (13) ve bunlara ek olarak ÜT 2 insülin salınımını da inhibe etmektedir (13). Bu nedenlerle ÜT 2 kalp yetersizliği, yüksek tansiyon ve preeklampsi gibi kardiyovasküler sistem hastalıklarıyla, diyabetes mellitus gibi endokrin sistem hastalıklarıyla, çeşitli böbrek ve karaciğer hastalıklarıyla ve noröpsikiyatrik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (14-16). Yapılan çeşitli çalışmalarda vücuttaki ÜT 2 konsantrasyonlarının kalp, karaciğer ve renal hastalıklarda, ateroskleroz ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklarda ve diyabetes mellitusta yükseldiği gösterilmiştir (6, 17-22). ÜTR 2'ü, G proteinine bağlı olup 'GPR14' olarak adlandırılmıştır. ÜT 2 ve reseptörünün santral sinir sistemi başta olmak üzere, kanlanması fazla olan periferik vasküler dokularda, kan akımının yoğun olduğu kalp ve böbrekte, bu organlara ek olarak mesane ve prostat gibi üriner sistem organlarında, pankreas, böbrek üstü bezi ve hipofiz gibi endokrin sistem organlarında varlığının gösterilmesine ve ayrıntılı olarak birçok araştırılma yapılmasına rağmen (23,24); over, testis ve uterus dokularında ise varlığı gösterilmiş ancak henüz ayrıntılı araştırmalar yapılmamıştır (25,26).

Ürogenital sistemde puberte öncesi ve sonrası çeşitli farklılıklar görülmektedir. Puberte cinsel olgunluk olarak tanımlanmaktadır ve puberte ile

birlikte genital sistem organlarında önemli fizyolojik değişiklikler görülmektedir. Puberte başlangıcı ırklara göre farklılıklar göstermektedir. Sıçanlarda puberteye ulaşma süresi ortalama 8-10 haftadır. Olgun ve ağırlıklarının yarısına ulaşmış sıçanların puberteye ulaştığı bilinmektedir; fakat yaştan ve ağırlıktan daha güvenilir bir göstere vücut uzunluğunun 148-150 cm' ye ulaşmasıdır (27). Prepubertal ve postpubertal dönemlerde farklı fizyolojik mekanizmalar rol oynamaktadır. Erkek sıçanlarda spermatogenesis, dişi sıçanlarda vaginal açıklıkla birlikte proöstrus, pubertede oluşan temel fizyolojik olaydır. Vazokonstriktör mekanizmaların önemli rol oynadığı pubertal dönemde ve sonrasında en güçlü vazokonstriktör olan ÜTR 2'nin aktif rol oynama olasılığı fazladır. ÜTR 2 tüm vasküler sistemde aynı etkiyi göstermemekle birlikte vasküler sistemde güçlü ve değişken konstriktör etkiler oluşturur. Vasküler yapının önemli olduğu, konstriktör mekanizmaların önemli rol oynadığı sıçan genital sisteminde de ÜTR 2 varlığı ayrıntılı olarak araştırılması gereken literatürde eksik kalmış ve araştırılmaya değer bir konudur.

MATERYAL ve METOT

Hayvanlar

Çalışmada, Atatürk Üniversitesi Tıbbi ve Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi Deneysel Hayvanları Laboratuvarı'ndan alınan toplamda 20 adet *Wistar albino* cinsi sıçan (250-300 gr) kullanıldı. Çalışma öncesinde sıçanlar uygun ışık koşullarında (14: 10 saat, ışık: karanlık döngüsü), 22 ° C' de iyi havalandırılan bir odada tipik plastik kafeslerde talaş zemin üzerinde tutuldu. Standart sıçan yemi ve musluk suyu ad libitum olarak verildi. Çalışma, Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından onaylandı (Etik kurul onay no: 2018/5/110).

Deneysel Prosedürü

Çalışmada toplam 20 adet *Wistar Albino* cinsi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 2 grup erkek, 2 grup dişi

olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Sıçanlarda puberteye ulaşma süresinin ortalama 8-10 hafta olduğu bilindiği için çalışmaya alınan sıçanların prepubertal grup olanları puberteye girmemiş olanlardan (en fazla 4 haftalık), postpubertal olanları ise puberteye girdiği kesin olanlardan (en az 14 haftalık) temin edildi.

Deney Grupları: 20 adet sıçan 5'erli gruplara ayrıldı.

Grup 1: erkek sıçan grubu (prepubertal) (5 sıçan)

Grup 2: erkek sıçan grubu (postpubertal) (5 sıçan)

Grup 3: dişi sıçan grubu (prepubertal) (5 sıçan)

Grup 4: dişi sıçan grubu (postpubertal) (5 sıçan)

Deneysel prosedürün sonlandırılması için yüksek doz anestezi madde ile (thiopental 50 mg/kg) sakrifikasyon işlemleri gerçekleştirilerek sıçanlardan uterus, over ve testis örnekleri alındı. Dişi sıçanlarda median hatta insizyon yapıldıktan sonra uterus ve overe ulaşıp çıkarıldı. Erkek sıçanlarda testisi çıkarmak için skrotal kesi yapılarak testis çıkarıldı. Dokular çevrelerindeki bağ ve yağ dokularından temizlendikten hemen sonra, erkek sıçan grubundan alınan testis örnekleri ve dişi sıçan grubundan alınan over ve uterus örneklerinin yarısı immünohistokimyasal analiz için hemen formaldehite, diğer yarısı moleküler analizler için, -80 °C ultra derin dondurucuya konuldu.

Histopatolojik Analizler

Rutin İmmünohistokimyasal Prosedür

Pozitif şarjlı lamlara alınan kesitler; Leica Bond-Max otomatik immünohistokimya cihazına yerleştirilerek, ÜTR 2 varlığı ve dağılımı incelenmek üzere Leica Bond Polymer Refine Detection Kit® ile boyandı. Leica bond-MAX otomatik immünohistokimya boyama cihazında: 30 dk, 60 derecede parafininin erimesi sağlandı. 15 dakika dewax (veya ksilol) solüsyonunda tutularak deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. 15 dk %99' luk alkolde tutularak rehidratasyon gerçekleştirildi. Wash Buffer [veya PBS (fosfat buffer solüsyonu)] solüsyonunda 3 dk yıkandı. Epitop 2 (veya Antijen

Retrieval Solüsyon Ph=9) solüsyonunda antijen retrieval işlemi gerçekleştirildi. Wash Buffer (PBS) solüsyonunda 3 dk yıkandı. %3'lük hidrojen peroksidase (veya peroksidase blocking) da 10 dk bekletildi. Wash Buffer (PBS) solüsyonunda 3 dk yıkandı. Antikor damlatılıp 60 dk beklendi. Wash Buffer (BPS) solüsyonunda 3 dk yıkandı. Post Primer solüsyon [(veya sekonder antibody (link)) damlatılarak 15 dk bekletildi. Wash Buffer (PBS) solüsyonunda 3 dk yıkandı. Polimer solüsyon [veya Streptavidin peroksidaz solüsyon (label)] damlatılarak 15 dk bekletildi. Wash Buffer (PBS) solüsyonunda 3 dakika yıkandı. Saf suda 3 dakika yıkandı.

Diaminobenzidine +Kromojen damlatılıp 5 dk bekletildi. Saf suda 3 dakika yıkandı. Hematoksilende 5 dakika boyandı. Distile su 3 ile yıkandı. Alkolde 2 dakika bekletildi. Ksilolde 2 dakika bekletildi. Entellan ile kapatıldı.

İmmünohistokimyasal olarak,

Over, uterus ve testiste ÜTR 2 immün boyamalarına bakıldı ve immüno pozitiflikler stereolojik yöntemlerle sayılarak sayısal yoğunluk hesaplamaları yapıldı. Sayısal veriler parametrik testlerle istatistiksel olarak değerlendirildi.

Moleküler Çalışmalar

Çalışmamız in vivo olarak gerçekleştirilip, moleküler anlamda gen düzeyinde incelemeler yapıldı. ÜTR 2 mRNA ekspresyon düzeylerini değerlendirmek için gerçek zamanlı-polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time-PCR) yapıldı. Bunun için sırasıyla; homojenizasyon, RNA izolasyonu, cDNA sentezi ve mRNA ekspresyonlarının kantitatif olarak belirlenmesi işlemleri uygulandı.

Real Time-PCR

Sıçan Over, Testis ve Uterus Dokusundan Ribonükleik Asit (RNA) Ekstraksiyonu

Dokuların Tissue Lyser II (Qiagen) ile azot muamelesiyle birlikte homojenizasyonu sağlanıp QIAcube de RNA ekstraksiyonu yapıldı ve total RNA

izolasyonu aşamaları sürdürüldü. Total mRNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take 3 Plate, Biotek) ile 260 nm'de ölçülerek değerlendirildi. Elde edilen RNA gerekli koşullarda -80 °C'de saklandı.

Revers Transkriptaz Reaksiyonu ve Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

RNA'dan cDNA oluşumu High Capacity cDNA Reverse Transcription kiti ile sağlandı. cDNA sentezi için her bir reaksiyonda 10µl RNA kullanılarak sıcaklık değerlerine göre Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystem) ile sağlandı. cDNA miktarı nano drop spektrofotometri (EPOCH Take3 Plate, Biotek) ile belirlenerek, elde edilen cDNA -20°C'de saklandı.

cDNA sentez reaksiyonu için 10 µl total RNA, 2 µl 10 X RT Buffer, 0.8 µl 25 X dNTPs mix, 2 µl 10 X RT Random Primers, 1 µl MultiScribe Reverse Transcriptase ve 4.2 µl DEPC-H₂O kullanıldı.

Real Time PCR ile ÜTR 2 mRNA Ekspresyonlarının Kantitatif Olarak Belirlenmesi

ÜTR 2 mRNA ekspresyonu Taq Man Gene Expression Master Mix kullanılarak sağlandı (Tablo 1). Referans gen olarak β-actin (Rn00667869_m1) kullanıldı. StepOne Plus Real Time PCR System (Applied Biosystems) cihazı kullanılarak amplifikasyon ve kantifikasyon gerçekleştirildi. 200 ng cDNA için aşağıda verilen TaqMan® gen ekspresyon primerleri aşağıda belirtildiği gibi pipetleme yapılarak 40 siklus boyunca reaksiyon devam ettirildi. CT (cycle threshold), gerçek zamanlı PCR deneylerinde floresan sinyal miktarının, gözlemlenebilmesi için gereken minimum değeri (eşik değerini) geçtiği döngü sayısına (eşik döngüsü) verilen addır. CT değerleri cihazda otomatik olarak delta delta CT' ye çevrildi ve sonuçlar istatistiksel olarak SPSS 25.00 programında değerlendirilmeye alındı.

Tablo 1. ÜTR 2 gen sens ve antisens primerleri (ÜTR 2: Ürotensin 2 reseptörü).

Table 1. Sens and antisense primers for UTR 2 gene (UTR 2: Urotensin 2 receptor).

UTS2R	F: CCC AAC GCA ACC CTC AAC	Primer
	R: GCC ACC AGG TCC TCC AG	Design

Pipetleme için X µl cDNA (200ng), 10 µl TaqMan Master Mix, 1 µl Assay kullanıldı ve RNase free H₂O ile 20 µl'e tamamlandı.

İstatistiksel Analiz

Gerekli çalışmalar yapıldıktan sonra verilerin tümü SPSS 25 programında değerlendirildi. Veri sonuçları ortalama değerleri ve standart deviasyonları (sd) ile belirtildi. Her gruptaki hayvan sayısı 5 olduğu için normalite testi olarak Shapiro Wilk uygulandı. Karşılaştırılan grup sayıları prepubertal ve postpubertal olmak üzere 2 olduğu ve gruplar normal dağıldığı için gruplar arasındaki farkın anlamlılığı student T testi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık değeri (P) 0.05 olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Histopatolojik Bulgular

İmmünohistokimyasal Sonuçlar

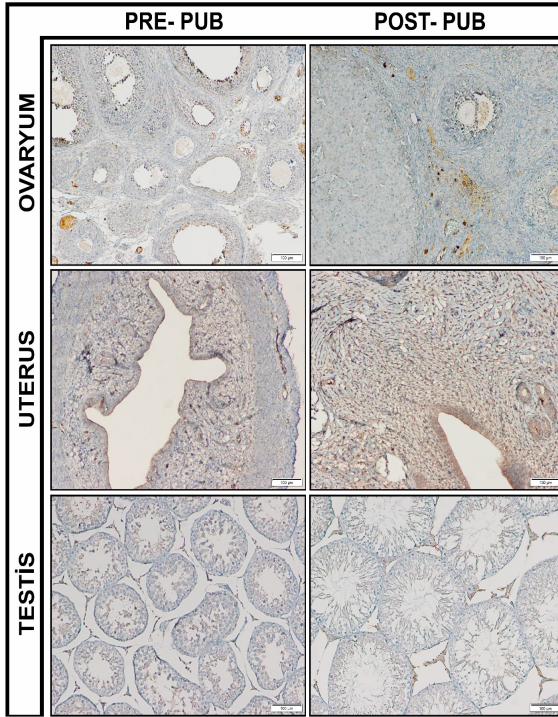
Çalışma analizlerinin daha iyi anlaşılması amacıyla immünohistokimyasal (İHK) bulgular immün pozitiflik derecesine göre skorlandı. Buna göre immün; negatif (-), hafif pozitif (+), orta pozitif (++), şiddetli pozitif (+++) olacak şekilde Tablo 2'de boyama türlerine göre gösterilmiştir.

Tablo 2. ÜTR 2 skorum sonuçları (ÜTR 2: Ürotensin 2 reseptörü).

Table 2. UTR 2 scoring results (UTR 2: Urotensin 2 receptor).

Organ	Prepuberte	Postpuberte
Over	+	++
Uterus	++	+++
Testis	+	+

Bu sonuçlara göre; ÜTR-2 antikoru ile yapılan İHK boyamada, over ve testis dokusunun pre puberte grubunda hafif derecede immün pozitiflik görülürken, uterus dokusunda orta derecede immün pozitiflik görülmüştür. Post puberte grubunda testis dokusunda hafif pozitiflik görülürken, over dokusunda orta derecede pozitiflik, uterus dokusunda ise şiddetli pozitiflik görülmüştür (Tablo 2). Bu immün pozitiflik over dokusunda özellikle medullada kan damarlarında izlenirken, uterus dokusunda ise bağ dokuda ve kan damarlarında immün pozitiflik izlenmiştir. Testis dokusunda ise bağ dokuda pozitiflik izlendi (Şekil 1).



Şekil 1. Testis, over ve uterus dokularında ÜTR 2 immünohistokimya boyama sonuçları (PRE-PUB: prepubertal, POST-PUB: postpubertal) (ÜTR 2: Ürotensin reseptörü 2).

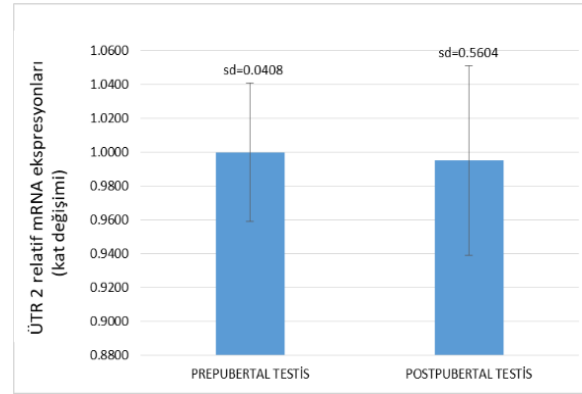
Figure 1. Results of UTR 2 immunohistochemistry staining in testicular, ovarian, and uterine tissues (PRE-PUB: prepubertal, POST-PUB: postpubertal) (UTR 2: Urotensin receptor 2).

Moleküler Bulgular

ÜTR 2 mRNA Ekspresyonları

Real Time PCR ile prepubertal ve postpubertal sıçanlardan alınan testis dokularında ölçülen mRNA

ekspresyonlarının sonuçları (Şekil 2) SPSS 25 programında değerlendirildi. Gruplardaki sıçan sayısı 5 olduğu için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. Prepubertal testis ($P=0.115$) ve postpub testis ($P=0.168$) gruplarının normal dağıldığı görüldü ($P>0.05$). Gruplar normal dağıldığı ve karşılaştırılan grup sayısı 2 olduğu için Student T test uygulandı. Student T testinde gruplar arasındaki fark anlamsız olarak bulundu ($P=0.891$) ($P>0.05$). Testis dokusunda ÜTR 2 mRNA ekspresyonlarında pre ve post puberte arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

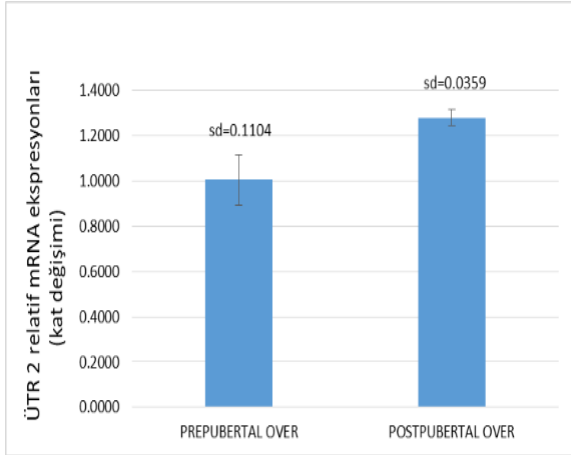


Şekil 2. Testis dokusunda Real-Time PCR ile ölçülen ÜTR 2 mRNA ekspresyonlarının student T-testi ile değerlendirme sonuçları $P=0.891$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, ÜTR 2: ürotensin 2 reseptörü, mRNA: haberci RNA, sd: standart deviasyon).

Figure 2. Results of the evaluation of UTR 2 mRNA expression in testicular tissue by Real-Time PCR with student T-test $P=0.891$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, UTR 2: urotensin 2 receptor, mRNA: messenger RNA, sd: standard deviation).

Real Time PCR ile prepubertal ve postpubertal sıçanlardan alınan over dokularında ölçülen mRNA ekspresyonlarının sonuçları (Şekil 3) SPSS 25 programında değerlendirildi. Gruplardaki sıçan sayısı 5 olduğu için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. Prepubertal over ($P=0.357$) ve postpub over ($P=0.550$) gruplarının normal dağıldığı görüldü ($P>0.05$). Gruplar normal dağıldığı ve karşılaştırılan grup sayısı 2 olduğu için Student T test uygulandı. Student T testinde gruplar arasındaki fark anlamlı

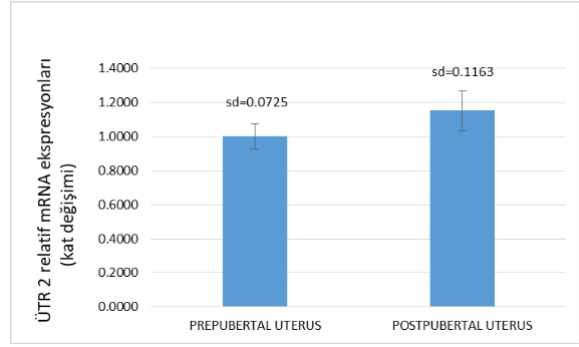
olarak bulundu ($P=0.01$) ($P<0.05$). Over dokusunda postpubertede mRNA ekspresyonları prepuberteye göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olarak saptandı.



Şekil 3. Over dokusunda Real-Time PCR ile ölçülen ÜTR 2 mRNA ekspresyonları student T-testi ile değerlendirme sonuçları $P=0.01$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, ÜTR 2: ürotensin 2 reseptörü, mRNA: haberci RNA sd: standart deviasyon).

Figure 3. UTR 2 mRNA expression in ovarian tissue measured by Real-Time PCR and student T-test evaluation results $P=0.01$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, UTR 2: urotensin 2 receptor, mRNA: messenger RNA, sd: standard deviation).

Real Time PCR ile prepubertal ve postpubertal sıçanlardan alınan uterus dokularında ölçülen mRNA ekspresyonlarının sonuçları (Şekil 4) SPSS 25 programında değerlendirildi. Gruplardaki sıçan sayısı 5 olduğu için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. Prepubertal uterus ($P=0.668$) ve postpubertal uterus ($P=0.384$) gruplarının normal dağıldığı görüldü ($P>0.05$). Gruplar normal dağıldığı ve karşılaştırılan grup sayısı 2 olduğu için Student T test uygulandı. Student T testinde gruplar arasındaki fark anlamlı olarak bulundu ($P=0.041$) ($P<0.05$). Uterus dokusunda postpubertede mRNA ekspresyonları prepuberteye göre istatistiksel olarak anlamlı oranda artmış olarak saptandı.



Şekil 4. Uterus dokusunda Real-Time PCR ile ölçülen ÜTR 2 mRNA ekspresyonları student T-testi ile değerlendirme sonuçları $P=0.41$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, ÜTR 2: ürotensin 2 reseptörü, mRNA: haberci RNA sd: standart deviasyon).

Figure 4. UTR 2 mRNA expression measured by Real-Time PCR in uterine tissue by student T-test evaluation results $P=0.41$ ($P>0.05$) (PCR: polymerase chain reaction, UTR 2: urotensin 2 receptor, mRNA: messenger RNA, sd: standard deviation).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Pubertede temel genitöüriner sistem organları olan dişi sıçanların over ve uteruslarında, erkek sıçanların ise testislerinde önemli değişiklikler görülmektedir (17).

Yapılan bir çalışmada (28), gonadotropin seviyeleri ve morfolojik özelliklere göre prepubertal ovaryum gelişimi 4 döneme ayrılmıştır: Neonatal dönem (doğum-1. hafta), infantil dönem (1-3. haftalar), jüvenil dönem (3-5. haftalar) ve peripubertal dönem (jüvenil dönem sonrası 3 gün).

Neonatal dönemde ovaryumlar Folikül Stimülan Hormon (FSH) etkisi ile testosteronu östradiol-17β'ya metabolize ederler. Infantil dönemde, FSH ve Luteinizan Hormon (LH) etkinliği ile folliküler gelişim görülür. Jüvenil dönemde folliküller östrojen sekresyonuna başlarlar. Peripubertal dönem boyunca uterus sıvı ile doludur, folliküller büyük miktarlarda östrojen salgırlar ve gonadotropinlerdeki artış ilk ovulasyonlara neden olur. Ovaryum gelişimi gonadotropinlere, FSH, LH, Gonadotropin Salıcı Hormon (GSH), prolaktin ve büyüme hormonuna bağlıdır. FSH seviyeleri

doğumdan 12. güne kadar artar ve kademeli olarak düşer. GSH salınımları esnasında LH konsantrasyonu yavaşça artarak yüksek seviyelere ulaşır. Hipotalamustaki GSH doğumdan pubertasa kadar artar. Juvenil dönemde her 3 saatte bir prolaktin salınımı meydana gelir ve bu salınım ovaryumdan östradiol ve progesteron salınımını indükler (29).

Özellikle genital sistemde bulunan organlar gerek cinsel olgunluk süresince gerekse hamilelik gibi durumlarda farklı fizyolojik özellikler sağlamaktadır. Bu özellikleri ile cinsel organlar diğer organlara göre çok daha farklı fizyolojik özellikler taşımaktadır. Yaşa ve fizyolojik duruma bağlı olarak cinsel organların hormon veya diğer endojen peptidlere olan cevabı değişmektedir. Özellikle hamileliğin son döneminde uterusun oksitosine duyarlılığının artması, cinsel gelişim evrelerinde uterus dokusunun FSH, prostaglandin gibi endojen maddelere karşı duyarlılığının artması bu organların fizyopatolojik durumlarda çok daha farklı reseptörlerin etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda dişi sıçanlarda prepubertal (<4 hafta) ve postpubertal (>14 hafta) olarak değerlendirilen over ve uterus dokularında, prepubertal olarak pozifliği gösterilen ÜTR 2' lerinde postpubertede artış görülmüştür. Artan mRNA ekspresyonları ile birlikte immünohistokimyasal olarak artan pozitiflik gözlenmesi postpubertede ÜTR 2' de anlamlı oranda artış olduğunu göstermektedir. Artan ÜTR 2' lerinin pubertede artan östrojen ya da progesteron ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Sıçanlarda, prepuberteden puberteye geçişle birlikte testis yapısında önemli değişikliklerin görüldüğü bildirilmiş ve sıçanlarda testis gelişiminde üç ayrı evre incelenmiştir (30): 1. 0-37 günlük dönem; prepubertal dönem, 2. 42-75 günlük dönem; pubertal dönem, 3. 90-365 günlük dönem; erişkin dönem

Çalışmamızda erkek sıçanlarda prepubertal (<4 hafta) ve postpubertal (>14 hafta) olarak değerlendirilen testis dokularında, prepubertal

olarak pozifliği gösterilen ÜTR 2' lerinde postpubertede değişiklik görülmemiştir. İnsanlarda yapılan bir araştırmada da polikistik over sendromunda serum ÜT 2 ve serbest testesteron düzeyleri ve folikül sayıları arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (31). Bu konuyla ilgili ayrıntılı araştırmalar mevcut literatürde mevcut olmasa da bu bulgular çalışmamızı destekler niteliktedir.

Sonuç olarak; çalışmamızda over, uterus ve testiste ÜTR 2 varlığı ve dağılımı prepuberte ve postpubertede Real Time PCR ve immünohistokimyasal boyama ile karşılaştırılmalı olarak gösterilmiştir. Dişi sıçanlarda over ve uterus dokularında, prepubertal olarak pozifliği gösterilen ÜTR 2' lerinde postpubertede artış görülmüştür. Erkek sıçanlarda testis dokularında, prepubertal olarak pozifliği gösterilen ÜTR 2' lerinde postpubertede değişiklik görülmemiştir. Over ve uterusun fizyolojik ve endokrin dönemlerindeki değişikliklerde ve bu organların hastalıklarında ÜTR 2' ünün ayrıntılı olarak araştırılması ve puberte sonrası artışının mekanizmasının ve nedeninin daha geniş bir çalışmayla gösterilmesi gerekliliği sonucuna varılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Vaudry H., Do Rego JC., Le Mevel JC., Chatenet D., Tostivint H., Fournier A., Tonon MC., Pelletier G., Conlon JM., Leprince J., 2010. Urotensin II, from fish to human. *Ann N Y Acad Sci*, 1200, 53-66.
2. Huang CY., Burns JC., Shimizu C., 2017. Urotensin 2 in Kawasaki disease pathogenesis. *Pediatr Res*, 82, 1048-1055.
3. Jumaah S., Celekli A., Sucu M., 2018. The role of human urotensin-II in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Immunoassay Immunochem*, 39, 150-162.
4. McDonald J., Batuwangala M., Lambert DG.,

2007. Role of urotensin II and its receptor in health and disease. *J Anesth*, 21, 378-389.
5. Zhang X., Ye Y., Yang C., Gong H., Li Y., Zhang G., Yuan J., Zou Y., 2018. Clinical significance of increased urotensin II levels in acute myocardial infarction. *Discov Med*, 26, 7-20.
 6. Ong KL., Lam KS., Cheung BM., 2005. Urotensin II: its function in health and its role in disease. *Cardiovasc Drugs Ther*, 19, 65-75.
 7. Ames RS., Sarau HM., Chambers JK., Willette RN., Aiyar NV., Romanic AM., Loudon CS., Foley JJ., Sauermelch CF., Coatney RW., Ao Z., Disa J., Holmes SD., Stadel JM., Martin JD., Liu WS., Glover GI., Wilson S., McNulty DE., Ellis CE., Elshourbagy NA., Shabon U., Trill JJ., Hay DW., Ohlstein EH., Bergsma DJ., Douglas SA., 1999. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature*, 401, 282-286.
 8. Song W., Abdel-Razik AE., Lu W., Ao Z., Johns DG., Douglas SA., Balment RJ., Ashton N., 2006. Urotensin II and renal function in the rat. *Kidney Int*, 69, 1360-1368.
 9. Watson AM., Lambert GW., Smith KJ., May CN., 2003. Urotensin II acts centrally to increase epinephrine and ACTH release and cause potent inotropic and chronotropic actions. *Hypertension*, 42, 373-379.
 10. Papadopoulos P., Bousette N., Giaid A., 2008. Urotensin-II and cardiovascular remodeling. *Peptides*, 29, 764-769.
 11. Dai HY., Kang WQ., Wang X., Yu XJ., Li ZH., Tang MX., Xu DL., Li CW., Zhang Y., Ge ZM., 2007. The involvement of transforming growth factor-beta1 secretion in urotensin II-induced collagen synthesis in neonatal cardiac fibroblasts. *Regul Pept*, 140, 88-93.
 12. Shiraiishi Y., Watanabe T., Suguro T., Nagashima M., Kato R., Hongo S., Itabe H., Miyazaki A., Hirano T., Adachi M., 2008. Chronic urotensin II infusion enhances macrophage foam cell formation and atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *J Hypertens*, 26, 1955-1965.
 13. Guidolin D., Albertin G., Ribatti D., 2010. Urotensin-II as an angiogenic factor. *Peptides*, 31, 1219-1224.
 14. Ross B., McKendry K., Giaid A., 2010. Role of urotensin II in health and disease. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 298, 1156-1172.
 15. Olukman M., Can C., Coskunsever D., Uyanikgil Y., Cavusoglu T., Sozmen E., Duman S., Celenk FG., Ulker S., 2019. Urotensin receptor antagonist palosuran attenuates cyclosporine-a-induced nephrotoxicity in rats. *Adv Clin Exp Med*, 28, 1393-1401.
 16. Oral E., Halici Z., Cinar I., Ozcan E., Kutlu Z., 2019. Evaluation of endothelial dysfunction in bipolar affective disorders: Serum endocan and Urotensin-II Levels. *Clin Psychopharmacol Neurosci*, 17, 211-221.
 17. Farzianpour F., Rahimi FA., Shahidi SN., Ansari NS., 2016. Relationship between 'patient's rights charter' and patients' satisfaction in gynecological hospitals. *BMC Health Serv Res*, 16, 476.
 18. Hao WR., Sung LC., Chen CC., Hong HJ., Liu JC., Chen JJ., 2019. Cafestol activates nuclear factor erythroid-2 related factor 2 and inhibits Urotensin II-Induced cardiomyocyte hypertrophy. *Am J Chin Med*, 47, 337-350.
 19. Duan JS., Chen S., Sun XQ., Du J., Chen ZW., 2019. Urotensin-receptor antagonist SB-706375 protected isolated rat heart from ischaemia-reperfusion injury by attenuating myocardial necrosis via RhoA/ROCK/RIP3 signalling pathway. *Inflammopharmacology*, 27, 1309-1318.
 20. Zhang R., Chen J., Liu D., Wang Y., 2019. Urotensin II receptor antagonist reduces hepatic resistance and portal pressure through enhanced eNOS-dependent HSC vasodilatation in CCl4-induced cirrhotic rats. *Front Med*, 13, 398-408.
 21. Eyre HJ., Speight T., Glazier JD., Smith DM., Ashton N., 2019. Urotensin II in the development and progression of chronic kidney disease

- following (5/6) nephrectomy in the rat. *Exp Physiol*, 104, 421-433.
22. Matsumoto T., Watanabe S., Kobayashi S., Ando M., Taguchi K., Kobayashi T., 2017. Age-related reduction of contractile responses to Urotensin II is Seen in aortas from Wistar rats but not from type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Rejuvenation Res*, 20, 134-145.
 23. Jegou S., Cartier D., Dubessy C., Gonzalez BJ., Chatenet D., Tostivint H., Scalbert E., LePrince J., Vaudry H., Lihrmann I., 2006. Localization of the urotensin II receptor in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 495, 21-36.
 24. Cadirci E., Ugan RA., Dincer B., Gundogdu B., Cinar I., Akpınar E., Halici Z., 2019. Urotensin receptors as a new target for CLP induced septic lung injury in mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 392, 135-145.
 25. Sugo T., Murakami Y., Shimomura Y., Harada M., Abe M., Ishibashi Y., Kitada C., Miyajima N., Suzuki N., Mori M., Fujino M., 2003. Identification of urotensin II-related peptide as the urotensin II-immunoreactive molecule in the rat brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 310, 860-868.
 26. Dubessy C., Cartier D., Lectez B., Bucharles C., Chartrel N., Montero-Hadjadje M., Bizet P., Chatenet D., Tostivint H., Scalbert E., LePrince J., Vaudry H., Jegou S., Lihrmann I., 2008. Characterization of urotensin II, distribution of urotensin II, urotensin II-related peptide and UT receptor mRNAs in mouse: evidence of urotensin II at the neuromuscular junction. *J Neurochem*, 107, 361-374.
 27. Mülazımoğlu SB., İde T., Aslan S., 2012. Ratlarda Üreme. *J Clin Analytical Med*, 39-44.
 28. Ojeda SR., Urbanski HF., Ahmed CE., 1986. The onset of female puberty: studies in the rat. *Recent Prog Horm Res*, 42, 385-442.
 29. Advis JP., Ojeda SR., 1979. Acute and delayed effects of anterior pituitary transplants in inducing precocious puberty in the female rat. *Biol Reprod*, 20, 879-887.
 30. Yaman Ö., 2015. Prepubertal sıçan testislerinde cisplatin maruziyetinin neden olduğu seminifer tübül hasarı ve erişkin sperm parametreleri üzerine l-karnitinin koruyucu etkisi Trakya Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne.
 31. Yılmaz O., Calan O., Kume T., Calan M., 2013. The relationship of urotensin II with insulin resistance and hs-CRP in patients having PCOS. *Gynecol Endocrinol*, 29, 970-973.



Koyun Pnömonilerinde *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* İzolasyonu ve Patolojik İncelemeler

Gizem ESER^{1a✉}, Serkan YILDIRIM^{2b}, Yavuz Selim SAĞLAM^{2c}, Demet ÇELEBİ^{3d},
Ahmet YILMAZ^{4e}

1. Iğdır Üniversitesi, Tuzluca Meslek Yüksekokulu, Laborant Veteriner Sağlık Bölümü, Iğdır, TÜRKİYE.
 2. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
 3. Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
 4. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Meslek Yüksekokulu, Tıbbi laboratuvar Teknikleri Bölümü, Erzurum, TÜRKİYE.
- ORCID: 0000-0002-8330-3095^a, 0000-0003-2457-3367^b, 0000-0002-7861-9642^c, 0000-0002-2355-0561^d, 0000-0002-2350-1516^e

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
01.03.2020	24.04.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Eser G, Yıldırım S, Sağlam YS, Çelebi D, Yılmaz A: Koyun Pnömonilerinde *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* izolasyonu ve Patolojik İncelemeler. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 122-129, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.696657

Öz: Bu çalışmada, Erzurum ilinde koyun pnömonilerinde saptanan pastörellozis hastalığının insidansı ve gözlenen patolojik bulguların araştırılması amaçlanmıştır. Akciğerlerin yangısı olan pnömoniler; bakteriler, mantarlar, mikoplazmalar, virüsler ve parazitler gibi enfeksiyöz veya fiziksel ve kimyasal özellikteki non-enfeksiyöz maddeler tarafından oluşturulur. *Pasteurella*, *Haemophilus* ve mikoplazma etkenleri koyunlarda fibrinli bronkopnömoni ile karakterize bir hastalık oluştururlar. Pastörellozis dünyada olduğu gibi ülkemizde de çok sık görülmektedir. Erzurum ilindeki bir mezbahada kesilen 1586 koyuna ait akciğerlerin makroskopik muayenesinde 100' ünde (%6.3) pnömoni lezyonları saptandı. Bu pnömonili akciğerlerden alınan örnekleri üzerinde bakteriyolojik ve patolojik incelemeler yapıldı. Bakteriyolojik incelemeler sonucunda örneklerin 17 tanesinde (%17), *Pasteurella* spp. etkenleri saptandı. Histopatolojik muayeneler için akciğer örneklerinden hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ile boyanıp ışık mikroskopunda incelendi ve bu inceleme sonucunda akciğerlerin %26'sında fibrinli bronkopnömoni gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Fibrinli pnömoni, Koyun, *Pasteurella* spp.

Isolation and Pathological Examinations of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* in Sheep Pneumonia

Abstract: In this study, it was aimed to investigate the observed pathological findings and the incidence of pasteurellosis disease detected in sheep pneumonia in Erzurum province. Pneumonias, which is the inflammation of the lungs, is created by bacteria, fungi, mycoplasmas, viruses and parasites (infectious), or substances of physical and chemical properties (non-infectious). *Pasteurella*, *Haemophilus* and *Mycoplasma* agents cause a disease characterized by fibrinous bronchopneumonia in sheep. Pasteurellosis is very common in our country as in the world. In the macroscopic examination of the lung of 1586 sheep slaughtered in a slaughterhouse in Erzurum province, pneumonia lesions in 100 sheep (6.3%) were detected. Bacteriological and pathological examinations were performed on samples taken from the lungs with this pneumonia. As a result of bacteriological examinations, *Pasteurella* spp. agents were detected in 17 (17%) of the samples. Preparations prepared from lung samples for histopathological examinations were stained with hematoxylin-eosin (HE) and examined under a light microscope. As a result of this examination, 26% of the lungs had fibrinous bronchopneumonia.

Keywords: Fibrinous pneumonia, Sheep, *Pasteurella* spp.

✉ Gizem Eser

Iğdır Üniversitesi, Tuzluca Meslek Yüksekokulu, Laborant Veteriner Sağlık Bölümü, Iğdır, TÜRKİYE.
e-posta: gizem.eser@igdir.edu.tr

GİRİŞ

Pnömoni, genel olarak akciğer yangılarına verilen isimdir (1,4). Pnömonilere bakteriler, mantarlar, mikoplazmalar, virüsler ve parazitler gibi enfeksiyöz etkenler veya ahır gazları ve irkiltici gazlar gibi non-enfeksiyöz maddeler sebep olmaktadır (2-4). Koyunlarda solunum sistemi hastalıkları dünyada ve ülkemizde yaygın olarak gözlenmekte olup, etkilenen hayvanlar içerisinde ağırlıklı olarak kuzularda ölümlere yol açarak, önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (2,4-7). Etiyolojisine bakılmaksızın koyunlarda solunum sistemi enfeksiyonları görülen tüm hastalıkların %5.6'sını oluşturmaktadır (5).

Pnömonilerin akciğerlerdeki yayılışı, patogenezi ve morfolojisi göz önüne alınarak yapılan yaygın sınıflandırılmalar; bronkopnömoni (fibrinli bronkopnömoni, kataral irinli bronkopnömoni, aspirasyon pnömonisi) interstisyel pnömoni, embolik pnömoni ve granülomatöz pnömoni şeklinde yapılmaktadır (1-4,7-9). Bronkopnömoniler eksudatın karakterine göre fibrinli ya da kataral-irinli pnömoniler olarak gözlenmektedir. Koyunlarda pastörellozis, *Haemophilus somnus* enfeksiyonları ve mikoplazmozis fibrinli bronkopnömoni ile seyreden hastalıklardır (1,4,7).

Koyunlarda septisemik pastörellozis Gram negatif patojen bir bakteri olan *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica (M. haemolytica)* biyotip T tarafından, pnömonik pastörellozis ise *M. haemolytica* biyotip A tarafından oluşturulur ve lobar purulent fibrinonekrotik bronkopnömoni şeklindedir (4,9-12). Hayvan yetiştiriciliğinin yoğun yapıldığı Erzurum ilinde koyunlardaki pnömonik pastörellozisin saptanmasına yönelik ayrıntılı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada Erzurum ilindeki koyunlarda pnömonik pastörellozisin varlığı, yaygınlığı ve patolojik bulgularının belirlenmesi amacıyla alınan koyun akciğer doku örnekleri bakteriyolojik ve histopatolojik olarak incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Çalışma materyalini, Erzurum'da faaliyet gösteren bir mezbahada kesimi yapılan 100 adet

koyun akciğerleri oluşturdu. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Birim Etik Kurul tarafından araştırmacılara bildirilen kurallar çerçevesinde 24.01.2018 tarihli 2018/26-D kararı ve etik kurul onayı ile gerçekleştirilmiştir.

Pnömonili akciğer örneklerinin sağlanması için farklı zamanlarda kesimi yapılan 1586 adet koyun akciğerinin makroskopik muayenesi yapıldı. Pnömoni bulgusu gösteren akciğerlerin makroskopik resimleri çekildi. Mikrobiyolojik ve histopatolojik muayeneler için akciğer örnekleri alındı.

Mikrobiyolojik Muayene

Örneklerden *M. haemolytica* Etkeni İzolasyonu

Pnömoni şüpheli akciğer örneklerinden %7 lik koyun kanı ilave edilen Kanlı Agar besiyerlerine ekimler yapıldı. Besiyerleri 37 °C'de 24-48 saat inkube edildi. Kanlı Agar besiyerlerinde üreyen bakterilerin koloni morfolojileri, hemoliz özellikleri ve Gram boyama özellikleri incelenerek *M. haemolytica* identifikasyonları yapıldı.

Koyun kanlı agarında 24-48 saatlik inkubasyondan sonra, Gram negatif boyanan ve β hemoliz gösteren bakteriler incelemeye alındı. *M. haemolytica* şüpheli kolonilerin katalaz, oksidaz, indol oluşumu, üreaz aktivitesi, nitrat redüksiyonu ve Mac Conkey agarda üreme durumlarına göre identifikasyonlarına gidildi. Gram boyamada negatif görünen bakterilerin katalaz aktiviteleri hidrojen peroksit (H₂O₂) ile ölçüldü (13). Lam üzerinde O₂ açığa çıkmasından dolayı gaz oluşturan koloniler katalaz pozitif olarak değerlendirildi. Oksidaz aktiviteleri oksidaz şerit test ile ölçüldü. Şüpheli bakterinin 18-24 saatlik saf kültüründen platin öze ile alınan birkaç koloni oksidaz diskine yayılarak sürüldü. 25-30 saniye içinde diskin pembe mor bir renk alması pozitif, renk değişikliğinin olmaması negatif olarak değerlendirildi (14-15).

İndol test ortamına şüpheli bakterinin saf kültüründen ekim yapıldıktan sonra, 37 °C'de 24 saat inkube edildi. İnkubasyondan sonra, indol

ayırıcından 3-5 damla tüpün yan tarafından akıtılarak, üst tarafta bir tabaka oluşturulması sağlandı. Besiyeri ve ayıraç arasında kırmızı renk oluşması pozitif, renk değişikliğinin olmaması negatif olarak değerlendirildi. Şüpheli bakterinin saf kültüründen üre besiyerine ekim yapılarak 18-22 saat 37 °C'de inkube edildi. İnkubasyondan sonra, besiyerinin renginin kırmızı olması pozitif, renk değişikliğinin görülmemesi negatif olarak değerlendirildi. Mikroorganizmanın saf kültüründen, birkaç koloni nitratlı buyyon bulunan tüplere ekildi ve 37 °C'de 5 gün inkube edildi. Daha sonra buyyonun üzerine nitrat ayıraçlarından (Solüsyon A, Solüsyon B), 1'er ml dökülerek besiyerinin renginin kırmızı veya kiremit kırmızısı olması pozitif olarak kabul edildi. *M. haemolytica* şüpheli bakterilerin 18-24 saatlik saf kültürlerinden, bir koloni Mac Conkey agarı pasaj yapılarak, 37 °C'de 48-72 saat inkube edildi. Bu sürenin sonunda, üreme gösteren bakteriler *M. haemolytica* yönünden değerlendirildi (14-16).

Bromcreosol purple broth'a son konsantrasyonu %1 olacak şekilde, karbonhidatlarının, %10'luk solüsyonları eklenerek, fermentasyon besiyerleri vida kapaklı şişelere hazırlandı. TSB (Tryptic Soy Broth) buyyonda saf kültürlerinden hazırlanmış bakteri kültürlerinin 0.1 ml'si şeker besiyerlerine ekilerek, 37 °C'de 14 gün süre ile inkube edilip renk değişiklikleri gözlemlendi ve sonuçlar değerlendirildi (16).

Histopatolojik İnceleme

Kesim sonrası, makroskopik olarak pnömoni lezyonlu 100 adet koyun akciğerinden lezyonların görünüm, şekli ve lokalizasyonları dikkate alınarak histopatolojik incelemeler için doku örnekleri alındı. Her akciğerden alınan doku örnekleri için rutin histopatolojik doku takip işlemleri yapıldı ve hazırlanan preparatlar hematoksilin-eozin (HE) ile boyanıp görüntüleme sistemine sahip bir ışık mikroskobu ile incelendi (Olympus BX 51, Germany). Kesitlerde gözlenen histopatolojik bulgular özelliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi (Tablo 1) (17,18).

Pnömonili akciğerlere ait makroskopik ve mikroskopik bulgular karşılaştırıldı (8).

Tablo 1. Akciğer doku kesitlerinde fibrinli pnömoni bulgularına göre yok (-), hafif (+), orta (++) , şiddetli (+++) olarak sınıflandırma.

Table 1. Classification of lung tissue sections to fibrin formation during pneumonia as absent (-), mild (+), moderate (++) , and severe (+++)

Pozitiflik Derecesi	Fibrinli Bronkopnömoni Varlığı
Yok (-),	Fibrinli Pnömoni Bulguları Yok
Hafif (+),	İnterlobuler Septumda Hafif Düzeyde Kalınlaşma, Alveollerde Fibrin Birikimi, Mononükleer hücre İnfiltrasyonu
Orta (++)	İnterlobuler Septumda Orta Düzeyde Kalınlaşma, Alveollerde Fibrin Birikimi, Mononükleer hücre İnfiltrasyonu
Şiddetli (+++)	İnterlobuler Septumda Şiddetli Düzeyde Kalınlaşma, Tromboz, Alveollerde Fibrin Birikimi, Mononükleer hücre İnfiltrasyonu

BULGULAR

Makroskopik bulgular

Mezbahada kesilen 1586 koyuna ait akciğerlerin makroskopik muayenesinde 100' ünde (%6,3) pnömoni lezyonları saptandı. Pnömoni lezyonları incelenen akciğerlerin daha çok kranial loplarda yerleşim gösterdiği ve bir lopcuğun tamamını ya da üçte ikisini kapsayan lobar tarzda pnömoni odakları şeklinde lokalize olduğu görüldü. Makroskopik olarak lopcukların belirginleştiği ve gri renkte fibrin iplikciklerinin bulunduğu gözlemlendi. İnterlobuler septumların fibrinli bir eksudatla kalınlaştığı ve bazı olgularda ise plevrada da fibrinli yangı bulguları görüldü. Pnömonili akciğerlerin dış yüzeylerinin koyu kırmızı-kahverengi veya gri renkli olduğu ve geniş fibrin birikimleriyle karakterize alacalı mermer görüntüsü verdiği gözlemlendi. Benzer şekilde fibrinli pnömonili akciğerlerin kesit yüzeyleri de koyu kırmızı-kahverengi ve gri renkli olup fibrinöz görünümdeydi (Şekil 1-A).

Mikrobiyolojik Bulgular

Pnömonili akciğer örnekleri %7'lik koyun kanı ilave edilen kanlı agar besiyerine ekimleri yapılarak, bu besiyerinde üreyen bakterilerin koloni morfolojileri, hemoliz özellikleri ve gram boyama özellikleri incelenerek 17 (%17) örnekte *M. haemolytica* etkeni izolasyon ve identifikasyonları yapıldı (Tablo 2).

Tablo 2. *M. haemolytica* izole ve identifikasyon sonuçları.

Table 2. The results of isolation and identification of *M. haemolytica* in this study.

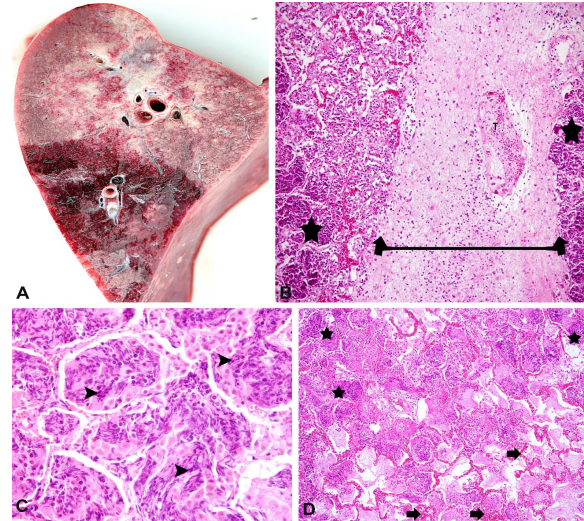
İdentifikasyon sonuçları	<i>M. haemolytica</i>
%7'lik Koyun kanı ilaveli kanlı agarda üreme	Pleomorfik basiller, 0.5-2 mm çapında S tipinde gri renkli koloniler
Hemoliz	Beta hemolitik
Indol	Negatif
Katalaz	Pozitif
Oksidaz	Pozitif
Nitrat	Pozitif
Ramnoz	Negatif
McConkey Agar	Üreme pozitif
H ₂ S (Hidrojen Sülfür)	Negatif
Üre	Negatif
Laktoz, glukoz, sakkaroz, maltoz, ve galaktozdan gaz teşkil etmeksizin asit oluşturma	Pozitif

Histopatolojik bulgular

Pnömonili akciğer örneklerin histopatolojik incelemeleri sonucunda 26 (%26) örnekte fibrinli bronkopnömoni bulgusu gözlemlendi. Fibrinli bronkopnömoni bulgusu gösteren akciğer örneklerinin 17'sinde ise (%65,38) *M. haemolytica* etkeni saptandı.

Fibrinli bronkopnömoni bulgusu gözlenen olguların çoğunda yangısal hiperemi, kırmızı hepatizasyon ve gri hepatizasyon alanları gözlemlendi. Kırmızı hepatizasyon alanlarında interalveolar septumda şiddetli ve yaygın özellikte kapillar hiperemi, alveol lümeninde eritrosit ve lökositlerin bulunduğu seröfibrinöz karakterde eksudasyon ve hemorajik alanlar görüldü. Gri hepatize alanlarda ise interlobüler septum, perivasküler, peribronşial ve

supplöral aralıklarda fibrinli seröz, fibrinli prulent bir eksudat varlığına, alveol lümeninde yoğun nötrofil lökositler ile birlikte dökülmüş alveol epitel hücrelerine rastlandı (Şekil 1-B, C, D). Fibrinli bronkopnömoni görülen dört akciğer olgusunda bazı alveollerin lümeninde bakteri toksinlerinin etkisiyle yulaf benzeri görüntü veren makrofajlara (oat cell) rastlandı (Şekil 1-C). İnterseptal aralıklarda ve interalveolar aralıklarda fibrin ve lökosit birikimine bağlı olarak kalınlaşmalar gözlemlendi (Şekil 1-B). Yine plevranın kalınlaştığı ve yangılı olduğu görüldü. Fibrinli bronkopnömoni gözlenen akciğer örneklerinde ayrıca akciğer parankiminde nekroz alanlarının oluştuğu ve seçilen nötrofil lökositlerin ise çoğunlukla dejenerasyona uğramış oldukları gözlemlendi. Şiddetli yangısal değişikliğe uğrayan bazı akciğerlerde ise arter ve venalarda vaskülit ve trombozlar bulunmaktaydı (Şekil 1-B). Bazı akciğerlerde tromboz oluşumlarına bağlı sekester oluşumları görüldü (Şekil 1-B, C, D).



Şekil 1: Akciğer dokusu, fibrinli pnömoni (A), İnteralveolar septumda şiddetli kalınlaşma (Çift başlı ok), alveollerde şiddet lökosit infiltrasyonu, gri hepatizasyon (Yıldız) (B), Gri hepatizasyon Oat-cell (yulaf hücreler) (okbaşları), (C), Gri hepatizasyon (yıldızlar), Kırmızı hepatizasyon (kalın okar) (D), H&E, 40X.

Figure 1: Lung tissue, fibrinous pneumonia (A), Severe thickening of the inter alveolar septum (Double-headed arrow), severe leukocyte infiltration in alveols, gray hepatization (Star) (B), Gray hepatization Oat-cell (oat cells) (arrowheads), (C), Gray hepatization (Stars), Red hepatization (bold arrow) (D), H&E, 40X.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Akciğerler hava ile dış ortamla, kan ve lenf dolaşımı ile de iç organlarla sürekli ilişki halinde oldukları için, hastalıklara hedef olan önemli organlardandır. Son derece hassas ve dış çevreye açık olan akciğerler enfeksiyöz etkenlere (19-21) ve enfeksiyöz olmayan predispoze faktörlere sıklıkla maruz kalabilirler (22-24). Bu nedenle hayvan yetiştiriciliğinde önemli ekonomik kayıplara neden olmakta olan akciğer hastalıkları üzerine birçok araştırma yapılmıştır (2,9,25,26). Pnömoni nedenlerinden olan *Pasteurella spp.* enfeksiyonlarına dünyada (6,11,12,26-28) ve ülkemizde (2,5,9,10,25,29) oldukça sık rastlanıldığı için ilimizde bu çalışmanın yapılması uygun bulunmuştur.

Koyunlarda pastörellozis septisemik veya pnömonik pastörellozis halinde seyretmektedir. Enfeksiyon, süttten kesilmiş kuzularda görülmekle birlikte daha çok daha çok sonbahar aylarında ortaya çıkmakta ve ani ölümler görülebilmektedir. Hastalık genellikle kötü havalandırma koşulları, uzun süreli nakiller, ani ilkim değişikliği gibi stres faktörlerinin yanısıra, adenovirüs ve respiratory sinsityal virüs gibi bazı viral enfeksiyonları takiben de ortaya çıkmaktadır. *M. haemolytica*'nın neden olduğu enfeksiyonlar makroskobik ve mikroskobik olarak fibrinli pnömoninin genel bulgularını yansıtmaktadır (1,4,10,25,29).

Türkiye'de son yıllarda yapılan araştırmalarda pnömoni olgularına koyunlarda %5.8 (30), %3.94 (31). %6.83 (8), kuzularda %2.06 (9) ve %33.8 (21), %35.41 (32) keçilerde ise %4.91 (29) oranında rastlandığı ve araştırma sonuçları arasında yüksek oranlarda farklılıklar bulunduğu görülmektedir. Bu farklılıklar pnömoni tiplerinin gelişiminde de gözlenmekte olup, koyun akciğer örneklerinde yapılan çalışmalarda, Kars yöresinde %0.24 (30) ve %28 (2), Konya ilinde %15 (9), Balıkesir ilinde %26 (31) ve Erzurum ilinde %23 (8) oranında fibrinli pnömoni bildirilmiş olup, görülme oranlarının oldukça farklı gösterdiği görülmüştür. Özyıldız ve ark. (25) 110 adet pnömoni şüpheli akciğer örneğinin

24'ünde fibrinli pnömoni bulgusuna rastlamışlardır. Pnömonilerin görülme oranları arasındaki bu farklılığın, çalışmanın yapıldığı bölge, çalışma süresi, örneklerin alındığı koyunların ırk, bakım ve beslenmesi gibi faktörlerden, işlenen materyallerin de mezbaha çalışmalarından oluşmasına bağlanmaktadır(8,9).

Kuzu enzootik pnömonileri üzerine yapılan çalışmalarda Sağlam ve ark. (10) Erzurum ve çevresinde pnömonili kuzu akciğerlerinde histopatolojik incelemelerde %38.46 oranında kataral-purulent bronkopnömoni ve %33.33 oranında da apseli-nekrotik bronkopnömoni, Konya yöresinde; Yüzbaşıgil (9) %15, Oruç ise (32) %26.72 oranında fibrinli ve %5.73 oranında fibrinli-nekrotik pnömoni bulgusu bildirmiştir. Keçilerde ise Van yöresinde %23 (29) oranında fibrinli pnömoni olgularına rastlandığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada ise, mezbahada kesilen 1586 koyuna ait akciğerlerin makroskobik muayenesinde pnömoni lezyonları %6.3 oranında gözlenmiş ve pnömonik akciğerlerin mikroskobik muayenesinde de %26 oranında saptanan fibrinli bronkopnömoni değerinin daha önceki çalışmalar da bildirilen değerlerin çoğunluğuyla yakın olduğu görülmüştür.

Fibrinli pnömonilerin makroskobik olarak genelde kranioventral bölgelerde ve kaudal lobların ön yüzlerinde lezyonlara neden oldukları bildirilmiştir (1,2,4,8,9,25). Sunulan çalışmada da 17 olguda krania loplarda, 9 olguda ise kaudal loplarda tespit edilmiştir. Ayrıca plörada kalınlaşma ve interlobuler septumlardaki genişlemeler ve akciğerlerdeki mozaik görünümü konsolide bölgelere rastlanılmıştır. Fibrinli pnömonilerin mikroskobik incelemesinde olguların çoğunluğunda yangısal hiperemi, kırmızı hepatizasyon ve gri hepatizasyon alanları, interalveolar septumda hiperemi, ödem, alveol lümenlerinde fibrinle karışık nötrofil lökositler ve alveoler makrofajlar, lenfatiklerde fibrin trombüsleri görülmüş olması, literatür bilgi (1-4,8,9,10,21,25,30) ile uyumlu bulunmuştur. Pastörellozis enfeksiyonunda akciğer dokusunda gözlenebilen ve diğer araştırmacılar (8,9,25), tarafından da bildirilen

yulaf benzeri makrofajlara (oat cell) bu çalışmada da rastlandı.

Sunulan çalışmada, pnömoni saptanan örneklerde pastörella enfeksiyonunu belirlemek için histopatolojik bulguların yanısıra kesin tanı için yapılan mikrobiyolojik incelemeler sonucunda akciğer örneklerinin %17'sinde *Pasteurella spp* etkenleri izole edildi. Aynı bölgede daha önce yapılan bir çalışmada pnömonili kuzu akciğerlerinden izole edilen bakteriler arasında *Pasteurella haemolytica* (*P. haemolytica*)'ya tek başına %40.42, diğer bakterilerle birlikte ise %65.92 oranında rastlanmış, *Pasteurella multocida* (*P. multocida*)'nında %2.12 oranında bulunduğu rapor edilmiştir (10). Kuzu pnömonilerinde *M. haemolytica* etkeni varlığını Yüzbaşıgil (9) ve Ülgen ve ark. (21) %16 oranlarında, Oruç ise (32) %56.14 oranında bildirmiştir.

Koyun pnömonileri üzerine yapılan çalışmalarda, bakteriyolojik incelemede Usta (31) *P. multocida* ve *M. haemolytica* etkenine %14 gibi aynı oranlarda rastladığını, bunlardan fibrinli bronkopnömonilerde *M. haemolytica*' ya %8, *P. multocida*'ya %4, fibrinonekrotik bronkopnömonilerde de %4 *P. multocida* ve %2 oranında *M. haemolytica* izole ettiğini bildirmiştir. Pnömoni şüpheli koyun akciğerlerinde yaptıkları bakteriyolojik incelemelerde, *M. haemolytica*'ya Dağ ve ark. (2) %19, İlhan ve Keleş (33) %11,3, Bemani ve ark. %52.3 (34) oranında ve Özyıldız ve ark. (25) 110 pnömonili akciğer örneğinin 35 'inde rastladıklarını rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada, *Pasteurella spp.* etken izolasyonu değerlerinin histopatolojik sınıflandırmada vurgulanan fibrini bronkopnömoni değerlerinden daha düşük oranlarda bulunmasında, doğal olarak izolasyon çalışması yapılmayan diğer etkenlerin rolü olduğu düşünülmüştür. Koyun pnömonilerinde etiyolojik yelpazenin çok geniş olması durumu, gelişen enfeksiyonlarda klinik ve patolojik görünümü komplike yaparak etiyolojik bulgularla histopatolojik bulguların birleştirilmesini güçleştirmektedir. Bu sebeplerdir ki pnömonilerin sınıflandırılması çoğu

kaynaklarda (1,2,4,8-10) değişik başlıklar altında yapılmaktadır.

Sunulan çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, Erzurum ilinde koyun pnömonilerinin etiyolojisinde *M. haemolytica*'nın önemli derecede etken olduğu, histopatolojik muayenede ise saptanan fibrinli bronkopnömoni oranının sürü sağlığı yönünden yüksek değerlerde bulunduğu görülmüştür. Genelde pnömoniler, etken özelinde ise *Pasteurella spp.* enfeksiyonları yüksek tedavi masrafları yanısıra, sebep oldukları koyun ve kuzu ölümlerinden dolayı yetiştiriciler yönünden önemli ekonomik kayıplar oluşturmaktadırlar. Bu sebeplerden dolayı pastörellozis hastalığına karşı sağlık koruyucu önlemlerin alınması ve mücadele yapılması önerilmektedir. Yine pastörellozis hastalığının genelde kötü bakım ve barınma koşullarından kaynaklandığı için, hayvan sahiplerine yönelik olarak, barınak-çiftlik hijyeni ve hayvan nakilleri konusunda eğitim yapılmalı ve ilgililer hastalık hakkında bilgilendirilmelidir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Çiftçi MK., Ortatlı M., Erer H., Hatipoğlu F., Özdemir Ö., 2015. Veteriner Sistemik Patoloji 1. Cilt. 5-8, SÜ Basımevi, Konya.
2. Dağ S., Gürbüz A., Özen H., Büyük F., Çelebi Ö., Karaman M., Karakurt E., 2018. Immunohistochemical and molecular detection of *Mannheimia* spp. and *Pasteurella* spp. in sheep with pneumonia in Kars province-Turkey. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 24, 281-288.
3. Zachary JF., McGavin MD., 2016. Pathologic Basis of Veterinary Disease. 5 th ed., 458-455, Mosby-Elsevier, St. Louis, Missouri.
4. Yener Z., Uyar A., Yaman T., Keleş ÖF., 2016. Veteriner Özel Patoloji. I.Baskı, 109- 113 Matus Basımevi, Ankara.
5. Kennerman E., 2017. Koyunlarda Solunum Sistemi Hastalıklarına Klinik Yaklaşım. Türkiye

- Klinikleri Vet Sci Int Med Special Topics, 3, 38-46.
6. Singh F., Sonawane GG., Meena RK., 2019. Pathology, isolation and characterisation of virulent and diverse *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* associated with fatal pneumonia in sheep, Rajasthan, India. *Comp Clin Pathol*, 28, 531-540.
 7. Caswel JL., Willams KJ., 2007. Respiratory system in Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals. 5th ed., 523-629, Saunders Ltd. Philadelphia.
 8. Eser G., 2019. Koyun pnömonilerinde parainfluenza 3 virus varlığının immunohistokimyasal yöntemle araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.
 9. Yüzbaşgil AF., 2010. Kuzu pnömonilerinde patolojik ve bakteriyolojik incelemeler ile parainfluenza 3 (PI-3) virusunun etiolojideki rolü. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
 10. Sağlam YS., Bozoğlu H., Baş AT., 1999. Erzurum ve çevresinde kuzu enzootik pnömonileri üzerinde bakteriyolojik ve patolojik incelemeler. *Etlik Vet Mikrobiol Derg*, 10, 1-17.
 11. Ali H., Al Balaa B., 2019. Prevalence of *Mannheimia haemolytica* in Syrian Awassi Sheep. *Bulg J Vet Med*, 22, 439-446.
 12. Venkatasivakumar R., Reddy BS., Reddy BSS., Reddy TN., 2018. Pneumonic pasteurellosis in a sheep flock and its management. *Research & Reviews: J Vet Sci Technol*, 5, 13-14.
 13. Koneman EW., Allen SD., Janda WM., Schreckenberger PC., Winn WC., 1997. Diagnostic Microbiology. The nonfermentative Gram-negative bacilli. 6th ed., 252-320, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
 14. Arda M., 2006. Temel Mikrobiyoloji. 4. Baskı., 80-102, Medisan Yayınevi. Ankara.
 15. Garrity GM., Bell JA., Lilburn T., 2005. Order XIV. Pasteurellales ord. nov. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2 th ed., vol, 2, 850, Spinger, New York.
 16. Quinn PJ., Markey BK., Leonard FC., Fliz Patrick ES., Fanning S., Hartigan PJ., 2011. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2nd ed., 38-91., Oxford, Blackwell Science Ltd.
 17. Karatas T., Yildirim S., Arslan H., Aggul AG., 2019. The effects on brown trout (*Salmo trutta fario*) of different concentrations of deltamethrin. *Comp Biochem and Physiol Part C: Toxicol & Pharma*, 226,1-6.
 18. Karatas T., Yildirim S., Arslan H., 2019. Effects of different concentrations of diazinon on 8-hydroxy-2-deoxyguanosine and histopathology, antioxidant enzyme, acetylcholinesterase activity and plasma metabolites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int J Agri Biol*, 21, 583-589.
 19. Kaya O., Erganiş O., Boynukara B., 1993. Koyun, kuzu ve buzağı pnömonilerinde bakteriyel etioloji ve antibiyogram, *Türk Vet Hek Derg*, 5, 57-60.
 20. Ayтуğ CN., Yalçın BC., Alaçam E., Türker H., Özkoç Ü., Gökçen H., 1990. Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği. *Tüm Veteriner Hayvan Hizmetleri Yayınları*, 2, 143-164.
 21. Ülgen M., Sönmez G., Aydın F., 1997. Kuzu pnömonieri üzerinde mikrobiyolojik ve histopatolojik incelemeler. *Etlik Vet Mikrobiyol Derg*, 9, 55-70
 22. Sharif L., Obeidat J., Al-Ani F., 2005, Risk factors for lamb and kid mortality in sheep and goat farms in Jordan. *Bulg J Vet Med*, 8(2), 99-108.
 23. Yapi CV., Boylan WJ., Robinson RA., 1990. Factors associated with causes of preweaning lamb mortality. *Preventive Vet Med*, 10, 145-152.
 24. Andres S., Jimenez A., Sanchez J., Alonso JM., Gomez L., Lopez F., Rey J., 2007. Evaluation of some etiological factors predisposing to diarrhoea in lambs in "La Serena" (Southwest Spain). *Small Rum Res*, 70, 272-275.
 25. Özyıldız Z., Tel OY., Yılmaz R., Özsoy SY., Keskin O., 2013. Pathological and microbiological investigations of pneumonic pasteurellosis in

- sheep. Kafkas Üniv Vet Fak Derg, 19, 103-108.
26. Lacasta D., Gonzalez JM., Navarro T., Saura F., Acin C., Vasileiou NGC., 2019. Significance of respiratory diseases in the health management of sheep. *Small Rum Res*, 171, 99-102.
27. Cid D., Garcia-Alvarez A., Dominguez L., Fernandez-Garayzabal JF., Vela AI., 2019. *Pasteurella multocida* isolates associated with ovine pneumonia are toxigenic. *Vet Microbiol*, 232, 70-73.
28. Khalili I., Ghadimipour R., Ghaderi R., Shokri GH., Jabbari AR., Razmaraii N., Ebrahimi M., 2016. Isolation, identification, and monitoring of antibiotic resistance in *Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica* isolated from sheep in East Azerbaijan province, Iran. *Archives of Razi Inst*, 71, 153-160.
29. Yener Z., İlhan F., İlhan Z., Sağlam YS., 2009. Immunohistochemical detection of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* antigens in goats with natural pneumonia. *Vet Res Com*, 33, 305-313.
30. Beytut E., Otlu S., Sözmén M., 2002. Kars Bölgesi koyunlarında gözlenen pnömoniler üzerine patolojik ve etiyolojik incelemeler. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 8, 31-39.
31. Usta M., 2019. Koyun pnömonilerinin patolojik ve bakteriyolojik olarak araştırılması. Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Balıkesir, Türkiye.
32. Oruç E., 2006. The pathologic and bacteriologic comparison of pneumonia in lambs. *Turk J Vet Anim Sci*, 30, 593-599.
33. İlhan Z., Keleş İ., 2007. Biotyping and serotyping of *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* isolated from lung samples of slaughtered sheep in the Van Region. *Turk J Vet Anim Sci*, 31, 137-141,
34. Bemani E., Esmailzadeh S., Gharibi D., Ghorbanpoor M., 2017. Immunohistochemical and bacteriological investigations of *Mannheimia haemolytica* in sheep bronchopneumonia. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 23, 7-14.



Investigation of The Genotoxic Effect of Acetamiprid in Mouse Bone Marrow Cells by CA (Chromosomal Aberration) and MN (Micronucleus) Test Methods*

Safak SANDAYUK^{1a}, Pınar AKSU KILICLE^{1b}✉

1. Kafkas University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Kars, TURKEY.
ORCID: 0000-0002-0247-6462^a, 0000-0002-3567-5775^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
05.03.2020	24.04.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Sandayuk S, Aksu Kilicle P: Investigation of The Genotoxic Effect of Acetamiprid in Mouse Bone Marrow Cells by CA (chromosomal aberration) and MN (micronucleus) Test Methods. *Atatürk University J. Vet. Sci.*, 15(2): 130-137, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.699247

Abstract: In this study, we aimed to determine acetamipridine's (ACE) genotoxic effect in *mus musculus* var. *albinos* bone marrow cells by chromosomal aberration (CA) and micronucleus (MN) analysis. Mice were divided into four groups. Group 1 determined as negative control (NC), group 2, 3 and 4 were determined as 5 mg/kg ACE, 10 mg/kg ACE, and 15 mg/kg ACE groups respectively. ACE was given orally for 14 days. CA, mitotic index (MI) and MN frequencies were determined in femoral cells. As a result, no genotoxic effects were observed in groups treated with 5-10 mg/kg ACE compared to negative control. CA rates of 15 mg/kg ACE group was determined to be high ($P<0.001$). In addition, MI ratio in the 15 mg/kg ACE group was lower than the control group. When the ratios of the polychromatic erythrocyte with micronucleus were examined, no significant difference was found between the 5 mg/kg and 10 mg/kg ACE groups and control group. However, a statistically significant increase in MNPCE rates was observed in the 15 mg/kg ACE group compared to control ones ($P<0.001$). It was concluded that ACE at 15 mg/kg dose was genotoxic-cytotoxic.

Keywords: Genotoxic, Micronucleus, Mitotic index, *Mus musculus albino*.

Asetamipridin Fare Kemik İliği Hücrelerinde Genotoksik etkisinin KA (Kromozomal Aberasyon) ve MN (Mikronükleus) Test Yöntemleri ile Araştırılması

Öz: Bu çalışma ile asetamipridin (ACE) *mus musculus* var. *albino* türü farelerin kemik iliği hücrelerinde kromozomal aberasyon (KA) ve mikronükleus (MN) analizi aracılığı ile genotoksik etkisinin belirlenmesini amaçladık. Fareler dört gruba ayrıldı. 1. grup negatif kontrol grubu olarak belirlendi. 2. grup 5 mg/kg ACE grubu, 3. grup 10 mg/kg ACE grubu ve 4. grup, 15 mg/kg ACE grubu olarak belirlendi ve ACE 14 gün boyunca oral olarak verildi. Femur hücrelerinde kromozomal aberasyon, mitotik indeks (MI) ve MN frekansları belirlendi. Sonuç olarak negatif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 5 mg/kg ve 10 mg/kg ACE uygulanan gruplarda genotoksik etki gözlenmedi. 15 mg/kg ACE uygulanan grupta kromozomal aberasyon oranının yüksek olduğu ($P<0.001$) belirlendi. Ayrıca 15 mg/kg ACE uygulanan grupta mitotik indeks oranının kontrol grubuna göre düşük olduğu saptandı. MN frekansları incelendiğinde, 5 mg/kg ve 10 mg/kg ACE uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Ancak kontrol grubuna göre 15 mg/kg asetamiprid uygulanan grupta, Mikronükleuslu polikromatik eritrosit oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi ($P<0.001$). ACE 15 mg/kg dozlarının genotoksik-sitotoksik etkili olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Genotoksik, Mikronükleus, Mitotik indeks, *Mus musculus albino*.

✉ Pınar AKSU KILICLE

Kafkas University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Kars, TURKEY.
e-mail: pinar-aksu@hotmail.com

*This study was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit at Kafkas University within the scope of project number 2017-FM-30. This article is derived from the master's thesis.

INTRODUCTION

Despite the limited agricultural areas, the world population is increasing day by day. This situation increases the need for food. According to the Food and Agriculture Organization (FAO), people need 15-20 million tons of food each year (1). However, the limitation in the agricultural field and the limitation of animal production have become unable to meet the increased nutrient requirements. The inability to protect agricultural products against diseases and pests often has a negative effect on obtaining healthy food. This has led people throughout history to pursue various quests to meet food needs, increase agricultural productivity, and preserve limited food resources. This quest started a struggle that which can be called agricultural war (2).

Pesticides are chemical substances produced to kill insects and unwanted animals (3). Pesticides are very useful if administered with appropriate dosage and suitability. Intense and unconscious use raises the problem of pesticide residues (4). Pesticides have different levels of toxic effects on animals and humans other than agricultural pests as well. Therefore, it is necessary to evaluate the effects of pesticides not only with the organism which they affect, but also with the plants, human and other organisms in the area where they are applied (5-7).

Neonicotinoids are new generation insecticides developed based on the mechanism of action of nicotine (8,9). Neonicotinoids, nicotine-derived insecticides, which are used to control sucking insects, scabbard pests and some butterflies, are considered to be new generation insecticides (10,11). ACE, thiacloprid, imidacloprid and thiamethoxam are the drugs of this group. Neonicotinoids have high specific effects and are widely used in plant protection. Neonicotinoids, which accumulate in surface waters, are named as group 2 and 3 toxins in the classification made by the World Health Organization (WHO) and EPA (12,13).

Intense and unconscious use of ACE causes toxicity in humans and animals either directly or by entering the food chain. ACE is cytotoxic and

genotoxic in mammals (14). It has been found to cause sibling chromatid changes in human peripheral lymphocyte cultures, micro-nucleus formation in blood lymphocytes and chromosomal anomalies (15). The effects of ACE on the living organisms and the environment need to be determined. Some studies have shown that ACE causes acute toxicity and also damages the nervous, reproductive and immune systems (5). It has been found to have genotoxic effects alone or in combination with other pesticides (15-18). In this study, we aimed to determine whether ACE in the neonicotinoid group shows genotoxicity in mouse bone marrow cells by using CA and MN analysis system.

MATERIALS and METHODS

Animal Material

Approval of the study was obtained with the permission of 17.03.2017/036 by Animal Experiments Local Ethics Committee at Kafkas University.

A total of 40 male mice of *Mus musculus* albino, weighing 20-30 g, were used in the study. The dose of the substances to be administered was determined according to the daily weights of the animals, and dissolved in distilled water and then administered through oral gavage.

Method

Mice were divided into 4 groups (10 mice). Group 1, NC group and were given distilled water through orally for 14 days. Group 2., 3. and 4. received (5,10 and 15 mg/kg) ACE through orally for 14 days (19).

Chromosomal Examination and Detection of Mitotic Index

The preparation of metaphase preparats for the detection of chromosomal aberration and mitotic index was performed according to Preston, taking into consideration our laboratory and working

conditions (20,21). For mitotic index and micronucleus test, mice in all groups were injected i.p at 4 mg/kg dose of colchicine prepared by being dissolved in distilled water 2 hours before euthanasia at the beginning of the 15th day. The animals were dislocated and femoral bones were removed. The bone marrow was removed from the femur by an injector and transferred to a centrifuge tube containing 3 mL of calf serum. Tubes of one of the femoral bones were centrifuged. Cells were incubated for 20-30 minutes in a heated hypotonic solution. After incubation, the cells were centrifuged. Cells were fixed in freshly prepared 5 mL of Carnoy's, then centrifuged to discard the supernatant. The fixation was repeated 3 times by discarding more than 0.5 mL supernatant in the tube after each centrifugation. The remaining cells were suspended by a pastor pipette, were dropped from 3-4 cm above and spread to moist clean slides. Preparations which were stained with 10% Giemsa solution prepared for 10 minutes. The number of cells in the metaphase stage was determined by counting and their percentages were determined. In this way, five preparations were prepared for one animal from each dose group. From these preparations, 100 metaphase cells were counted for the CA and 1000 cells for the MA.

Micronucleus Test

Micronucleus detection in bone marrow preparations was performed by modifying the method firstly developed by Schmid (22,23). The femoral bones that were cleaved from their muscles were cut at both ends and removed by a bone marrow syringe and placed in a centrifuge tube containing 3 mL calf serum. Cells were suspended by

adding a drop of calf serum to the remainder of the tube. A drop of this was taken and spread on clean slides. The slides were dried in air and fixed in methyl alcohol for 10 minutes. After fixation, the preparations were stained with May Grunwald (5 minutes) and Giemsa (30 minutes). 1000 cells were counted from each preparation. The numbers of NCE, PCE and MNPCE in these cells which are used for the micronucleus detection and percentages of these cells were calculated.

Statistical Analysis

SPSS 22 package program was used for statistical analysis of the data in our study. One-way ANOVA was used to determine the difference between the negative control and test groups. Tukey test was used to identify differences between groups. $P < 0.05$ was statistically considered significant.

RESULTS

Chromosomal Aberration Rates

When the parameters of the mice in the NC group and other groups treated with ACE were examined, it was found that CA rate of animals in the group receiving ACE at 15 mg/kg dose was highest compared to the other groups and this difference was statistically significant compared to the NC group ($P < 0.001$). Differences in CA rate in the groups receiving ACE at a dose of 5-10 mg/kg compared to the NC group were not found to be statistically significant (Figure 1). Chromatide fusion, chromosomal fracture, chromatide fracture and fragment images obtained from group 4 are given below (Figure 2), respectively.

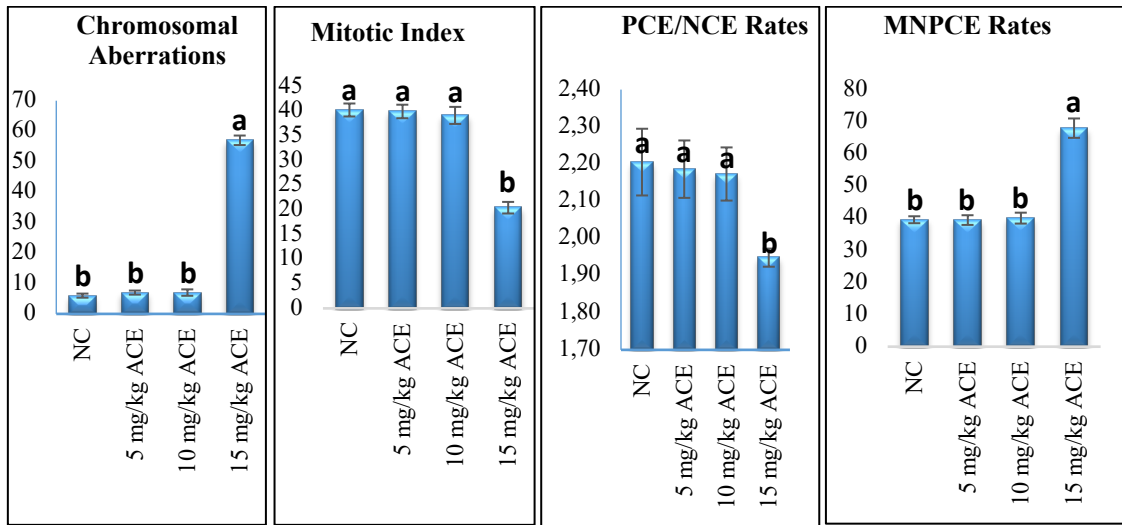


Figure 1. Chromosomal aberration ($P < 0.001$), Mitotic index ($P < 0.001$), PCE/NCE ($P < 0.001$), and MNPCE rates ($P < 0.001$) of negative control and test groups.

*ACE: Acetamidrid, NC: Negative control, PCE: Polychromatic erythrocyte, NCE: Normochromatic erythrocyte, MNPCE: Micronucleated polychromatic erythrocyte.

Şekil 1. Negatif kontrol ve test gruplarında kromozomal aberasyon, mitotik aktivite, PCE/NCE ve MNPCE oranları. *ACE: Asetamidrid, NC: Negatif kontrol, PCE: Polikromatik eritrosit, NCE: Normokromatik eritrosit, MNPCE: Mikronükleuslu polikromatik eritrosit.

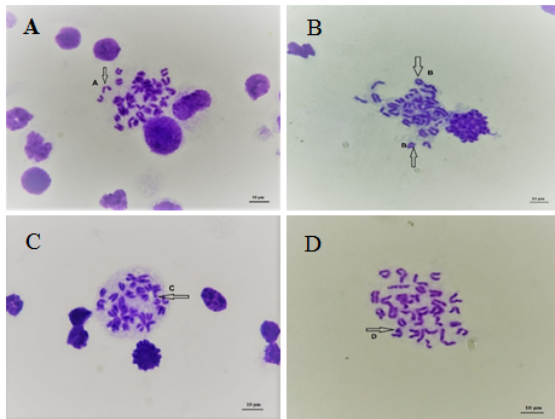


Figure 2. Chromosome fracture image (A), sister chromatid fusion image (B), fragment image (C) and chromid fracture image (D) (x 1000).

Şekil 2. Kromozom kırığı (A), kardeş kromatid birleşmesi (B), fragment (C) ve kromatid kırığı (D).

Mitotic Index Rates

It was observed that the MA decreased in the group with 15 mg/kg ACE and this was found to be statistically significant compared to the NC group ($P < 0.001$). The difference between the NC group and the groups with 5-10 mg/kg doses of ACE was not statistically significant (Figure 1).

Micronucleus Frequency

It was observed that the implementation of ACE at a dose of 15 mg/kg to mice reduced the PCE/NCE ratio (Figure 1). While the difference in the increase in MNPCE rates was statistically insignificant between the NC group and the groups with 5-10 mg/kg ACE, it was found to be significant in the groups with ACE at 15 mg/kg dose ($P < 0.001$, Figure 1). Polychromatic erythrocyte figures of single MN in the bone marrows are shown below (Figure 3).

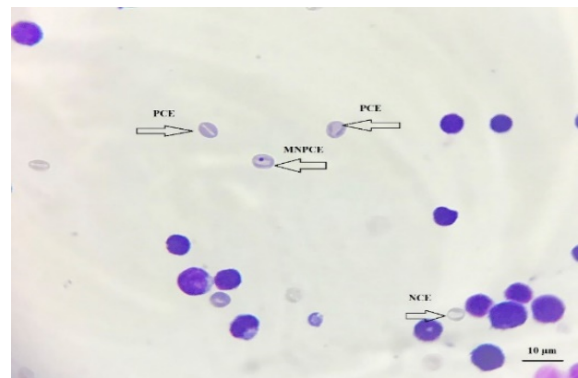


Figure 3. Single-micronucleated polychromatic erythrocyte (MNPCE) (x 1000).

Şekil 3. Tek mikronükleuslu polikromatik eritrosit (MNPCE).

DISCUSSION and CONCLUSION

Vertebrates exposed to insecticides, there is an increase in reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) (24). The resulting ROS and RNR cause damage by reacting with biological systems such as DNA, protein and cell membranes in the body (25). The antioxidant enzymes normally found in the body eliminate the harmful effects of these radicals by detoxifying them. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) enzymes protect the cell against insecticide by destroying ROS (26,27).

Yao et al. (28) in their study reported that the ACE increases the SOD and CAT enzyme levels in three bacteria species for a short time. The presence of SOD and CAT enzyme activities is important to indicate the presence of superoxide radicals (29). In physiological conditions, superoxide anions (O_2^-) are reduced by SOD to hydrogen peroxide (H_2O_2). CAT enzymes prevent the formation of hydroxyl radicals by converting hydrogen peroxide into H_2O and O_2 (29). However, when the production of ROS and RNR is too high, an imbalance occurs between the antioxidant system and free radicals, which is called oxidative stress (30). This leads to the formation of hydroxyl free radicals which can cause DNA strand breakage by increasing superoxide and hydrogen peroxide anions (29). ACE-induced cytotoxicity has been reported to be caused by superoxide anions (31).

EPA reported that the ACE was not mutagenic in the ames test in an in vivo study of Chinese hamster ovary cells and did not induce DNA synthesis in rat liver primary cells and mammalian liver cells as in vivo. In an in vitro CA study using CHO cells, the ACE was genotoxically positive when tested under metabolic activation at the cytotoxic dose level (32). This effect was not detected when there was no metabolic activation. In a CA study in mouse bone marrow, the ACE was reported to be non-clastogenic, nor did it produce MN in the in vivo mouse bone marrow test. However, studies It has shown that the

ACE leads to DNA damage by increasing CA and MN formation (32).

Few studies have investigated the genotoxic effect of ACE. The first study investigating the relationship between ACE and genotoxic damage was conducted by Kocaman and Topaktaş. Scientists investigated the genotoxicity in human peripheral blood lymphocytes using 25, 30, 35 and 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ doses of Mosectam 20 S (ACE 20%), a trademark by sister chromatid exchange (SCE), CA and MN test methods. They found significant increases in the frequencies of the SCE, the CA and the MN after 24 hours of exposure (15). Besides, Kocaman and Topaktaş studied the genotoxic effect of the ACE and a mixture of α -cypermethrin (α -CYP), which is also a pyrethroid insecticide, at 12.5 (ACE) + 2.5 (α -CYP), 15.1 (ACE)+5 (α -CYP), 17.5 (ACE) + 7.5 (α -CYP), and 20 (ACE)+10(α -CYP) $\mu\text{g}/\text{mL}$ doses in the human peripheral blood lymphocytes by CA, MN and SCE techniques in their study. They found that exposure to ACE+ α -cymethrin mixture for 24 and 48 hours increased CA and SCE depending on concentration. When the increase in MN rates is compared to the control, ACE+ α -cymethrin mixture synergistically induces cytotoxicity and genotoxicity (33). Gökalp Muranlı et al. studied the genotoxic effects of single and combined uses of ACE and propineb (PP) insecticides in human peripheral blood lymphocytes using micronucleus test technique. In their study, lymphocytes were exposed to ACE (0.625, 1.25, 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), PP (12.5, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) and ACE-PP mixture (0.625 + 12.5, 1.25 + 25, 2.5 + 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) for 1 and 2 days). They found that exposure to a 48-hour ACE-PP mixture produced a significant increase in MN rates, whereas their use alone did not produce a significant increase in MN rates (34). Çavaş et al.(14) reported that ACE has cytotoxic and genotoxic potential on small intestine cells using MN, comet and γ H2AX test methods on CaCo-2 cells. In another study they also suggested that ACE has genotoxic effects on human lung cells and that fullereneol nanoparticles improve the effect of ACE by cleaning ROS (35). Bağrı and Jain investigated the genotoxicity of ACE using CA and MN

test method in the cells of a mouse in a study. ACE was administered intraperitoneally to mice at a dose of 4.6 and 2.3 mg/kg for 60 and 90 days. As a positive control, cyclophosphamide was administered at a dose of 50 mg/kg. As a result, ACE was reported to be both genotoxic and cytotoxic after administration of 4.6 mg/kg for 60 and 90 days (36).

ACE and imidacloprid are new generation insecticides belong to the neonicotinoid group. Although they are of the same class of insecticides, ACE is a cyanoamide and imidacloprid is a nitroguanidine derivative. This chemical difference suggests that lower doses of ACE may cause more genotoxic effects (4). Bansal et al investigated the genotoxic effect of ACE and imidaclopridin on *Culex quinquefasciatus* reproductive systems using the dominant lethal test (DLT) in their study. According to the results of the study, the ACE at the lower doses shows a very high effect on ACE-induced genotoxic damage compared to imidacloprid (37). Rust and Saran showed that the genotoxic effect of ACE is higher than imidaclopride. Rust and Saran, in their work with thermal species compared ACE toxicity with imidacloprid and thiamethoxam and found that ACE has got toxicity higher than imidacloprid, but less than thiamethoxam (38).

In this study, according to CA, MA and MN test results, it has been observed that the ACE administered at doses of 5-10 mg/kg was not genotoxic (the differences were statistically insignificant), but ACE at 15 mg/kg significantly increased CA and MN frequency and decreased the PCE/NCE ratios together with MA. These results suggest that high doses of ACE have a genotoxic effect.

Consequently, doses, the studied concentrations, exposure period, the application routes way (orally) and the method used for the investigation of ACE were different than the previous studies on ACE genotoxic effects. With this study, it can be concluded that required precautions should be taken during the application of ACE. Moreover,

this study sheds light on the studies on the effect of ACE.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was supported by Scientific Research Projects Coordination Unit at Kafkas University within the scope of project number 2017-FM-30. This article is derived from the master's thesis.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. FAO, 1993. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and a WHO Expert Group on Pesticide Residues. Geneva, FAO Plant Production and Protection Paper, 122.
2. Akdoğan A., 2011. Bazı pestisitlerin kromatografik ayrılmaları ve tayinleri. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya Anabilim Dalı, Türkiye.
3. Zahm HS., Ward HM., 1998. Pesticides and childhood cancer. Occupational epidemiology branch, division of cancer etiology, national cancer institute, Rockville, Maryland. Environ Health Perspect, 106, 893-908.
4. Kocaman AY., 2007. Acetamiprid ve alfa-cypermethrin pestisidlerinin tek başına ve karışım halinde kullanıldıkları zaman insan periferik lenfositlerindeki in vitro genotoksik etkileri. Çukurova Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Türkiye.
5. Sheets LP., Lib AA., Minnema DJ., Collier RH., Creeke MR., Peffer RC., 2016. A critical review of neonicotinoid insecticides for developmental neurotoxicity. Crit Rev Toxicol, 46, 153-190.
6. Quintana MM., Rivero Osmani V., Magnarelli G., Rovedatti MG., Guinazu N., 2018. The insecticides chlorpyrifos and acetamiprid induce redox imbalance in umbilical cord blood erythrocytes in vitro. Pestic Biochem Physiol,

- 148, 87-92.
7. Cepeda S., Forero Castro M., Cardenas-Nieto D., Martinez-Agüero M., Rondon-Lagos M., 2020. Chromosomal instability in farmers exposed to pesticides: high prevalence of clonal and non-clonal chromosomal alterations. *Risk Manag Healthc Policy*, 11, 97-110.
 8. Şenyıldız M., Kılınç A., Özden S., 2018. Investigation of the genotoxic and cytotoxic effects of widely used neonicotinoid insecticides in HepG2 and SH-SY5Y cells. *Toxicol Ind Health*, 34, 375-383.
 9. Sanchez-Bayo F., Tennekes HA., 2020. Time-cumulative toxicity of neonicotinoids: experimental evidence and implications for environmental risk assessments. *Int J Environ Res Public Health*, 17, 1629-1649.
 10. Casida J., Quistad GB., 2004. Why insecticides are more toxic to insect than people: the unique toxicology of insects. *J Pestic Sci*, 29, 81-86.
 11. De Lima E Silva C., De Rooij V., Verweij RA., Van Gestel CAM., 2020. Toxicity in neonicotinoids to *folsima candida* and *eisenia and andreii*. *Environ Toxicol Chem*, 39, 548-555.
 12. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO), 2009. The WHO recommended classification of pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, World Health Organization Programme on Chemical Safety, Geneva, Switzerland.
 13. Environmental Protection Agency (EPA), 2003. Pesticides-fact sheet for clothianidin; pesticide tolerance, federal register. Environmental Protection Agency (EPA), Pesticides–Fact Sheet for Thiacloprid, 68, 32390-32400.
 14. Çavaş T., Çinkılıç N., Vatan Ö., Yılmaz D., Çoşkun M., 2012. In vitro genotoxicity evaluation of acetamiprid in Caco-2 Cells using the micronucleus, comet and γH2ax foci assays. *Pestic Biochem Physiol*, 104, 212-217.
 15. Kocaman AY., Topaktaş M., 2007. In vitro evaluation of the genotoxicity of acetamiprid in human peripheral blood lymphocytes. *Environ Mol Mutagen*, 48, 483-490.
 16. Göç Rastgele P., 2017. Assessment of the combined effects of acetamiprid and propineb in vivo. *Iğdir Univ. J Ins Sci Tech*, 7, 79-86.
 17. Kocaman AY., Topaktas M., 2010. Genotoxic effects of a particular mixture of acetamiprid and alpha-cypermethrin on chromosome aberration, sister chromatid exchange, and micronucleus formation in human peripheral blood lymphocytes. *Environ Toxicol*, 25, 157-168.
 18. Bansal M., Chaudhry A., 2011. Evaluation of mutagenic potential of acetamiprid by dominant lethal test on *Culex quinquefasciatus*. *J Appl Nat Sci*, 3, 171-175.
 19. Bagri P., Kumar V., Sikka AK., 2016. Assessment of imidacloprid-induced mutagenic effects in somatic cells of Swiss albino male mice. *Drug Chem Toxicol*, 39, 412-417.
 20. Preston RJ., Dean BJ., Galloway S., Holden H., McFee AF., Shelby M., 1987. Mammalian in vivo cytogenetic assays analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. *J Mutat Res*, 189, 157-165.
 21. Darwish IAEM., Mosallam SAER., 2019. Chromosome aberrations in bone marrow cells of rats treated with MTBE. *Pak. J. Pharm. Sci*, 32, 89-93.
 22. Schmid W., 1975. The micronucleus test. *J Mutat Res*, 31, 9-15.
 23. Nallani GC., Liu Z., Chandrasekaran A., 2020. Toxicokinetic testing strategies to demonstrate bone marrow exposure in in vivo micronucleus study for genotoxicity assessment of agrochemicals. *Reg Toxicol Pharmacol*, 110, 1045-1052.
 24. Klauning JE., 1991. Alterations in intracellular communication during the stage of promotion. *Exp Biol Med*, 198, 688-692.
 25. Scassellati SG., Moretti M., Villarini M., Angeli G, Pasquini R., Monarca S., Scarselli R., Crea M.G., Leonardis C., 1994. An evaluation of toxic and genotoxic risk from work related exposure to chemical compounds. *Prevenzione Oggi*, 6, 125-

- 138.
26. Banerjee BD., Seth V., Bhattacharya A., Pahsa ST., Chakraborty AK., 1999. Effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol Lett*, 107, 33-47.
27. Kayis T., Altun M., Coskun M., 2019. Thiamethoxam-mediated alteration in multi-biomarkers of a model organism, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Environ Sci Pollut Res Int*, 26, 36623-36633.
28. Yao XH., MIN H., LV ZM., 2006. Response of superoxide dismutase, catalase, and ATPase activity in bacteria exposed to acetamiprid. *Biomed Environ Sci*, 19, 309-314.
29. Halliwell B., Gutteridge JMC., 1999. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed., 968-974, Oxford University press, New York.
30. Aruoma OI., 1998. Free radicals, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc*, 75, 199-212.
31. Gokalp Muranli FD., Göç Rasgele P., Kekecoglu M., Kanev M., Ozdemir K., 2015. Potential genotoxicity of acetamiprid and propineb singly or in combination in cultured human peripheral blood lymphocytes by using mn assay. *Fresen Environ Bull*, 24, 3947-3955.
32. Environmental Protection Agency (EPA), 2004. Acetamiprid; notice of filing a pesticide petition to establish a tolerance for a certain pesticide chemical in or on food. In Notice, 47145-47149.
33. Kocaman AY., Topaktaş M., 2010. Genotoxic effects of a particular mixture of acetamiprid and a-cypermethrin on chromosome aberration, sister chromatid exchange, and micronucleus formation in human peripheral blood lymphocytes. *Environ Toxicol*, 25, 157-168.
34. Gokalp Muranli FD., Goc Rasgele P., Kekecoglu M., Kanev M., Ozdemir K., 2005. Potential genotoxicity of acetamiprid and propineb singly or in combination in cultured human peripheral blood lymphocytes by using mn assay. *Fresen Environ Bull*, 24, 3947-3955.
35. Çavaş T., Çinkılıç N., Vatan Ö., Yılmaz D., 2014. Effects of fullereneol nanoparticles on acetamiprid induced cytotoxicity and genotoxicity in cultured human lung fibroblasts. *Pestic Biochem Physiol*, 114, 1-7.
36. Bagri P., Jain SK., 2019. Assessment of acetamiprid-induced genotoxic effects in bone marrow cells of swiss albino male mice. *Drug Chem Toxicol*, 42, 357-363.
37. Bansal M., Kaur G., Chaudhry A., 2012. Pesticides effect on genetic components: a genotoxic study on *Culex quinquefasciatus* by applying dominant lethal test. *Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res*, 2, 685-690.
38. Rust MK., Saran RK., 2008. Toxicity repellency and effects of acetamiprid on western subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *J Econ Entomol*, 101, 1360-1366.



Wistar Albino Sıçanlarda *Michauxia campanuloides* L'Hér.'in Bazı Sperma Parametreleri Üzerine Etkisi

Recep Hakkı KOCA^{1a}, Muhammed Mesud HÜRKUL^{2b}, Serdal KURT^{3c✉},
Ayşegül KÖROĞLU^{2,4d}

1. Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Bingöl, TÜRKİYE.
 2. Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Ankara, TÜRKİYE.
 3. Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE.
 4. Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik ABD, Afyonkarahisar, TÜRKİYE.
- ORCID: 0000-0002-1740-8016^a, 0000-0002-9241-2496^b, 0000-0002-0191-3245^c, 0000-0002-8450-1376^d

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
08.03.2020	27.05.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Koca RH, Hürkul MM, Kurt S, Köroğlu A: Wistar Albino Sıçanlarda *Michauxia campanuloides* L'Hér.'in Bazı Sperma Parametreleri Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 138-144, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.700491

Öz: Bu çalışmanın amacı sıçanlarda *Michauxia campanuloides* L'Hér. kullanımının bazı sperma parametreleri üzerine etkisini araştırmaktır. Sunulan çalışmanın bitki materyali antioksidan özellikli *Michauxia campanuloides* L'Hér.'dir. Çalışmanın hayvan materyalini 18 adet erkek Wistar albino sıçan oluşturmuştur. Sıçanlar kontrol (K; n=6), uygulama 1 (U1; n=6) ve uygulama 2 (U2; n=6) olmak üzere üç gruba ayrılmış ve *M. campanuloides* L'Hér.'in liyofilize sulu ekstresi U1 grubundaki sıçanlara 20 mg/kg ve U2 grubundaki sıçanlara 40 mg/kg dozunda 21 gün süreyle oral yolla günlük uygulandı. Çalışma sonunda tüm sıçanlar kan serumu total antioksidan kapasitesi (TAK), sperma yoğunluğu, sperma motilitesi, anormal spermatozoon oranı ile testis, epididimis, seminal bez ve ventral prostat ağırlığı yönünden muayene edildi. Sperma yoğunluğu K ve U1 gruplarına göre U2 grubunda anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu (P=0,002). Anormal spermatozoon oranının K grubuna göre U1 ve U2 grubunda anlamlı düzeyde daha düşük olduğu tespit edildi (P=0,003). Seminal bez ağırlığı K grubuna göre U1 ve U2 gruplarında istatistiksel olarak daha yüksek ölçüldü (P=0,016). Sonuç olarak, *M. campanuloides* ekstresinin oral tüketimi sıçanlarda sperma kalitesinde bir artış sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, *Michauxia campanuloides*, Sıçan, Sperma parametreleri.

The effect of *Michauxia campanuloides* L'Hér. on Some Semen Parameters in Wistar Albino Rats

Abstract: The aim of this study was to investigate the effect of *Michauxia campanuloides* L'Hér. on some semen parameters in rats. The plant material of the study is *Michauxia campanuloides* L'Hér. having antioxidant property. The animal material of the study consisted of 18 male Wistar albino rats. The rats were divided into three groups as control (C; n=6), treatment 1 (T1; n=6) and treatment 2 (T2; n=6). Lyophilized aqueous extract of *M. campanuloides* L'Hér. was administered orally at a dose of 20 mg/kg/day for rats in the T1 group and 40 mg/kg/day for rats in the T2 group for 21 days. At the end of the study, all rats were examined for blood total antioxidant capacity (TAC), semen density, semen motility, abnormal spermatozoon ratio along with testicular, epididymal, seminal gland and ventral prostate weight. Semen density was significantly higher in the T2 group compared to the C and T1 groups (P=0.002). Rates of abnormal spermatozoa were significantly lower in T1 and T2 groups than the C group (P=0.003). The weight of seminal gland was significantly higher in the T1 and T2 groups compared to the C group (P=0.016). In conclusion, oral consumption of *M. campanuloides* extract provides an increase in semen quality in rats.

Keywords: Antioxidant, *Michauxia campanuloides*, Rat, Semen parameters.

✉ Serdal Kurt

Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE.
e-posta: serdal.kurt@dicle.edu.tr

GİRİŞ

Spermatogenezis sürecini etkileyerek sperma kalitesini ve üretimini azaltan birçok faktör vardır. Spermatozoon anomalilerine yol açan en önemli etkenlerden biri antioksidan seviyesindeki yetersizliktir (1). Antioksidan maddeler fizyolojik işleyişinin doğal bir yan ürünü olarak ortaya çıkan reaktif oksijen türlerini (ROS) onararak ya da nötralize ederek, onların hücrelerde lipid, protein ve deoksiribonükleik asit (DNA) hasarı oluşturmalarını engeller (2). Ancak açığa çıkan ROS'lar antioksidanların savunma kapasitesini aşarsa oksidatif stres oluşur (3,4). Spermatozoonların hücre zarları büyük miktarda doymamış yağ asidi içerir ve sitoplazmalarında ROS'u nötralize edebilen enzimlerin oranı çok düşüktür (5). Bu nedenle spermatozoonlar ROS'ların oksidatif hasarına karşı savunmasızdır (6,7). Oksidatif stres durumunda spermatozoada meydana gelen hücre hasarı ve apoptozis gibi patolojik oluşumlara bağlı fertilité sorunları oluşabilmektedir (5). Ayrıca erkek üreme sisteminde çok önemli rolleri olan Leydig hücrelerinin oksidan maddelere karşı oldukça hassas olduğu bilinmektedir. Antioksidan kullanımının ise Leydig hücrelerinin stereojenik aktivitelerini artırarak testosteron üretimini iyileştirdiği tespit edilmiştir (8). Bununla birlikte antioksidan madde takviyeleri spermatogenezisi stimüle etmektedir (9).

Antioksidan maddeler vücutta eksojen ve endojen yolla temin edilirler (10). Glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidanlar endojen olarak sentezlenebilirken (11) karotenoidler, E vitamini, C vitamini, bakır, demir, mangan, çinko ve selenyum gibi eksojen antioksidanlar sentetik olarak ya da diyetlerle doğal yolla dışarıdan alınmaktadır (12). Ancak birçok sentetik antioksidan bileşiğin toksik ve mutajenik etkiler gösterebilmelerinden dolayı bitkisel (doğal) antioksidanların önemi ön plana çıkmaktadır (13). Doğal yollarla yetişen seksüel uyarım özelliği olan ve antioksidan kaynaklı birçok bitki vardır (1). *M. campanuloides*'in fenolik bileşikli antioksidan özelliği

ile bu grubunun bir üyesi olduğu bilinmektedir (14). *Michauxia* L'Her., cinsi Türkiye'de *M. campanuloides* L'Her., *M. laevigata* Vent., *M. tchihatchewii* Fisch. et Mey., *M. nuda* A. DC., ve *M. thyrsoides* Boiss. & Heldr. olmak üzere 5 türden oluşmaktadır (15). *M. campanuloides* halk arasında "keçibiciği" adıyla bilinmekte olup Mersin'in dağ köylerinde taze halde kökü ve gövdesi pişirilerek yenilen bir bitkidir. Ayrıca, geleneksel olarak Kahramanmaraş bölgesinde taze yapraklarının doğrudan yara üzerine uygulamak suretiyle yara iyileştirici olarak kullanıldığı bilinmektedir (14,15). Daha önce yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda türün antioksidan, yara iyileştirici ve antienflamatuvar özelliğinin olduğu gösterilmiştir (15). Fakat, bu bitkinin sperma üzerine etkisi ile ilgili daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışma, wistar albino erkek sıçanlarda *M. Campanuloides* bitkisinden hazırlanan sulu ekstrenin, oral yolla kullanımının total antioksidan kapasitesi (TAK) ve motilite, yoğunluk ve anormal spermatozoon oranı gibi bazı sperma parametreleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapıldı.

MATERYAL ve METOT

Sunulan çalışmanın bitki materyali *M. campanuloides* L'Hér. Mersin (Türkiye)'den toplandı ve AEF 25892 kodu ile Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryum'una kaydedildi. Uygun koşullarda kurutulmuş bitki materyali toz haline getirildi. Daha sonra 100 g toz halindeki bitki 30 dakika süreyle 500 ml distile su ile kaynatılıp süzüldü ve liyofilize edildi. Bu işlemler sonucunda, 12 g liyofilize bitki ekstresi elde edildi. Bu çalışmanın hayvan materyalini, 8 haftalık yaşta, ortalama ağırlıkları 200 gr olan 18 adet erkek Wistar albino sıçan oluşturdu. Sıçanlar Bingöl Üniversitesi Etik Kurulu onayı (etik kurulu numarası: 2019/02-01/04) ile Bingöl Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Hayvanlar Avrupa Etik Topluluğu Kuralları'na uygun olarak bakıldı ve rutin

olarak 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ortamda, 23 °C sıcaklıkta ve sabit nemde barındırılmaları sağlandı. Sıçanlar suya ve yeme serbest erişim ile standart bir pelet diyetle beslenildi. Hayvanların beslenmesinde kullanılan yemin analitik bileşenleri, vitamin ve iz element içerikleri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: Ticari yemin içeriği (%100 kuru madde bazında).

Table 1: Content of commercial food (100 % dry matter basis).

Analitik Bileşenler	
Nem	%12.80
Ham protein	%23.00
Ham yağ	%3.00
Ham selüloz	%6.50
Ham kül	%7.80
Sodyum	%0.42
Vitamin ve İz Elementler	
Vitamin A	12.000.000 IU/kg
Manganez (Mangan sülfat)	145.07 mg/kg
Demir (Demir sülfat monohidrat)	375.43 mg/kg
Çinko (Çinko oksit)	161.05 mg/kg
Bakır (Bakır sülfat pentahidrat)	33.59 mg/kg
Kobalt (Kobalt karbonat)	0.41 mg/kg
Selenyum (Sodyum selenit)	1.07 mg/kg
İyot (Kalsiyum iodat anhidrit)	2.00 mg/kg

Çalışma Planı

Çalışmada kullanılan sıçanlar kontrol (K; n=6), uygulama 1 (U1; n=6) ve uygulama 2 (U2; n=6) olmak üzere rastgele üç gruba ayrıldı. Daha sonra sıçanlar tartılarak 1 hafta süreyle herhangi bir uygulama yapılmadan adaptasyona tabi tutuldu. *M. campanuloides*'in sulu ekstresi U1 grubundaki sıçanlara 20 mg/kg ve U2 grubundaki sıçanlara 40 mg/kg dozda 21 gün süreyle, sonda yardımıyla oral yolla günlük 1 ml hacimde uygulandı. K grubundaki sıçanlara ise uygulama grupları ile benzer hacimde ve şekilde distile su uygulandı. Çalışmanın sonunda tüm sıçanlar kas içi 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin uygulaması ile anestezide alınarak kuyruk venalarından pıhtı aktivatörü (Hema & Tube®) içeren vakumlu tüplere 2 ml hacminde kan örnekleri toplandı ve sakrifiye edildi. Alınan kan örnekleri 10 dakika boyunca 1.500 x g'de santrifüj edildi ve

çıkarılan serum örnekleri TAK analizine kadar -80 °C'de saklandı.

Bütün sıçanlara median bölge ensizyonu yapılarak testisler, epididimiler, seminal bezler ve ventral prostat tamamen alındı. Bu işlemin hemen ardından üreme organları tartıldı.

Total Antioksidan Kapasitenin Ölçülmesi (TAK)

Sıçanların serum TAK seviyeleri, ticari kitler (LOT: OK18095A, Rel Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak otoanalizör ile ölçüldü.

Spermatolojik Muayeneler

Epididimal Spermatozoon Yoğunluğu

Sağ epididimis petri kutusu içerisindeki 1 ml fizyolojik tuzlu suda (%0.9'luk NaCl) parçalandı. İki dakika boyunca bu parçacıklar bir pensle iyice ezildi. Sonra epididimal dokudakibütün spermatozoonları sıvı ortama geçmesi için oda sıcaklığında 4 saat inkubasyona bırakıldı. Bekleme süresini takiben spermatozoon ihtiva eden karışım, alyuvar pipetinin 0.5 çizgisine kadar çekildi. Daha sonra eozin çözeltisi (5 g sodyum bikarbonat, 1 ml formalin, 25 mg eozin ve 100 ml distile su) 101 çizgisine kadar çekilerek karışım 1:200 oranında seyreltildi. Yaklaşık 10 µl sulandırılmış sperma önceden lamel yapıştırılmış Thoma lamininin (0.1 mm derinlik, 0.0025 mm²lik alan) her iki sayım alanına aktarıldı. Thoma lamı ışık mikroskobuna yerleştirilip 5 dakika beklenerek çözelti içerisindeki spermatozoonların tüm alana homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Her iki sayım alanındaki tüm karelere düşen spermatozoonlar ışık mikroskobunun 200'lük büyütmesinde sayıldı ve hesaplandı (16).

Spermatozoon Motilitesi

Mikroskobun ısıtma tablasına bir lam yerleştirilerek sıcaklığının 37 °C'ye ulaşması sağlandı. Daha sonra 200 µl Tris tampon çözeltisi [Tris (hidroksimetil) aminometan 3.63 g, glukoz 0.50 g, sitrik asit 1.99 g ve distile su 100 ml] ısıtma tablası üzerindeki lama damlatıldı. Sol kauda epididimisten kesit yapılarak alınan ve spermatozoon ihtiva eden 5-

10 µl'lik süspansiyon Tris tampon çözeltisi üzerine damlatıldı ve lamel yardımıyla karıştırılarak homojenize edildi. Işık mikroskopunun 400'lük büyütmesinde manuel olarak motilite yüzdesi belirlendi. Motilite tahminleri için sperma direkt olarak kauda epididimisten alındı. Bu amaçla sol kauda epididimisten alınan bir damla süspansiyon için 3 farklı saha incelendi. Bu 3 farklı sahanın ortalama değerleri yüzde motilite oranı olarak hesaplandı (17).

Anormal Spermatozoon Oranı

Anormal spermatozoon oranını tayin etmek için motilite tayininde kullanılan Tris tampon-spermatozoon karışımından 20 µl alınarak önceden ısıtılmış (37 OC) bir lam üzerine damlatıldı. Bu karışım üzerine eozin-nigrozin boyasından (1.67 g eozin, 10 g nigrozin, 2.9 g sodyum sitrat, 100 ml distile su) 2 damla damlatıldı ve homojenize edildi. Daha sonra bu karışımdan ince frotiler çekilerek çok kısa sürede kuruması sağlandı, kurutma işleminden sonra frotiler ışık mikroskopunun 400'lük büyütmesinde incelendi ve bir frotide toplam 200 spermatozoon incelenip anormal spermatozoon oranı yüzde olarak ifade edildi (17).

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS paket programı (22.0, Chicago, IL, USA) kullanılarak yapıldı. Gruplarda bulunan hayvan sayısına bağlı olarak nonparametrik testlerle çalışıldı. Gruplar arası farkların anlamlılığını değerlendirmek için Kruskal Wallis varyans analiz testi kullanıldı. Anlamli bulunan varyans analiz sonuçları Mann Whitney U testi ile kıyaslandı. Veriler ortalama ± standart sapma (Ort.±S.s.) olarak verildi. İstatistiksel olarak anlamlılık değeri P<0.05 olarak kabul edildi.

BULGULAR ve TARTIŞMA

TAK seviyeleri yönünden K, U1 ve U2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Bütün gurupların testis, epididimis, kauda epididimis ve ventral prostat ağırlıklarında istatistiksel olarak fark bulunmadı. Sperma yoğunluğu K ve U1 gruplarında benzer bulunurken, U2 grubunda anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu (P=0.002). Anormal spermatozoon oranının K grubuna göre U1 ve U2 grubunda anlamlı düzeyde daha düşük olduğu tespit edildi (P=0.003). Ancak, anormal spermatozoon oranı bakımından U1 ve U2 grupları arasında fark saptanmadı. Seminal bez ağırlığı, K grubuna göre U1 ve U2 gruplarında istatistiksel olarak daha yüksek bulunurken (P=0.016) U1 ve U2 grupları arasında bu değerin benzer olduğu görüldü (Tablo 2).

Tablo 2: K, U1 ve U2 gruplarının serum total antioksidan kapasitesi ve sperma parametreleri bulguları.
Table 2: Serum total antioxidant capacity and semen parameters findings of K, T1 and T2 groups.

Parametreler	K (n=6; Ort.±S.s.)	U1 (n=6; Ort.±S.s.)	U2 (n=6; Ort.±S.s.)
TAK (mmol/L)	0.41±0.13	0.39±0.15	0.57±0.99
Motilite (%)	61.33±14.72	59.00±13.46	74.83±7.57
Yoğunluk (milyon/sağ kauda epididimis)	87.00±15.27 ^{b*}	96.67±11.08 ^{b*}	149.33±23.89 ^{a*}
Anormal spermatozoon oranı (%)	24.33±5.99 ^{b**}	12.50±3.15 ^{a**}	14.83±3.19 ^{a**}
Sağ testis ağırlığı (gr)	1.39±0.16	1.49±0.09	1.49±0.10
Sol testis ağırlığı (gr)	1.43±0.17	1.53±0.08	1.55±0.10
Sağ epididimis ağırlığı (gr)	0.85±0.23	0.68±0.07	0.60±0.08
Sol epididimis ağırlığı (gr)	0.78±0.22	0.63±0.06	0.63±0.07
Kauda epididimis ağırlığı (gr)	0.26±0.03	0.26±0.02	0.26±0.05
Seminal bez ağırlığı (gr)	1.27±0.25 ^{b***}	1.74±0.30 ^{a***}	1.66±0.17 ^{a***}
Ventral Prostat ağırlığı (gr)	0.68±0.44	0.52±0.19	0.76±0.10

*P=0.002, **P=0.003 ve ***P=0.016, a,b: Farklı harfler gruplar arasındaki farkın önemli olduğunu göstermektedir (P<0.05), TAK: Total antioksidan kapasitesi, K: Kontrol, U1: Uygulama 1, U2: Uygulama 2.

Bitki materyalleri, antik çağlardan beri tıbbi alanda önemli bir rol oynamaktadır. Bitkisel ürünlerin ilaç çalışmalarının temel iki kaynağından birini oluşturduğu ve tüm modern kimyasal ilaçların %50'den fazlasının doğal bitki kaynaklı olduğu bilinen bir gerçektir (18). Belirli bitkilerin spermatogenezisi uyardığı ve infertilite tedavilerinde kullanıldığı bilinmektedir (19). Asif (20), doğal antioksidanların potansiyel kaynaklarının bitkiler olduğunu bildirmiştir. Zhong ve Zhou (21), oksidan maddelerin reproduktif sistem üzerine zararlı etkilerinden korunmada bitkisel kaynaklı antioksidanların kullanılabilirliğini ve doğal antioksidanların önemini vurgulamıştır. Bitkilerde antioksidan aktiviteden sorumlu olan en önemli bileşiklerin fenolik yapıda olduğu bilinmektedir (22). Sunulan çalışmada kullanılan *M. campanuloides* ekstresinin, antioksidan içeriği daha önce yürütülmüş bir çalışmada doğrulanmıştır. *M. campanuloides*'in sulu ekstresinin total fenolik madde içeriğinin 107.3 ± 1 mg/g olduğu kaydedilmiştir. Aynı zamanda, antioksidan aktivite için tiobarbitürik asit (TBA) testinde sulu ekstrenin yarı-maksimum inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}) değeri 464.98 ± 2.21 mg/ml olarak ölçülmüştür. Bununla birlikte, en yüksek antioksidan içeriği etanolik ekstrede ölçülürken antioksidan aktivitesi yönünden IC_{50} değerinin *n*-butanol fraksiyonunda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (15). Bu çalışmada, diğer ekstrelerin hazırlanmasında kullanılan çözücülerin eser miktarda da olsa ekstrede kalabileceği düşüncesinden hareketle toksik etkili olabileceği ve geleneksel kullanımda sulu ekstrelerin tercih edilmesi nedeniyle sunulan çalışmada sulu ekstrenin kullanılması tercih edilmiştir. Zhong ve Zhou (21), bitkisel kaynaklı antioksidanların oksidan maddelerin reproduktif organlar üzerindeki olumsuz etkilerini azaltarak reproduktif parametrelerde iyileşme sağladığını bildirmiştir. Razavi ve ark. (23), ılımlı düzeylerdeki ROS'ların spermatozoonların kapasitasyonu, akrozomal reaksiyonları gibi fizyolojik işlevleri için gerekli olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak aşırı düzeydeki oksidan maddeler, spermatozoonlarda yapısal sorunlar oluşturmakta ve

hücre içi ATP mekanizmasını bozarak ölümüne neden olabilmektedir (21). Antioksidanların reproduktif sistem üzerine pozitif etkilerinin steroid üretimini artırmasıyla da ilgili olabileceği düşünülmektedir (8). Ancak bu çalışmada uygulanan tedavinin steroidogenezis üzerine etkisi değerlendirilmemiştir. Yürütülmüş birkaç çalışmada antioksidan özellikli bazı bitkilerin sıçanlarda serum TAK seviyesini artırdığı bildirilmiştir (1,9,24). Ancak bizim çalışmamızda antioksidan içerikli bitki kullanılmasına rağmen serum TAK seviyelerinin kontrol ve uygulama grupları arasında benzer olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun her iki uygulama grubunda da uygulama dozundan ve sıklığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Testislerde spermatogenezis olayı sırasında spermatozoon proliferasyonunun çok hızlı olmasına bağlı olarak, mitokondrial oksijen kullanımının artması ROS üretimini ve antioksidan kullanımını artırmaktadır (8). Bu çalışmada K grubuna göre U2 grubunun sperma yoğunluğu dikkate alındığında uygulanan antioksidan maddenin U2 grubunda hedeflenen başarıyı sağladığı görülmektedir. Ayrıca U2 grubunda artan spermatogenezisle birlikte, testislerde antioksidanların yoğun şekilde kullanılarak metabolize edildiği ve böylece TAK'ın kanda anlamlı bir artış sağlayamadığı düşünülmektedir. Bazı araştırmacılar çalışmalarında kullandıkları antioksidan içerikli bitkilerin sıçanların testis (9,24) ve epididimis ağırlığına etki etmediğini gözlemlemişlerdir (25). Benzer olarak, bu çalışmadaki uygulamanın erkek üreme sisteminin testis, epididimis ve ventral prostat dâhilindeki organlarının ağırlığına etki etmediği ancak seminal bez ağırlığını önemli düzeyde artırdığı tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Erkek üreme organları içerisinde seminal bez eşsiz bir antioksidan düzenleme özelliğine sahiptir (26) ve antioksidan tedavisi ile fonksiyonlarının artarak fiziksel değişim gösterdiği düşünülmektedir. Aynı zamanda U2 grubunda sperma yoğunluğundaki artışla doğru orantılı olarak, seminal salgının arttığı ve dolayısı ile bu durumun seminal ağırlığı etkilediği öngörülmektedir. Patil ve ark. (27) ile Gonzales ve ark. (28) çalışmalarında kullanılan antioksidan

özelliği doğal bitkilerin spermatogenik aktivitesinin olduğu görülmektedir. Bununla birlikte birçok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalarda, antioksidan içerikli bitkilerin sıçanlarda spermatozoon yoğunluğu, motilitesi ve yaşama gücü parametreleri dahilinde spermatogenezis üzerine olumlu etkilerinin olduğu belirlenmiştir (1,9,24). Bu çalışmada da benzer şekilde, *M. campanuloides* ekstresinin U2 grubunda sperma yoğunluğunu artırıp U1 ve U2 grubunda anormal spermatozoon oranını düşürerek sperma kalitesini pozitif etkilediği sonucuna varılmıştır. Ancak, yukarıda bahsedilen çalışmaların aksine spermatozoon motilitesinde anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür. Öte yandan motilite yüzdesinin etkilenmemiş olmasına rağmen, K grubuna göre U2 grubunda sperma yoğunluğunun ortalama 1.7 kat artmış olması, motil spermatozoon toplam sayısını da artırdığı anlamına gelmektedir. Bununla birlikte U1 grubunda kullanılan antioksidan madde düzeyinin, sperma kalitesini etkileyecek düzeyde olmadığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak, antioksidan kaynaklı doğal bitkiler tıbbi amaçla sağlığı korumak veya yeniden kazanmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Wistar albino erkek sıçanlara antioksidan potansiyeli bilinen *M. campanuloides*'nin sulu ekstresinin oral yolla uygulanması sonucu sperma kalitesini arttırdığı tespit edilmiştir. *M. campanuloides* üzerinde yürütülmüş çalışmalar göz önüne alındığı zaman, bu türün daha ileri çalışmalarla farmakolojik ve toksikolojik testlerinin yapıp standardizasyonu sağlandıktan sonra bitkisel ilaç adayı olarak önerilebileceği düşünülmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Khaki A., Fathi AF., Ahmadi AHR., Rastgar H., Rezazadeh SA., 2009. Effects of *danae racemosa* on spermatogenesis in Rat. *J Med Plants*, 3, 87-92.
2. Rizzo A., Roscino MT., Binetti F., Sciorsci RL., 2012. Roles of reactive oxygen species in female reproduction. *Reprod Domest Anim*, 47, 344-352.
3. Sukhotnik I., Nativ O., Ben-Shahar Y., Bejar IN., Pollak Y., Coran AG., Gorenberg M., 2019. Antioxidant treatment ameliorates germ cell apoptosis induced by a high-dose ionizing irradiation in rats. *Pediatr Surg Int*, 35, 137-143.
4. Aitken RJ., 2020. Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. *Reproduction*, 159, 189-201.
5. Walczak-Jedrzejowska R., Wolski JK., Slowikowska-Hilczek J., 2013. The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility. *Cent European J Urol*, 66, 60-67.
6. Benabbou A., Khaled MB., Alchalabi AS., 2018. Evaluation of the efficiency of combined and separated antioxidant supplementation of vitamin C and E on semen parameters in streptozotocin-induced diabetic male Wistar rats. *SAJEB*, 7, 166-72.
7. Zhang K., Fu L., An Q., Hu W., Liu J., Tang X., Gu Y., 2020. Effects of Qilin pills on spermatogenesis, reproductive hormones, oxidative stress, and the TSSK2 gene in a rat model of oligoasthenospermia. *BMC Comp Med Ther*, 20, 1-11.
8. Aitken RJ., Roman SD., 2008. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Omcl*, 1, 15-24.
9. Javadi L., Farzadi L., Fathiazad F., Nouri M., 2011. Anti-oxidative effects of citro flavonoids on spermatogenesis in rat. *Afr J Pharm Pharmacol*, 5, 721-725.
10. Neha K., Haider MR., Pathak A., Yar MS., 2019. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *Eur J Med Chem*, 178, 687-704.
11. Mironczuk-Chodakowska I., Witkowska AM., Zujko ME., 2018. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. *Adv med sci*, 63, 68-78.
12. Sen S., Chakraborty R., 2011. The role of antioxidants in human health. *Oxidative stress:*

- diagnostics, prevention and therapy. ACS Publications, 1, 1-37.
13. Sen S., Chakraborty R., Sridhar C., Reddy YSR., De B., 2010. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *Int J Pharm Sci Rev Res*, 3, 91-100.
 14. Hürkul MM., Köroğlu A., 2019. *Campanulaceae* familyasının etnobotanik kullanımı, kimyasal içeriği ve biyolojik aktivitesi üzerine bir derleme. *Türk Far. Derg*, 4, 70-84.
 15. Güvenç A., Akkol EK., Hürkul MM., Süntar İ., Keleş H., 2012. Wound healing and anti-inflammatory activities of the *Michauxia* L'Hérit (*Campanulaceae*) species native to Turkey. *J Ethnopharmacol*, 139 401-408.
 16. Yokoi K., Uthus EO., Nielsen FH., 2003. Nickel deficiency diminishes sperm quantity and movement in rats. *Biol Trace Elem Res*, 93, 141-153.
 17. Bearden HJ., Fuquay JW., 2000. Semen evaluation. In "Applied Animal Reproduction", Ed., HJ Bearden, JW Fuquay, ed., 168-182, Prentice Hall, New Jersey.
 18. Tejidos SECE., 2007. Toxic effects of methanolic extract of *Aspilia africana* leaf on the estrous cycle and uterine tissues of Wistar rats. *Int J Morphol*, 25, 609-614.
 19. Sadat SS., Mohammadi S., Sazegar G., Fazel A., Ebrahimzadeh A., Mobarhan MG., Tavallaei S., 2019. Effects of carob fruit extract on spermatogenesis, antioxidant status, and apoptosis in adult male mice. *Pharm Sci*, 25, 184-189.
 20. Asif M., 2015. Chemistry and antioxidant activity of plants containing some phenolic compounds. *Chem Int*, 1, 35-52.
 21. Zhong RZ., Zhou DW., 2013. Oxidative stress and role of natural plant derived antioxidants in animal reproduction. *J Integr Agric*, 12, 1826-1838.
 22. Kaurinovic B., Vastag D., 2019. Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants. In "Antioxidants", Ed., E Shalaby, 2-20, Intech Open, London.
 23. Razavi SR., Khadivi F., Hashemi F., Bakhtiari A., 2019. Effect of zinc on spermatogenesis and sperm chromatin condensation in bleomycin, etoposide, cisplatin treated rats. *Cell Journal*, 20, 521-526.
 24. Khaki A., Ouladsahebmadarek E., Javadi L., Farzadi L., Fathiazad F., Nouri M., 2011. Antioxidative effects of citro flavonoids on spermatogenesis in rat. *Afr J Pharm*, 5, 721-725.
 25. Amin A., Hamza AA., 2006. Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *AJA*, 8, 607-612.
 26. Zubkova EV., Robaire B., 2004. Effect of glutathione depletion on antioxidant enzymes in the epididymis, seminal vesicles, and liver and on spermatozoa motility in the aging brown Norway rat. *Biol reprod*, 71, 1002-1008.
 27. Patil RB., Vora SR., Pillai MM., 2012. Protective effect of Spermatogenic activity of *Withania somnifera* (Ashwagandha) in galactose stressed mice. *Ann Biol Res*, 3, 4159-4165.
 28. Gonzales GF., Vasquez VB., Gasco M., 2013. The transillumination technique as a method for the assessment of spermatogenesis using medicinal plants: the effect of extracts of black maca (*Lepidium meyenii*) and camu camu (*Myrciaria dubia*) on stages of the spermatogenic cycle in male rats. *Toxicol Mech Methods*, 23, 559-565.



Normal ve Güç Doğum Yapan İneklerde Bazı Akut Faz Proteinlerinin ve Oksidatif Stres Düzeyinin Belirlenmesi*

Emrah BAYYİT^{1a}, Oğuz MERHAN^{2b}✉

1. Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars, TÜRKİYE.
2. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0002-1478-9087^a, 0000-0002-3399-0667^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
12.02.2020	07.06.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Bayyit E, Merhan O: Normal ve Güç Doğum Yapan İneklerde Bazı Akut Faz Proteinlerinin ve Oksidatif Stres Düzeyinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 145-150, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.688400

Öz: Çok farklı mekanizmalar içeren ve fizyolojik bir süreç olan gebelik, hayvanlarda birçok mekanizmayı etkilemesi nedeniyle, organizmada oluşan akut faz yanıtına bağlı olarak akut faz proteinleri (AFP) düzeylerinde artış veya azalışa neden olabilmektedir. Akut faz proteinleri sadece yangısal sürecin teşhis ve prognozunu belirlemek amacıyla değil, aynı zamanda gebelik, doğum, metabolik hastalıklar ve stres gibi yangısal olmayan durumların belirlenmesinde de kullanılabilir. Bu nedenle çalışmanın amacı normal ve güç doğum yapan ineklerde bazı AFP'lerin ve oksidatif stres düzeyinin belirlenmesidir. Çalışmada, 15 adet normal ve 15 adet ise güç doğum yapan Simental ırkı inek kullanıldı. Hayvanların *Vena jugularis*'inden doğum sonrası (3-48 saat arasında) alınan kanın bir miktarı antikoagulanlı tüplere, kalan kısmı ise antikoagulanlı tüplere konuldu. Yapılan analizler sonucunda güç doğum yapan ineklerde haptoglobin, seruloplazmin ve malondialdehidin arttığı, albümin ve redükte glutatyon konsantrasyonunun ise azaldığı belirlendi. Sonuç olarak, yoğun stres altında olan ve müdahale ile doğumu gerçekleşmiş ineklerde, akut faz yanıtının ve oksidatif stresin arttığı görülmüştür. Özellikle güç doğumlarda müdahale yapılan ineklerde enfeksiyon oluşumunu engellemek amacıyla yapılacak uygulamalara ek olarak meydana gelen oksidatif strese karşı antioksidan uygulamaların da faydalı olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Akut faz proteinleri, Güç doğum, İnek, Oksidatif stres.

Some Acute Phase Proteins and Oxidative Stress Level in Cows with Normal Parturition and Dystocia

Abstract: Pregnancy, which includes many different mechanisms and is a physiological process, may cause an increase or decrease in the levels of acute phase proteins (APP) due to the acute phase response occurring in the organism, since it affects many mechanisms in animals. Acute phase proteins can be used not only to determine the diagnosis and prognosis of the inflammatory process, but also to identify non-inflammatory conditions such as pregnancy, childbirth, metabolic diseases, and stress. The aim of this study was to determine some APP and oxidative stress levels in normal parturition and in cows with dystocia. For this purpose, 15 normal parturition and 15 cows with dystocia (Simental breed) were used in the study. Some of the blood collected from animals' *Vena jugularis* after birth (between 3-48 hours) was placed in tubes with anticoagulant, and the remainder in tubes without anticoagulation. As a result of the analysis, it was determined that haptoglobin, ceruloplasmine and malondialdehyde increased in cows with dystocia while albumin and reduced glutathione concentrations decreased. In conclusion, it was observed that the acute phase response and oxidative stress were increased in cows that were under intensive stress and obstetric intervention during dystocia. It was concluded that antioxidant applications against oxidative stress may be beneficial in addition to the applications to prevent infection in cows, especially in dystocia.

Keywords: Acute phase proteins, Cow, Dystocia, Oxidative stress.

✉ Oğuz Merhan

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars, TÜRKİYE.
e-posta: oguzmerhan@hotmail.com

* Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü aynı adlı Yüksek Lisans tez çalışmasından özetlenmiştir.

GİRİŞ

Sığır işletmeciliğinin temel amacı anne ve yavrunun sağlığını bozmadan yüksek düzeyde verim elde etmektir. Bu nedenle de doğumların yıl içinde planlanması, normal ve güç doğum olgularının kavramsal olarak tanımlanması, takip edilmesi, kaydedilmesi son derece önemlidir (1). Evcil hayvan türleri arasında güç doğum olguları en çok ineklerde görülmektedir. İneklerin pelvik kanal yapıları, fizyolojik ve metabolik durumları, yetiştirildikleri ortamın çevresel koşulları güç doğum olguları için predispozisyon oluşturmaktadır (2,3). Genel olarak tüm türlerde olduğu gibi ineklerde de güç doğumun genel sebepleri arasında; kalıtsal ve bireye özgü nedenler, çevresel koşullar, beslenme ve bakım koşulları, enfeksiyöz ve travmatik etkenler, kombine veya karışık faktörler şeklinde sıralanabilir (4,5). Karmaşık, fizyolojik bir süreç olan gebelik döllenenmeden, embriyonun uterusu yerleşmesine kadar ki süreçte akut faz yanıt oluşmakta ve akut faz reaksiyon sonucunda da akut faz proteinleri (AFP) karaciğerden sentezlenmektedir (6,7). Bu proteinlerin yüksek veya düşük düzeyde olması enfeksiyon, yangı, doku hasarı ve tümoral oluşumların tanısı ve prognozunda da büyük önem taşımaktadır (8). Bu nedenle çalışmadaki amacımız normal ve güç doğum yapan ineklerde bazı AFP ve oksidatif stres düzeylerinin belirlenmesidir.

MATERYAL ve METOT

Çalışma, Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK) Başkanlığının 2019/028 numaralı etik kurul onayı ile yapıldı. Çalışmanın hayvan materyalini Kars merkezde özel bir işletmede yetiştiriciliği yapılan, 3-5 yaşlı, en az bir doğum yapmış, klinik olarak sağlıklı 30 adet inek oluşturdu. Çalışmadaki biyokimyasal parametreler iklimsel, besinsel, çevresel faktörlerden kolayca etkilenebildiği için seçilen işletmede benzer zamanlarda 15 adet normal ve 15 adet güç doğum yapan Simental ırkı inek kullanıldı. Her türlü yardım gerektiren doğum olguları güç doğum olarak, hiç

yardım gereksizinden kendiliğinden doğum şekillenen olgular ise normal doğum olarak kabul edildi. İneklerin *Vena jugularis*'inden doğum sonrası (3-48 saat arasında) alınan kan örneklerinden bir miktarı antikoagulanlı tüplere (EDTA) tam kan olarak ayrıldıktan sonra, antikoagulansız tüplere alınan örnekler ise 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek serumları elde edildi. Serumlar analizler yapıncaya kadar -20 °C'de saklandı. Elde edilen serum örneklerinde haptoglobin, hemoglobin bağlama kapasitesi belirlenerek Skinner ve ark. (9), seruloplazmin, Colombo ve Richterich'in (10) tanımladığı p-fenilendiamin oksidaz aktivitesine dayanan kolorimetrik yöntemle, albümin ise ticari test kiti (Biolabo, Fransa) ile belirlendi. MDA ölçümü, tiyobarbitürik asit ile lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak üretilen MDA arasındaki reaksiyona dayanan Yoshiko ve ark. (11), tam kanda redükte glutatyon (GSH) ölçümü ise renkli ürünlere yol açan 5,5'-(2-ditiobis nitrobenzoik asit) kompleksleri oluşturan sülfidril (-SH) gruplarının reaksiyonuna dayanan Beutler ve ark. (12) bildirdikleri yöntemle standart grafikten hesaplanarak kolorimetrik olarak tayin edildi.

İstatistiksel Analiz

Çalışma verilerinin değerlendirilmesinde SPSS 20.0 paket programı kullanıldı. Grupların karşılaştırılmasında Independent Sample T-testi kullanıldı.

BULGULAR

Güç doğum yapan ineklerde pozitif AFP olan haptoglobin ve seruloplazmin düzeyi normal doğum yapanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artarken ($P<0.001$), negatif bir AFP olan albümin düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır ($P<0.05$). Güç doğum yapan ineklerde MDA düzeyi normal doğum yapanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artarken ($P<0.001$), GSH düzeyi ise istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır ($P<0.05$) (Tablo 1).

Tablo 1. Normal ve güç doğum yapan ineklerde akut faz protein ve oksidatif stres parametrelerinin ortalama ve standart hataları ($X \pm SEM$).

Table 1. Acute phase protein and oxidative stress parameters in normal parturition and in cows with dystocia. Data are presented as mean \pm standard error ($X \pm SEM$).

Parametreler	Normal Doğum	Güç Doğum	P Değeri
Haptoglobin (g/L)	0.176 \pm 0.007	0.842 \pm 0.013	P<0.001
Seruloplazmin (mg/dL)	15.68 \pm 0.83	24.14 \pm 1.02	P<0.001
Albümin (g/dL)	3.15 \pm 0.08	2.91 \pm 0.08	P<0.05
MDA (μ mol/L)	2.93 \pm 0.09	4.51 \pm 0.08	P<0.001
GSH (mg/dL)	73.21 \pm 1.19	64.34 \pm 2.98	P<0.05

MDA: Malondialdehit, GSH: Redükte glutatyon

TARTIŞMA ve SONUÇ

Çok farklı mekanizmalar içeren ve fizyolojik bir süreç olan gebelik, hayvanlarda birçok mekanizmayı etkilemesi nedeniyle organizmada oluşan akut faz yanıtı bağlı olarak AFP düzeylerinde artış veya azalışa neden olabilmektedir (13). Sığırlarda önemli bir AFP olan haptoglobin çok az düzeyde (<0.1 mg/mL) bulunmaktadır (14). Yapılan çalışmalarda haptoglobinin; brusella, tüberküloz, şap, *Toxocara vitulorum*, hipodermozis gibi bakteriyel, viral veya paraziter birçok hastalıkta konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (15-19).

Yangısal durumlara ek olarak, AFP gebelik gibi normal fizyolojik durumlarda da salınır. Georgieva ve ark. (20) yaptıkları bir çalışmada doğumdan önceki haptoglobin konsantrasyonlarının, normal doğum yapan koyunlarda 0.193 \pm 0.038 g/L, güç doğum yapan koyunlarda ise 0.558 \pm 0.119 g/L olarak, Scott ve ark. (21) yaptıkları başka bir çalışmada normal doğum yapan koyunlarda haptoglobin konsantrasyonunun 0.25 \pm 0.27 g/L ve güç doğum yapan koyunlarda ise 0.82 \pm 0.73 g/L olarak bildirmişlerdir. İlave olarak Aziz ve Taha (22), haptoglobin konsantrasyonlarını normal doğum yapan koyunlarda 0.266 \pm 0.027 g/L, güç doğum yapan koyunlarda ise 0.434 \pm 0.195 g/L olarak tespit etmişlerdir. Gebe ineklerde serum haptoglobin konsantrasyonu, muhtemelen kortizol ve steroid olmayan yağ asitleri tarafından ekspresyonunun düzenlenmesi nedeniyle özellikle de doğum yaklaşınca artmaktadır (23). Nazifi ve ark. (24) yaptıkları bir çalışmada, doğumu yaklaşan kurudaki ineklerde haptoglobin konsantrasyonunun

0.300 \pm 0.090 g/L, gebe ineklerde 0.220 \pm 0.030 g/L ve gebe olmayanlarda ise 0.080 \pm 0.060 g/L olduğunu bildirmişlerdir. Bufalolarda yapılan bir çalışmada (25), haptoglobin konsantrasyonunun doğumda ve doğumdan birkaç gün sonra hafif bir artış olduğunu ve doğum sırasında distorsiyon gösteren bufalolarda doğumdan 24 ve 48 saat sonra haptoglobin konsantrasyonlarında önemli derecede bir artış tespit edilmiştir.

Sığırlarda orta derecede öneme sahip olan seruloplazmin, enfeksiyon varlığının bir indikatörüdür (15,26). Seruloplazmin bakırla birlikte çeşitli enzim (sitokrom C oksidaz ve Cu-Zn süperoksit dismutaz) aktivitelerinin artması, fagositik hücrelerde antimikrobiyal gücün daha yüksek olmasını sağlama ve oksidatif zararlara karşı koruma gibi fonksiyonları bulunmaktadır (26). İneklerde özellikle meme enfeksiyonunun belirlenmesinde değerli bilgiler verdiği bildirilmektedir (27). Postpartum dönemde (3-5 hafta) klinik olarak sağlıklı olan ineklerde serum seruloplazmin düzeyinin 22.1 \pm 5.89 mg/dL olduğu bildirilmiştir (28).

Sığır (29) ve koyunlarda (30) yapılan çalışmalarda doğum esnasında oluşan fiziksel stres ve travmaya bağlı olarak seruloplazmin düzeyinin arttığı ve bu artışın uterus involusyonu ve bakteriyel kontaminasyondan kaynaklanabileceği bildirilmektedir. Çalışmamızda da güç doğum yapan ineklerde normal doğum yapan ineklere göre haptoglobin ve seruloplazmin konsantrasyonunda artış tespit edilmiş olup, muhtemelen bu artışın sebebi doğum esnasında oluşan travma ve fiziksel stres sonucunda

artabileceğini bildiren çalışmalara paralel (30,31) olarak, doğumdaki metabolik ve fizyolojik değişikliklere bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Negatif bir AFP olan albüminin, akut faz yanıt sırasında konsantrasyonunun azaldığı bildirilmiştir (32). Koyunlarda yapılan bir çalışmada (33), gebeliğin son günlerinde azalan albümin düzeyinin doğumdan sonraki 10. günde arttığı ve oluşan hipotalbümineminin nedeni olarak albümin sentezinin azalması veya tüketiminin artmasının olabileceği bildirilmiştir. Çalışmada da albümin düzeyi güç doğum yapanlarda normal doğum yapan gruba göre azalmış olup, bu durumun gelişen akut faz yanıtına bağlı olarak ve/veya hayvanda gelişen albümin tüketiminin artmasından ileri gelebileceği düşünülmektedir.

Yangı, enfeksiyon ve stres gibi durumlar oksidan/antioksidan arasındaki dengeyi bozarak serbest radikal artışına ve sonuç olarak da hücre membran yapısındaki molekülleri etkileyerek oksidatif hasara neden olurlar. Süt ineklerinde reaktif oksijen türlerinin üretimi ve güvenli atılımı arasındaki dengesizlik doğumla ilgili bozukluklara neden olabilir (34). Sığırlarda buzağılama öncesi kuru dönem ile buzağılama sonrası erken laktasyon döneminde yapılan bir çalışmada (35), ilk haftada total antioksidan kapasitenin en yüksek düzeye çıktığı ve daha sonra azaldığı bildirilmiştir.

Gebelikte artan metabolik aktivite, negatif enerji dengesi ve keton cisimciklerinin oluşumu, gebelik sırasında antioksidan rezervinin azalması ve gebe hayvanların laktasyona fizyolojik adaptasyonu nedeniyle artan serbest radikal üretimine neden olur (36). Yapılan bir çalışmada (37), güç doğumun sığırlarda MDA düzeyinde artışa antioksidan enzim seviyelerinde ise düşüşe neden olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada da güç doğum yapan ineklerde MDA düzeylerinin normal fizyolojik düzeylerden yüksek olduğu, GSH düzeylerinin ise güç doğum yapan ineklerde azaldığı tespit edildi. Muhtemelen nedeni,

artan metabolik aktivite, negatif enerji dengesi ve/veya doğumda oluşan strese bağlı olarak artan serbest radikal konsantrasyonunun neden olduğu lipid peroksidasyonu olabilir.

Sonuç olarak; yoğun stres altında olan ve müdahale ile doğumu gerçekleşmiş ineklerde, akut faz yanıtın ve oksidatif stresin arttığı görülmüştür. Özellikle güç doğumlarda müdahale yapılan ineklerde enfeksiyon oluşumunu engellemek amacıyla yapılacak uygulamalara ek olarak meydana gelen oksidatif strese karşı antioksidan uygulamaların da faydalı olabileceği kanısına varıldı. Bununla birlikte ineklerde güç doğumun önceden tahmin edilmesi içinde ilgili faktörlerin ölçümünün fayda sağlayabileceği ile ilgili yeni çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Mekonnen M., Moges N., 2016. Maternal dystocia in cows: a review. *EJBS*, 8, 91-100.
2. Apaydın AM., 2015. Güç Doğum. Alaçam E., ed. *Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite*. 8. Baskı, S: 205-222, Medisan Yayınevi, Ankara.
3. Juozaitiene V., Juozaitis A., Kardisauskas A., Zymantiene J., Zilaitis V., Antanaitis R., Ruzauskas M., 2017. Relationship between dystocia and the lactation number, stillbirth and mastitis prevalence in dairy cows. *Acta Vet Brno*, 86, 345-352.
4. Zaborski D., Proskura WS., Grzesiak W., Rozanska-Zawieja J., Sobek Z., 2019. The comparison between random forest and boosted trees for dystocia detection in dairy cows. *Comput Electron Agric*, 163, 1-9.
5. Barraclough RAC., Shaw DJ., Boyce R., Haskell MJ., Macrae AI., 2019. The behavior of dairy cattle in late gestation: effects of parity and dystocia. *J Dairy Sci*, 103, 714-722.
6. Chen L., Deng H., Cui H., Fang J., Zuo Z., Deng J.,

- Li Y., Wang X., Zhao L., 2018. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*, 9, 7204-7218.
7. Bitrus AA., Adam BM., Goni DM., Mshelia PA., Jalo IM., Mshelia IT., Fika II., 2017. The application of acute phase protein as biomarkers in bovine mastitis. *Direct Res J Vet Med Anim Sci*, 2, 1-7.
 8. Abdulkhaleq LA., Assi MA., Abdullah R., Zamri-Saad M., Taufiq-Yap YH., Hezme MNM., 2018. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Vet World*, 11, 627-635.
 9. Skinner JG., Brown RA., Roberts L., 1991. Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions. *Vet Rec*, 128, 147-149.
 10. Colombo JP., Richterich R., 1964. Zur bestimmung des caeruloplasmin im plasma (on the determination of ceruloplasmin in plasma). *Schweiz Med Wochenschr*, 94, 715-720.
 11. Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., Mori M., 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*, 135, 372-376.
 12. Beutler E., Duron O., Kelly BM., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, 61, 882-888.
 13. Petersen HH., Nielsen JP., Heegaard PMH., 2004. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet Res*, 35, 163-187.
 14. Eckersall PD., Conner JG., 1988. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet Res Commun*, 12, 169-178.
 15. Bozukluhan K., Merhan O., Büyük F., Çelebi Ö., Gökçe G., 2016. Determination of some acute phase proteins level in cattle with brucellosis. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 63, 13-16.
 16. Merhan O., Bozukluhan K., Çelebi Ö., Öğün M., Atakişi E., Büyük F., 2017. Levels of acute phase protein and some biochemical parameter in cattle infected with *Mycobacterium bovis*. *J Fac Vet Med Univ Erciyes*, 14, 101-105.
 17. Merhan O., Bozukluhan K., Kiziltepe S., Gokce HI., 2017. Investigation of levels of haptoglobin, serum amyloid A, ceruloplasmin and albumin in cattle with foot-and-mouth disease. *Isr J Vet Med*, 72, 14-17.
 18. Bozukluhan K., Merhan O., Özcan A., Gökçe Hİ., Gökçe G., 2017. *Toxocara vitulorum* ile doğal enfekte buzağılarda serum haptoglobin düzeyi, oksidatif belirteçler ve bazı biyokimyasal parametrelerin düzeyinin belirlenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 64, 75-79.
 19. Merhan O., Bozukluhan K., Gokce HI., 2017. Acute phase proteins and biochemical and oxidative stress parameters in *Hypoderma spp.* infested cattle. *J Hell Vet Med Soc*, 68, 535-540.
 20. Georgieva TM., Dishlyanova E., Jotov S., 2011. Plasma haptoglobin concentrations after normal parturition and caesarean operation in ewes with dystocia (preliminary study). *Revue Med Vet*, 162, 607-612.
 21. Scott PR., Murray LD., Penny CD., 1992. A preliminary study of serum haptoglobin concentration as a prognostic indicator of ovine dystocia cases. *Br Vet J*, 148, 351-355.
 22. Aziz DM., Taha MB., 1997. Effect of dystocia on serum haptoglobin in Awassi ewes. *Theriogenology*, 48, 559-562.
 23. Uchida E., Katoh N., Takahashi K., 1993. Appearance of haptoglobin in serum from cows at parturition. *J Vet Med Sci*, 55, 893-894.
 24. Nazifi S., Rezakhani A., Koohimoghadam M., Anzarilari M., Esmailnezhad Z., 2008. Evaluation of serum haptoglobin in clinically healthy cattle and cattle with inflammatory diseases in Shiraz, a tropical area in Southern Iran. *Bulg J Vet Med*, 11, 95-101.
 25. Ghuman CEP., Kumar A., Honparkhe M., 2009. A preliminary study about haptoglobin plasma concentrations in buffaloes following spontaneous or assisted delivery. *Buff Bull*, 28, 127-130.
 26. Cerone SI., Sansinanea AS., Streitenberger SA., Garcia MC., Auza NJ., 2000. Cytochrome c

- oxidase, Cu, Zn-superoxide dismutase, and ceruloplasmin activities in copper-deficient bovines. *Biol Trace Elem Res*, 73, 269-278.
27. Szczubiał M., Dabrowski R., Kankofer M., Bonchniarz M., Komar M., 2012. Concentration of serum amyloid A and ceruloplasmin activity in milk from cows with subclinical mastitis caused by different pathogens. *Pol J Vet Sci*, 15, 291-296.
28. Hussein HA., Staufenbiel R., 2012. Variations in copper concentration and ceruloplasmin activity of dairy cows in relation to lactation stages with regard to ceruloplasmin to copper ratios. *Biol Trace Elem Res*, 146, 47-52.
29. Sheldon IM., Noakes DE., Rycroft A., Dobson H., 2001. Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. *Vet Rec*, 148, 172-175.
30. Sheldon IM., Noakes DE., Bayliss M., Dobson H., 2003. The effect of oestradiol on postpartum uterine involution in sheep. *Anim Reprod Sci*, 78, 57-70.
31. Regassa F., Noakes DE., 1999. Acute phase protein response of ewes and the release of PGFM in relation to uterine involution and the presence of intrauterine bacteria. *Vet Rec*, 144, 502-506.
32. Roussel AJ., Whitney MS., Cole D., 1997. Interpreting a bovine serum chemistry profile: Part: 1. *Vet Med*, 92, 551-558.
33. Irmak K., Şen İ., Ok M., Civelek T., Güzelbektas H., Akay N., 1998. Koyunlarda doğum öncesi ve sonrası metabolik profildeki değişiklikler. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 4, 1-9.
34. Büyükoğlu T., Aslan N., 2018. Oksidatif stres ve geçiş dönemi süt sığırlarında oksidatif stresin etkileri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*, 9, 33-41.
35. Castillo C., Hernandez J., Bravo A., Lopez-Alonso M., Pereira V., Benedito JL., 2005. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *Vet J*, 169, 286-292.
36. Sahoo SS., Parta RC., Behera PC., Swarup D., 2009. Oxidative stress indices in the erythrocytes from lactating cows after treatment for subclinical ketosis with antioxidant incorporated in the therapeutic regime. *Vet Res Commun*, 33, 281-290.
37. Thangamani A., Chandra Prasad B., Srinivas M., Sadasiva Rao K., 2019. Evaluation of oxidative stress in maternal dystocia affected cows (*Bos indicus*): A preliminary study. *Pharma Innovation*, 8, 399-402.



Botulismuslu İneklerde Serum Total Sialik Asit Konsantrasyonunun ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

İsmail AYTEKİN^{1a}✉

1. Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0001-6794-5453^a

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
02.03.2020	07.06.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Aytekin İ: Botulismuslu İneklerde Serum Total Sialik Asit Konsantrasyonunun ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 151-155, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.697470

Öz: Bu araştırmada botulismuslu sığırlarda serum total sialik asit, total protein, albumin, globülin, AST, LDH, ALP, BUN, Ca, P ve Mg düzeyleri araştırıldı. Çalışmanın materyalini dilde ve çenede tonus kaybı, çiğneme güçlüğü, yutma güçlüğü, pupillar ve anal refleksde azalma, sallantılı yürüyüş, topallık, başını yere koyma, ön ve arka bacaklarda paraliz, başını göğüs üzerine dayama belirtileri gösteren botulismus teşhisi konulmuş üç ile yedi yaşları arasında 8 Holstein inek ve 6 kontrol sığır oluşturdu. Hasta ve kontrol grubu ineklerde serum total sialik asit, total protein, albumin, globülin, AST, ALP, LDH, BUN, Ca, P, Mg düzeyleri otoanalizör ve nefelometre ile belirlendi. Hayvanların yedikleri silaj ve kan serumlarında yapılan fare inokulasyon testi sonucu *Clostridium botulinum* tip D ve C toksini belirlendi. Botulismuslu hayvanlarda ALP, LDH, total protein, albümin, globülin, BUN, Ca, P ve Mg düzeyleri kontrol grubuyla istatistiksel olarak benzer çıkarken, botulismuslu ineklerde total sialik asit ve AST seviyelerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttığı tespit edildi. Sonuç olarak, botulismuslu hayvanlarda total sialik asit ve AST enzim düzeylerinin araştırılması botulismusun laboratuvar bulgularına yararlı olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Botulismus, Serum biyokimyası, Sığır, Total sialik asit.

Evaluation of Serum Total Sialic Acid Levels and Some Biochemical Parameters in Cows with Botulism

Abstract: In this study were investigated serum TSA, total protein, albumin, globulin, BUN, AST, ALP, LDH, Ca, P, Mg in cattle with botulism. This study material consisted of 6 cattle control and 8 Holstein cow at aged between 3 and 7, diagnosed with botulismus symptoms loss of tonus in the tongue and chin, difficulty swallow and chew, shake walking, lameness, reduction in pupils and anal reflex, paralysis in the front and back legs, rest on the chest, lay head down. In this study serum concentration was measured using a nefelometer and autoanalyzer, TSA, total protein, albümin, globülin, BUN, AST, ALP, LDH, Ca, P, Mg in healthy cattle and cattle with botulism. Mouse inoculation test maked in silage and the blood serum of the animals with botilismus, *Clostridium botulinum* type D and type C toxin were determined. Serum ALP, LDH, albumin, globülin, total protein, Ca, P, Mg did not differ statistically significant between two groups that total sialic acid and AST concentration increased statistic in botulism cows compared with healthy cows. Consequently, total sialic acid and enzyme researched may prove beneficial laboratory findings in animals with botulism.

Keywords: Botulism, Cattle, Serum biochemistry, Total sialic acid.

✉ İsmail Aytekin

Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir, TÜRKİYE.
e-posta: aytekin0331@gmail.com

GİRİŞ

Botulismus, nörotoksin üreten *Clostridium botulinium* tarafından oluşturulan bir hastalıktır (1-5). Botulismus toksini içeren gıdalar, kadavralar tarafından kontamine edilen yemler ve içme suyunun alınması, silajda botulismus toksinlerinin oluşması, ölen tavuklarda toksinlerin üremesi ve bunların yenilmesi, depolama ve silaj tekniklerine dikkat edilmemesi, botulismus toksinlerinin oluşmasına neden olabilir (3-8). Ruminantlarda özellikle Tip C ve D toksinlerinin yenilmesiyle botulismus oluşmaktadır (6,9-11).

Sialik asit, pirüvattan ve mannozaminden meydana gelen amino şeker yapısında olup mukoproteinler, glikoproteinler ve polisakkaridlerin yapısında, hayvan dokularında ve bakterilerde çok miktarda bulunur (12). Sialik asit membranlarda reseptör görevi ve hücrel uyarının ayarlanmasında rol oynar, patojen ve konak ilişkilerinde birbirini tanımada önemli görevleri vardır (13). Sialik asit akut faz proteinlerin çoğunun terminal ucunda olması nedeniyle akut faz reaksiyonunun önemli bir belirtisidir (14). Kanseler, metabolizma hastalıkları, bakteriyel, viral ve paraziter hastalıklarda total sialik asit seviyeleri önemli oranda artar (14-16).

Bu çalışmada botulismuslu ineklerde serum total sialik asit, AST, ALP, LDH, total protein, albümin, globülin, BUN, Ca, P ve Mg seviyeleri araştırıldı.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmanın materyalini Balıkesir'in Edremit ilçesinde 200 başlık bir işletmede çıkan 40 adet botulismus belirtilerini gösteren ve yaklaşık 5-10 gün içerisinde tamamı ölmüş, klinik ve mikrobiyolojik olarak botulismus teşhisi konulan 8 hasta ve 6 sağlıklı olmak üzere, toplam 14 adet üç ile yedi yaş aralığında Holstein ırkı inekler oluşturdu. Botulismuslu ve sağlıklı gruplara gebe olmayan inekler alındı. Çalışmaya katılan bütün ineklerin kan örneği alınmadan önce klinik muayeneleri yapıldı. Daha

sonra kanları alınarak, 10 dakika 5000 devirde santrifüj edildikten sonra serumları çıkartılarak -80 °C muhafaza edildi.

Serum AST, ALP, LDH, total protein, albumin, globülin, BUN, ticari kitlerle Cobas 8000 (Roche, Almanya) otoanalizör ile Ca, P ve Mg düzeyleri Nefelometre BNII de (Siemens, Almanya) belirlendi.

Serum total sialik asit analizleri Sydow (17) metoduna göre 0.2 mL serum üzerine 1.5 mL perklorik asit eklenerek 100 °C'de 5 dk kaynatıldıktan sonra soğutulur ve 2500 devirde dört dakika santrifüj edilir. Süpernatant kısımdan 1 mL başka tüplere konularak üzerine 0.2 mL erlich ayırıcı katılır ve 100 °C'de 15 dk kaynatılır. Soğutulan tüpler üzerine 1 mL distile su katılarak 525 nm'de optik dansiteleri spektrofotometrik (Shimadzu, UV-1601) ölçümü yapıldı.

Toksin izalasyonu için kan, kan serumu, silaj ve yem numuneleri Edremit İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'nün 55214B49/34 sayılı yazısı ile Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne gönderildi.

Fare inokulasyon testinde şüpheli yem, ölen hayvanlardan alınan kan, kan serumu, bağırsak ve rumen içeriği, intraperitoneal enjekte edilir. Botulismus hastalığının klinik bulgularının 1-4 gün içinde olması testin pozitif olduğunu gösterir. Alınan örneklerin inoküle edildiği hayvanlardan spesifik antitoksinin verildiği hayvanın yaşamaya devam etmesine rağmen diğer hayvanlarda klinik bulguların devam etmesi tanıyı doğrular ve toxin tipinin belirlenmesine yardımcı olur.

Araştırma ÇOMÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2019/09-01 sayılı etik kurulunun onayı ile yapıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistik analizler Windows SPSS 20 programı kullanılarak, t testi ile yapıldı. P<0.05 istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

BULGULAR

Klinik Bulgular

Botulismuslu ineklerde iştahsızlık, rumen hareketlerinde azalma, dilde ve çenede tonus kaybı, çiğneme güçlüğü, dil ve yutak kaslarının felci, yutma güçlüğü, dilin dışarı çıkması, kuyruk tonusunda azalma, pupillar ve anal refleksde azalma, başın öne eğik tutulması, sallantılı yürüyüş, topallık, ön ve arka bacaklarda paraliz, başını yere koyma, başını göğüs üzerine dayama, paralize bağlı yatalaklık ve ölüm gözlemlendi (Tablo 1). Botulismus olan altı inek bir gün içerisinde ölümlerini diğer iki inek ikinci gün ölmüştür. Ölen hayvanlara tedavi yapılmadı.

Biyokimyasal Bulgular

Botulismuslu ineklerde serum ALP, LDH, total protein, albümin, globülin, Ca, P, Mg ve BUN değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark belirlenmezken, total sialik

Tablo 1. Botulismuslu ineklerde klinik bulgular.

Table 1. Clinical findings in cows with botulism.

Klinik Bulgular	Hafif (n)	Orta (n)	Şiddetli (n)
İştahsızlık	1	1	6
Çene tonusu	1	2	5
Yutkunma	1	1	6
Dil gücü	1	3	4
Anal refleks	1	3	4
Kuyruk tonusu	1	2	5
Pupillar ışık refleksi	2	3	3
Rumen motilitesi	1	2	5

asit (TSA) ve AST değerlerinin sağlıklı ineklere göre arttığı tespit edildi (Tablo 2).

Fare İnokulasyon Testi

Hayvanların yedikleri silaj ve kan serumlarında yapılan fare inokulasyon testi sonucunda *Clostridium botulinum* tip D ve C toksini belirlendi.

Tablo 2. Botulismuslu ve sağlıklı ineklerde total sialik asit ile biyokimyasal parametreler.

Table 2. Total sialic acid and biochemical parameters in cows with Botulism and healthy cows.

Parametreler	Sağlıklı İnekler (n=6)	Botulismuslu İnekler (n=8)	P Değeri
TSA (mg/dl)	51.36±2.44	72.76±2.70	P<0.001
ALP (U/L)	61.90±3.62	60.88± 3.84	P>0.05
AST (U/L)	68.21±2.63	79.62± 3.07	P<0.01
LDH (U/L)	1154.53±17.81	1208.95± 16.91	P>0.05
Total Protein (g/dl)	7.38±0.30	7.62±0.28	P>0.05
Albumin (g/dl)	3.13±0.20	3.00± 0.19	P>0.05
Globulin (g/dl)	3.81±0.19	3.82±0.18	P>0.05
BUN (mg/dl)	23.43± 1.51	24.93±1.37	P>0.05
Ca (mg/dl)	10.65± 0.56	10.23±0.38	P>0.05
P (mg/dl)	5.96±0.37	5.80±0.37	P>0.05
Mg (mg/dl)	1.95±0.17	1.98±0.13	P>0.05

TSA: total sialik asit, ALP: alkalen fosfat, AST: aspartat aminotransferaz, LDH: laktat dehidrogenaz, BUN: kan üre nitrojen, Ca: kalsiyum, P: fosfor, Mg: magnezyum.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Botulismus sığırlarda, Türkiye, Avrupa ve Dünya'da sporadik olarak görülen bir hastalıktır (18, 19). Brezilya, Türkiye, İsrail ve Afrikada hayvanların bozulmuş silaj, tavuk gübresi, ölmüş tavuk kadavrasıyla enfekte olmuş meralar ve yemleri alması sonucu Tip C ya da D toksininin neden olduğu

botulismus hastalığının görüldüğünü bildirmişlerdir (20). Botulismus sığırlarda seyrek olarak Tip B, özellikle Tip D ve C toksinlerinin yenilmesiyle oluşur (21). Bu çalışmada ölçülen silajın Ph'sı altı çıkmış, nasıl geldiği bilinmeyen ölmüş tavuk parçalarının silaj, saman balyası ve yemle karıştırılıp hayvanlara verilmesi sonucu sığırlarda botulismus hastalığı

görülmüştür. Hayvanlara yedirilen silajda *C. botulinum* tip D ve C toksini tespit edilmiştir.

Botulismus hastalığı olan ineklerde iştahsızlık, çiğneme güçlüğü, topallık, dil ve yutak kaslarının felci, yutma güçlüğü, kulakta sarkma, göz kapaklarında düşme, kuyruk tonusunda azalma, başın ön tarafa eğik tutulması, sallantılı yürüyüş, başını göğüs üzerine dayama, genel felce bağlı yatalaklık, ataksi ve ölüm görülür (21-28). Bu çalışmada botulismuslu ineklerde iştahsızlık, rumen hareketlerinde azalma, sallantılı yürüyüş, topallık, dilde ve çenede tonus kaybı, çiğneme güçlüğü, dil ve yutak kaslarının felci, yutma güçlüğü, dilin dışarı çıkması, kuyruk tonusunda azalma, başın öne eğik tutulması, pupillar ve anal refleksde azalma, ön ve arka bacaklarda paraliz, başını yere koyma, başını göğüs üzerine dayama, yatalaklık ve ölüm görüldü. Botulismus olan altı inek bir gün içerisinde ölürken diğer iki inek ikinci gün ölmüştür.

Botulismuslu sığırların kan serumlarında yapılan bir çalışmada GGT, ALP ve ALT normal sınırlarda çıkarken AST'nin arttığını (25), AST normal sınırlarda çıkarken ALT'nin azaldığı bildirilmiştir (23). Botulismuslu ineklerde yapılan bir çalışmada AST seviyesinin yükseldiği (27,28) bildirilmiştir. Yapılan araştırmalarda botulismuslu hayvanlarda albumin, total protein, üre, BUN değerlerinin normal düzeyde olduğunu (23,25-28), Ca, P ve Mg değerlerinin normal sınırlarda çıktığını bildirmişlerdir (23,25,26). Bu çalışmada botulismuslu ve sağlıklı ineklerde, ALP, LDH, BUN, albumin, globülin, total protein, Ca, P ve Mg düzeylerinde önemli bir değişiklik görülmezken botulismuslu hayvanlarda AST düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş ancak AST seviyesi sığırlarda normal fizyolojik sınırlar arasında kalmıştır.

Metabolizma hastalıkları, bakteriyel, paraziter ve viral hastalıklarda total sialik asit seviyeleri önemli oranda artar (14-16,29). Karaciğer hastalıkları, kanser, romatoid artrit, lökoz, parazit ve enfeksiyöz hastalıklarda total sialik asit düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir (14-16,29). Sığırlarda yapılan çalışmalarda anaplasmosis ve thaileriosis (29), leptospiroz (14), lökoz (16), enzootik hematüri (15),

gibi hastalıklarda serum total sialik asit seviyesinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada botulismuslu ineklerde serum total sialik asit düzeyi sağlıklı ineklere göre artmıştır.

Sonuç olarak, botulismuslu sığırlarda total sialik asit ve AST enzim düzeylerinin araştırılması botulismusun laboratuvar bulgularına yararlı olabileceği kanaatine varıldı.

Çıkar Çatışması

Yazar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Bartlett JC., 1986. Infant botulism in adults. N Engl J Med, 315, 254-255.
2. Böhnelt H., Lube K., 2000. Clostridium botulinum and bio-compost. A contribution to the analysis of potential health hazards caused by bio-waste recycling. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health, 47, 785-795.
3. Ok M., Yıldız R., 2016. Ruminantlarda botulismus. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med-Special Topics, 2, 93-96.
4. Temizel EM., 2019. Ruminantlarda botulismus. Ok M, editör. Ruminantlarda Klostridyal Enfeksiyonlar. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri, p. 29-34.
5. Koç B., Aydın Vural H., Ruminantlarda botulismus. Aydın Vural H, editör. Büyükbaş hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan ilaçlar. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2019. Pp: 20-25.
6. Van der Lugt JJ., De Wet SC., Bastianello SS., Kellerman TS., Van Jaarsveld LP., 1995. Two outbreaks of type C and type D botulism in sheep and goats in south Africa. J S Afr Vet Assoc, 66, 77-82.
7. Böhnelt H., 1999. Botulismus eine vergessene erkrankung. Berl Münch Tierärztl Wochenschr, 112, 139-145.
8. Braun U., Feige K., Schweizer G., Pospischil A., 2005. Clinical findings and treatment of 30 cattle with botulism. Vet Rec, 156, 438-441.
9. Gerlach T., 2007. Botulismus bei einer golden

- retriever hündin. Tierärztliche Prax, 35, 37-40.
10. Schiefelbein EB., 1986. Lebensmittelbedingte Infektionen und Intoxikationen der Jahre 1960-1983, Erfassung, Auswertung, Validität der WHO, Daten. University of Bonn, PhD dissertation, Germany.
 11. Monaco S., Freddi N., Francavilla E., Meneghetti F., Fencia L., Franciosa G., 1998. Transient tonic pupils in botulism type. J Neuro Sci, 156, 96-98.
 12. Rosenberg A., Schengrund CL., 1976. Circulating sialyl compounds. In "Biological Roles of Sialic Acid", Rosenberg A., Schengrund S., 275-294, Plenum Publishing Corp, New York.
 13. Schauer R., 1982. Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acids. Adv Carbohydr Chem Biochem, 40, 131-234.
 14. Keleş İ., Ertekin A., Karaca M., Ekin S., Akkan HA., 2000. Sığırların leptospirozisinde serum sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeyleri üzerine araştırma. YYÜ Vet Fak Derg, 11, 121-122.
 15. Singh B., Choudhuri PC., Joshi HC., 1980. Serum mucoprotein and sialic acid in enzootic bovine haematuria. Zntbl Vet Med A, 27, 678-681.
 16. Sydow G., Wittmann W., Bender E., Starick E., 1988. The sialic acid content of the serum of cattle infected with bovine leukosis virus. Arch Exp Vetmed, 42, 194-197.
 17. Sydow G., 1985. A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. Biomed Biochim Acta, 44, 1721-1723.
 18. Kriek NPJ., Odendaal MW., 2004. Botulism. In "Infectious diseases of livestock with special reference to southern Africa Coetzer", Ed., D. Thomson, RC Tustin, 1354-1371, Oxford University Press, Republic of South Africa.
 19. Döbereiner J., Tokarnia CH., Langenegger J., Dutra IS., 1992. Epizootic botulism of cattle in Brazil. Dtsch Tierarztl Wochenschr 99, 188-190.
 20. Grobe-Herrenthey A., 2004. Untersuchungen zu den Einflussfaktoren einer effizienten Bekämpfungsstrategie für Rinderbotulismus in Brasilien. University of Leipzig, PhD dissertation, Leipzig.
 21. Braun U., 2006. Botulism in cattle. Schweiz Arch Tierheilk, 148, 331-339.
 22. Wilson RB., Boley MT., Corwin B., 1995. Presumptive botulism in cattle associated with plastic-packaged hay. J Vet Diagn Invest, 7, 167-169.
 23. Aytekin İ., Kaya F., Atalay H., 2016. Evaluation of serum haptoglobin, ceruloplasmin and pseudocholinesterase levels in cows with botulism. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 22, 367-371.
 24. Trueman KF., Bock RE., Thomas RJ., Taylor JD., Gren PA., Roeger HM., Ketterer PJ., 1992. Suspected botulism in three intensively managed Australian cattle herds. Vet Rec, 130, 398-400.
 25. Aytekin İ., Kaya F., 2017. Evaluation of serum cholinesterase and amyloid A levels in cows with botulism. Balıkesir Health Sci J, 22, 367-371.
 26. Duru SY., Şahal M., Beşkaya A., Gazyağcı S., 2016. Investigation of botulism cases in a cattle herd in Bolu province. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg, 11, 332-338.
 27. Şentürk S., Cihan H., 2007. Outbreak of botulism in a dairy herd in Turkey. Irish Vet J, 6, 481-484.
 28. Çatık S., Akgül G., Mecitoğlu Z., Şentürk S., 2013. Bir süt sığırlar işletmesinde botulismus. J Res Vet Med, 32, 53-56.
 29. Güzel M., Kontas Askar T., Kaya G., Atakısı E., Avcı GE., 2008. Serum sialic acids, total antioxidant capacity, and adenosine deaminase activity in cattle with theileriosis and anaplasmosis. Bull Vet Inst Pulawy, 52, 227-230.



Kedi ve Köpeklerden İzole Edilen *Staphylococcus* Türlerinde Çoklu İlaç Dirençliliğinin Araştırılması

Hüban GÖÇMEN^{1a}, Hazel TAMAKAN^{1b}, Halit ŞÜKÜR^{1c}, Ömer Memduh ESENDAL^{1d}

1. Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.
ORCID: 0000-0002-2245-5781^a, 0000-0001-5405-8943^b, 0000-0001-7151-930X^c, 0000-0002-2700-2634^d

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
20.03.2020	24.06.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Göçmen H, Tamakan H, Şükür H, Esendal ÖM: Kedi ve Köpeklerden İzole Edilen *Staphylococcus* Türlerinde Çoklu İlaç Dirençliliğinin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 156-166, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.706993

Öz: Kedi ve köpeklerden sıklıkla izole edilen *Staphylococcus* türlerinin metisilin ve çoklu ilaç dirençliliği (MDR) artışı çalışmamızın temelini oluşturdu. Bu amaçla, Yakın Doğu Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne getirilen 100 adet köpek ve 42 adet kediye ait toplamda 142 adet klinik örnek (yara, kulak, göz, burun, deri svapları gibi) çalışıldı. İncelenen örneklerden izole edilen *Staphylococcus* spp. izolatlarının tür düzeyinde identifikasyonu, VITEK-2 mikrobiyal ID/ADT test sistemi ve API Staph identifikasyon sistemi ile gerçekleştirildi. *Staphylococcus* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılık analizleri VITEK-2 otomatize sistem aracılığı ile gerçekleştirildi. İncelenen numunelerden 78 adet (%54.92) *Staphylococcus* spp. izole edildi. İzolatların 52'si (%66.67) koagülaz pozitif *Staphylococcus* (CoPS) ve 16'si (%20.51) koagülaz negatif *Staphylococcus* (CoNS) olarak tanımlandı. CoPS'ler arasında en yüksek oranda tanımlanan türlerin *Staphylococcus* (*S.*) *pseudintermedius* (%38,46) ve *S. aureus* (%25,64); CoNS'ler arasında ise *S. chromogenes* (%10,26) olduğu belirlendi. Antimikrobiyal madde duyarlılık analizleri sonucu, 11 (%28,2) izolat metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), 10 (%25,64) izolat metisilin dirençli *S. pseudintermedius* (MRSP) ve 10 (%25,64) izolat metisilin dirençli koagülaz negatif *Staphylococcus* (MRCoNS) olarak belirlendi. Ayrıca çoklu ilaç direnci tespit edilen türlerin 6'sında (%40,00) MDR-MRSP ve 4'ünde (%26,66) MDR-MRSA pozitifliği belirlendi. Toplamda 23 adet MDR *Staphylococcus* spp. izolatının 21 adedi köpeklerden ve 2 adedi de kedilerden izole edilmiştir. Çalışmada elde edilen veriler ışığında artan çoklu ilaç direncinin güncel yaklaşımlarını hayvanlardan izole edilen *Staphylococcus* türlerinde inceleyerek tedavi protokollerinin bu çerçevede uygulanmasına katkı sağlandı.

Anahtar Kelimeler: Çoklu ilaç direnci, Kedi, Köpek, Metisilin dirençliliği, *Staphylococcus* türleri.

Investigation of Multidrug Resistance among *Staphylococcus* Species Isolated from Cats and Dogs

Abstract: The increase in methicillin and multidrug resistance (MDR) of *Staphylococcus* species, which are frequently isolated from cats and dogs, formed the basis of our study. For this purpose, a total of 142 clinical samples (wound, ear, eye, nasal, skin swabs, etc.) belonging to 100 dogs and 42 cats brought to the Near East University Animal Hospital were studied in our investigation. Species-level identification of *Staphylococcus* spp. isolated from the samples examined was performed with the VITEK-2 microbial ID/AST test system and API Staph identification system. Antimicrobial susceptibility analyzes of *Staphylococcus* isolates were carried out through the VITEK-2 automated system. From the samples, 78 (54.92%) *Staphylococcus* spp. were isolated. 52 (66.67%) of the isolates were identified as Coagulase positive *Staphylococcus* (CoPS) and 16 (20.51%) as Coagulase negative *Staphylococcus* (CoNS). Among CoPS, the most frequently identified species were *S. pseudintermedius* (38.46%) and *S. aureus* (25.64%); whereas among CoNS, *S. chromogenes* (10.26%) was determined as the most predominant. According to the results of antimicrobial susceptibility analyzes, 11 (28.2%) isolates were determined as methicillin resistant *S. aureus* (MRSA), 10 (25.64%) as methicillin resistant *S. pseudintermedius* (MRSP) and 10 (25.64%) isolate methicillin resistant Coagulase negative *Staphylococcus* (MRCoNS). Besides, 6 (40.00%) MDR-MRSP and 4 (26.66%) MDR-MRSA positivity were determined among the species with multiple drug resistance. Of the 23 MDR *Staphylococcus* spp. isolates in total, 21 were isolated from dogs and 2 from cats. By analyzing the current approaches of the increased drug resistance with the data obtained in this study in *Staphylococcus* species isolated from animals, necessary contributions have been implemented to the treatment protocols within this framework.

Keywords: Cat, Dog, Methicillin resistance, Multidrug resistant, *Staphylococcus* species.

✉ Hüban Göçmen

Yakın Doğu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Lefkoşa, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti.
e-posta: huban.gocmen@neu.edu.tr

GİRİŞ

Antimikrobiyal ilaçlar, bakteriyel infeksiyonların tedavisinde 1900'lü yıllardan beri kullanılmaktadır (1). Dünyanın birçok yerinde birden fazla antibiyotiğe dirençli olduğu saptanan kontagiyöz etkenlere bağlı infeksiyonların artış gösterdiği bildirilmiştir. Mikroorganizmalar, antimikrobiyal ilaçların inhibe edici etkilerine karşı koyabilmeleri için mutasyonel değişikliklere uğramışlar ve antibiyotik dirençli birçok yeni bakteri varyantı gelişmiştir. Sadece bakteriyel etkenler değil, hemen hemen tüm infeksiyöz ajanlar (örneğin; mantar, virüs ve parazit), artan morbidite ve mortalite ile yüksek düzeyde çoklu ilaç dirençliliği geliştirmekte ve bu nedenle "superbugs" olarak adlandırılmaktadır (2).

'Çoklu ilaca dirençli-multidrug resistant' (MDR); üç veya daha fazla antimikrobiyal kategorideki en az bir maddeye karşı direnç olarak tanımlanmıştır. Ayrıca 'extensively drug resistant' (XDR), bir ya da iki antibiyotik dışında tüm antibiyotiklere direnç ve 'pandrug resistant' (PDR) tüm antimikrobiyal kategorilerdeki tüm ajanlara direnç şeklinde tanımlanmıştır (3). Bir grup uluslararası uzman; Avrupa Hastalık Önleme ve Kontrol Merkezi (ECDC) ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri'nin (CDC) ortak girişimi ile standart bir uluslararası terminoloji oluşturmak için bir araya gelmiş ve kazanılmış direnç profillerine sahip *S. aureus*, *Enterococcus* spp., *Enterobacteriaceae* (*Salmonella* ve *Shigella* türleri hariç), *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. ve çoklu ilaç direncine yatkın olan diğer bakteriyel etkenler için epidemiyolojik açıdan anlamlı antimikrobiyal kategoriler oluşturulmuştur (3). Antimikrobiyal duyarlılık testi için önerilen antimikrobiyal kategorilerin listesi; Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI), Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri Komitesi (EUCAST) ve Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) dokümanları ve kriterleri kullanılarak oluşturulmuştur (3).

Antimikrobiyal ilaçlara dirençli fırsatçı patojenler, insan ve veteriner hekimliğinde dünya genelinde önemli sağlık problemleri oluşturmaktadır. Modern veteriner hekimlikte hastane infeksiyonları (healthcare-associated infection–HAI) önem arz etmekle birlikte tam olarak çözüme kavuşturulamamıştır (4). MDR patojenler, uzun süre hayvan hastanelerinde salgınlara neden olmuş (5) ve patojenler belirgin bir şekilde bu ortamlara yayılmışlardır (6). Veteriner hekimlikte HAI ile ilgili veriler sınırlı kalmaktadır ancak bu durum konu ile ilgili farkındalığın da artmasını sağlamaktadır (7,8). Tıbbi ve teknik ilerleme ile birlikte uzun süreli hospitalizasyon sayesinde geriatrik, kronik hastalar ve immün yetmezliği olan hasta hayvanların yaşam süreleri ve kalitesi arttırılabilmektedir (9). Evcil hayvan hekimliğinde özellikle köpeklerde, kedilerde ve atlarda sıklıkla cerrahi bölge infeksiyonları, yara infeksiyonları, kan dolaşımı infeksiyonları ve kateterle ilişkili idrar yolu infeksiyonları HAI kapsamında değerlendirilmektedir (4,8,10).

Veteriner hekimlikte en sık bildirilen HAI'lerden sorumlu fırsatçı bakteriler metisilin dirençli *Staphylococcus* izolatlarıdır (MRS). Bunlar arasında; metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), metisilin dirençli *S. pseudintermedius* (MRSP) ve metisilin dirençli koagülaz negatif *Staphylococcus* (MRCoNS) türleri yer almaktadır. MRS, diğer penisilin bağlayıcı proteinlerin (PBP) beta-laktamlarla etkisizleştirilmesine rağmen hücre duvarı biyosentezi işleminde devam eden çapraz bağlama adımlarına izin vererek beta-laktam antibiyotiklerine direnç sağlayan ilave bir penisilin bağlayıcı protein (PBP2a, *mecA* veya *mecC* tarafından kodlanır) içermektedir (11). Stafilokokların *mecA* veya *mecC* genine sahip olması veteriner hekimliğinde kullanılan beta-laktam antibiyotiklere karşı geniş bir dirençlilik ile sonuçlanmaktadır (12-15).

Son on yıldır bazı araştırmacılar, evcil hayvanların antibiyotiklere dirençli bakteri rezervuarları olabileceğini öne sürmüşlerdir (16-18). Bu varsayım, yakın temasta olan köpek ve

insanlardan izole edilen CoPS izolatlarında antibiyotik direncini bildiren çalışmalara dayandırılmıştır (19, 20).

Bu çalışmanın amacı; Kıbrıs'da Yakın Doğu Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne çeşitli klinik şikayetlerle (yara infeksiyonları, kulak ve göz akıntıları gibi) getirilen kedi ve köpeklerden izole edilen *Staphylococcus* spp. izolatlarında metisilin dirençliliğinin ve çoklu ilaç dirençliliğinin araştırılmasıdır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Bu çalışmada, Yakın Doğu Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne çeşitli şikayetler (yara infeksiyonları, kulak ve göz akıntıları gibi) ile getirilen 100 adet köpek ve 42 adet kediden alınan klinik örnekler incelendi. Bu hayvan türlerine ait 49 adet deri svabı, 27 adet kulak svabı, 9 adet göz svabı, 5 adet vaginal svap, 10 adet nazal svap, 11 adet yara svabı, 2 adet apse örneği, 2 adet fistül svabı, 25 adet idrar örneği ve 2 adet orofarinks svabı olmak üzere toplamda 142 adet numunenin mikrobiyolojik incelemesi yapıldı. Numunelerin toplanması için gerekli izinler Y.D.Ü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2019/87 toplantı numaralı ve 87 sayılı etik kurul onayı ile alındı.

Klinik örnekler, aseptik koşullarda MRSA (Copan-493CE03), likit Amies (Copan-4E014S.A) ve Stuart (Copan-141C) içeren svaplarla alındı. Svap örnekleri, infeksiyonun bulunduğu bölgelere %70'lik etil alkol ile temizlendikten sonra steril ve amaca uygun seçilen svaplar sürülerek; idrar örnekleri, sistosentez metodu ile; apse örnekleri ise, apse duvarından kazıntı yapılarak içerikleri toplandı. Toplanan numuneler Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Merkez Araştırma ve Mikrobiyoloji Tanı Laboratuvarına soğuk zincir altında ulaştırıldı ve mikrobiyolojik analizlerine başlandı.

Bakteri İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılan örnekler, %7 koyun kanlı agara (Biomerieux, 43041), MacConkey agara (Merck, 105465) ve Baird Parker agara (Merck, 105406) inokule edildi. Ekimleri

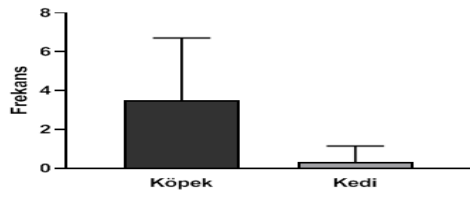
gerçekleştirilen örnekler, aerobik ortamda 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakıldı ve şekillenen bakteri kolonileri değerlendirildi. Besiyerlerinde gelişen saf bakteri kolonilerine Gram boyama (Biomerieux, 55542) yöntemi uygulandı ve Gram pozitif kok şekilli mikroskopik morfoloji gösteren bakteri kolonilerinin Katalaz (Biomerieux, 55561) ve Koagulaz (lamda ve tüpte) (Merck, 113306) testleri gerçekleştirildi. Daha sonra bu kolonilere sahip izolatların VITEK-2 (Biomerieux, France) otomatize sistem ve API Staph (Biomerieux, France) sistemleri ile identifikasyonları gerçekleştirildi. Çalışmada pozitif kontrol olarak; Edinburg Üniversitesi Roslin Enstitüsü'nden temin edilen *S. pseudintermedius* ED99 ve Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan temin edilen *S. aureus* ATCC 700699, ATCC 33591 ve ATCC 43300 referans suşları kullanıldı.

Antimikrobiyal Duyarlılık Testi

İdentifiye edilen *Staphylococcus* türlerinin antibiyotik duyarlılık/dirençlilik profillerini ortaya koymak amacıyla VITEK-2 otomatize sistemi kullanıldı. Bu otomatize sistemde AST-GP kartları kullanılarak izolatların antibiyotiklere (penisilin, oksasilin, sefoksitin, gentamisin, kanamisin, vankomisin, nitrofurantoin, kloramfenikol, trimetoprim sülfametaksazol, fusidik asit, rifampin, ampicilin sulbaktam, imipenem, enrofloksasin, marbofloksasin, eritromisin, klindamisin, tetrasiklin, mupirosin, amoksisilin klavulanik asit, polimiksin B, sefalekssin) duyarlılık/dirençlilik profilleri belirlendi. Metisilin dirençliliğinde rol oynayan sefoksitin tarama ve oksasilin, AST kartlarında ayrıca belirtilmekte ve bu antibiyotiklere karşı cihazın uyarı özelliği bulunmaktadır. Test sonucu antimikrobiyal maddelerin mikrodilüsyon yöntemi ile minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri tespit edildi ve Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsüne (CLSI, M02-A12 ve M07-A10, 2017) (21) göre yorumlandı.

İstatistiksel Analiz

Kedi ve köpek kökenli MDR Stafillokok izolatlarına ait verilerin değerlendirilmesinde GraphPad Prism 8.0.2. programı kullanılarak non-parametrik Mann-Whitney U testi uygulanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Kedi ve köpek kökenli MDR Stafilokok izolatlarının dağılımı (Mann Whitney U=3, p=0.0087).

Figure 1. Distribution of feline and canine MDR *Staphylococcus* isolates (Mann Whitney U=3, p=0.0087).

BULGULAR

Kedi ve köpeklerden izole edilen Stafilokok türlerinin metisilin dirençliliği ve çoklu ilaç dirençlilikleri ile ilgili bilgiler ve bulgular Tablo 1’de belirtilmiştir. Çalışmada, 142 adet numunedan 78 adet (%54.92) *Staphylococcus* izolatu elde edilmiştir. İzolatlardan 16 adedi (%20.51) CoNS, 52 adedi (%66.67) CoPS ve 10 adedi (%12.82) sadece *Staphylococcus* spp. olarak tanımlanmıştır.

Tablo 1. Kedi ve köpeklerden izole edilen Stafilokok türlerinin metisilin dirençliliği ve çoklu antibiyotik dirençlilikleri.

Table 1. Methicillin resistance and multidrug resistance of *Staphylococcus* species isolated from cats and dogs.

Numune Türü	Hayvan Türleri ve İzole Edilen Stafilokok Türleri	Metisilin Dirençli Stafilokoklar (MRS)	Çoklu İlaç Dirençliliği (MDR)	
Deri (n=37)	Köpek (n=32)	<i>S. pseudintermedius</i> (n=19) <i>S. aureus</i> (n=2) <i>S. epidermidis</i> (n=1) <i>S. intermedius</i> (n=2) <i>S. chromogenes</i> (n=3) <i>Staphylococcus</i> spp. (n=4)	MRSP (n=8) MRSA (n=3) MRSI (n=2) MRCNS (n=5) MRS (n=4)	MDR (n=12)
	Kedi (n=5)	<i>S. pseudintermedius</i> (n=1) <i>S. aureus</i> (n=3) <i>S. chromogenes</i> (n=1) <i>S. vitulinus</i> (n=1)		
Kulak (n=11)	Köpek (n=6)	<i>S. pseudintermedius</i> (n=2) <i>S. aureus</i> (n=3) <i>S. haemolyticus</i> (n=1)	MRSP (n=1) MRSA (n=3) MRCNS (n=4)	MDR (n=1)
	Kedi (n=5)	<i>S. pseudintermedius</i> (n=1) <i>S. aureus</i> (n=1) <i>S. chromogenes</i> (n=2) <i>S. simulans</i> (n=2) <i>S. capitis</i> (n=1) <i>Staphylococcus</i> spp. (n=3)	MRS (n=2)	
Göz (n=3)	Köpek (n=1)	<i>S. aureus</i> (n=1)		
	Kedi (n=2)	<i>S. chromogenes</i> (n=1) <i>Staphylococcus</i> spp. (n=1)		
Vaginal (n=1)	Köpek (n=1)	<i>S. pseudintermedius</i> (n=1)		
Nazal (n=6)	Köpek (n=5)	<i>S. aureus</i> (n=1) <i>S. pseudintermedius</i> (n=3) <i>Staphylococcus</i> spp. (n=1)	MRSA (n=1) MRCNS (n=1)	MDR (n=1)
	Kedi (n=1)	<i>S. simulans</i> (n=1)		
Yara (n=8)	Köpek (n=5)	<i>S. pseudintermedius</i> (n=2) <i>S. aureus</i> (n=2) <i>S. caprae</i> (n=1)	MRSP (n=1) MRSA (n=1)	MDR (n=4)
	Kedi (n=3)	<i>S. aureus</i> (n=3)		

Tablo 1. Kedi ve köpeklerden izole edilen Stafilocok türlerinin metisilin dirençliliği ve çoklu antibiyotik dirençlilikleri (DEVAMI).**Table 1.** Methicillin resistance and multidrug resistance of *Staphylococcus* species isolated from cats and dogs (CONTINUE).

Numune Türü	Hayvan Türleri ve İzole Edilen Stafilocok Türleri	Metisilin Dirençli Stafilocoklar (MRS)	Çoklu İlaç Dirençliliği (MDR)
Apse (n=2)	Köpek (n=2) Kedi (n=0)	<i>S. pseudintermedius</i> (n=1) <i>S. aureus</i> (n=1)	MDR (n=1)
Fistül (n=1)	Köpek (n=1) Kedi (n=0)	<i>S. aureus</i> (n=1)	MDR (n=1)
İdrar (n=2)	Köpek (n=2) Kedi (n=0)	<i>S. aureus</i> (n=1) <i>Staphylococcus</i> spp. (n=1)	MDR (n=2)
Orofarinks (n=2)	Köpek (n=0) Kedi (n=2)	<i>S. aureus</i> (n=1) <i>S. chromogenes</i> (n=1)	MDR (n=1)
Toplam (n=73)	Toplam (n=73)	Toplam (n=78)	Toplam MDR (n=23)
		Toplam MRSP (n=10) Toplam MRSA (n=11) Toplam MRCNS (n=10) Toplam MRS (n=6) Toplam MRSI (n=2)	

(MRSP: Metisilin Dirençli *Staphylococcus pseudintermedius*, MRSA: Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*, MRCNS: Metisilin Dirençli Koagülaz Negatif Stafilocok, MRSI: Metisilin Dirençli *Staphylococcus intermedius*, MDR: Çoklu İlaç Direnci)

İzolatların metisilin dirençlilikleri incelendiği zaman; 10 adet (%25.64) MRSP, 11 adet (%28.20) MRSA, 10 adet (%25.64) MRCoNS, 6 adet (%15.38) MRS ve 2 adet (%5.13) MRSI elde edilmiştir. Toplamda 39 adet (%50) MRS izolatı elde edilmiş olup antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre de MDR izolat sayıları belirlenmiştir. Buna göre; 6 adet MDR-MRSP (%40), 4 adet (%26.66) MDR-MRSA, 2 adet MDR-MRCoNS (%13.33), 1 adet (%6.66) MDR-MRSI ve 2 adet (%13.33) MDR-MRS izolatı elde edilmiştir (Tablo 1). Bununla birlikte metisilin dirençliliği dışındaki *Staphylococcus* türleri arasındaki sonuçlar ise; 8 adet (%34.78) MDR-*S. pseudintermedius*, 9 adet (%39.13) MDR-*S. aureus*, 1 adet (%4.35) MDR-*S. intermedius*, 2 adet (%8.7) MDR-CoNS ve 3 adet

(%13.04) MDR-*Staphylococcus* spp. elde edilmiştir. *Staphylococcus* türleri arasında toplam MDR izolat sayısı 23 adettir (%29.49).

MDR izolatlarının antibiyotik direnç profilleri Tablo 2'de belirtilmiştir. Çalışmada MDR-CoNS türlerinden *S. epidermidis* ve *S. chromogenes*, köpeklerin deri svaplarından izole edilmiştir. Aynı zamanda bu suşların MDR-MRCoNS ve ortak olarak oksasilin, sefoksitin, eritromisin ve tetrasiklin'e karşı dirençli oldukları ortaya konulmuştur. MDR-*S. aureus* izolatlarının penisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine de dirençli olduğu elde edilen sonuçlar arasındadır. MDR-MRSP izolatlarının çoğu penisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2. MDR izolatlarının antibiyotik direnç profilleri.**Table 2.** Antibiotic resistance profiles of MDR isolates.

No	Numune Türü	İzole Edilen Stafilokok Türü	İzolatların Direnç Profilleri
1	Deri (Köpek)	<i>S. pseudintermedius</i>	Penisilin, Tetrasiklin, Mupirosin
2	Apse (Köpek)	<i>S. aureus</i>	Penisilin, Tetrasiklin, Enrofloksasin, Rifampin
3	Yara (Köpek)	<i>S. aureus</i>	Penisilin, Enrofloksasin, Mupirosin
4	Yara (Köpek)	<i>S. aureus</i>	Penisilin, Enrofloksasin, Tetrasiklin
5	Kulak (Köpek)	<i>S. aureus</i>	Amoksisilin/Klavulanik Asit, Tetrasiklin Oksasilin, Sefoksitin, Polimiksin B
6	Fistül (Köpek)	<i>S. aureus</i>	Penisilin, Oksasilin, Gentamisin, Eritromisin Klindamisin, Tetrasiklin
7	Deri (Köpek)	<i>S. epidermidis</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Eritromisin, Tetrasiklin, Fusidik Asit
8	İdrar (Köpek)	<i>S. aureus</i>	Penisilin, Klindamisin, Tetrasiklin
9	Deri (Köpek)	<i>S. intermedius</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Penisilin, Eritromisin, Tetrasiklin
10	Deri (Köpek)	<i>S. chromogenes</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Eritromisin, Tetrasiklin, Amoksisilin/Klavulanik Asit
11	Deri (Köpek)	<i>Staphylococcus spp.</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Eritromisin, Penisilin Amoksisilin/Klavulanik Asit, Trimetoprim/Sülfametaksazol
12	Deri (Köpek)	<i>S. pseudintermedius</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Tetrasiklin, Penisilin, Amoksisilin/Klavulanik Asit, Trimetoprim/Sülfametaksazol
13	Yara (Kedi)	<i>S. aureus</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Tetrasiklin, Penisilin, Eritromisin, Sefaleksin
14	Deri (Köpek)	<i>S. pseudintermedius</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Tetrasiklin, Penisilin, Eritromisin, Klindamisin, Gentamisin, Amoksisilin/Klavulanik Asit
15	Deri (Köpek)	<i>S. pseudintermedius</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Seftriakson, Sefaleksin, Tetrasiklin, Eritromisin, Trimetoprim/Sülfametaksazol
16	Deri (Köpek)	<i>S. aureus</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Tetrasiklin, Penisilin, Eritromisin, Ampisilin
17	Deri (Köpek)	<i>S. pseudintermedius</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Tetrasiklin, Amoksisilin/Klavulanik Asit, Trimetoprim/Sülfametaksazol
18	Deri (Köpek)	<i>S. pseudintermedius</i>	Penisilin, Oksasilin, Kanamisin, Enrofloksasin, Marbofloksasin, Eritromisin, Tetrasiklin, Kloramfenikol, Rifampin
19	İdrar (Köpek)	<i>Staphylococcus spp.</i>	Oksasilin, Sefoksitin, Tetrasiklin, Penisilin, Ampisilin, Klindamisin, Gentamisin, Enrofloksasin, Ampisilin/Sulbaktam
20	Nazal (Köpek)	<i>Staphylococcus spp.</i>	Tetrasiklin, Eritromisin, Amoksisilin/Klavulanik Asit, Trimetoprim/Sülfametaksazol
21	Yara (Köpek)	<i>S. pseudintermedius</i>	Penisilin, Kanamisin, Eritromisin, Klindamisin, Kloramfenikol
22	Orofarinks (Kedi)	<i>S. aureus</i>	Sefoksitin Tarama (+), Penisilin, Ampisilin/Sulbaktam, Oksasilin, İmipenem, Kanamisin, Enrofloksasin, Eritromisin, Klindamisin, Tetrasiklin
23	Deri (Köpek)	<i>S. pseudintermedius</i>	Penisilin, Oksasilin, Kanamisin, Eritromisin, Tetrasiklin

TARTIŞMA ve SONUÇ

Stafilokokların metisilin ve diğer antimikrobiyallere (ampisilin, penisilin, tetrasiklin gibi) geliştirdikleri direnç, Stafilokok infeksiyonlarının kemoterapisinde global bir problem haline gelmiştir (22). Gandolfi-Decristophoris ve ark. (22) sağlıklı kedi ve köpeklerin kommensal Stafilokok türlerini araştırmış ve %60 oranında CoNS tespit etmişlerdir. Bu türlerin %17'sinin MDR izolatı olduğu ortaya konulmuştur. Başka bir çalışmada ise; hasta köpeklerin çeşitli vücut bölgelerinden toplanan *Staphylococcus* izolatlarının metisilin dirençliliği ve çoklu ilaç dirençliliği araştırılmış ve *S. pseudintermedius* (%76.6), *S. aureus* (%15.5), *S. schleiferi* spp. *coagulans* (%5.7), *S. schleiferi* spp. *schleiferi* (%1.2) ve CoNS (%0.9) türleri izole edilmiştir. Tüm izolatların %11.4'ünde metisilin dirençliliği meydana gelmiş ve %27.5'inde çoklu ilaç direnci bulunmuştur (23). Bu çalışmada, kedi ve köpeklerden %54.92 oranında *Staphylococcus* izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlardan 16 adedi (%20.51) CoNS, 52 adedi (%66.67) CoPS ve 10 adedi (%12.82) sadece *Staphylococcus* spp. olarak tanımlanmıştır. İzolatların metisilin dirençliliklerine göre; 10 adet (%25.64) MRSP, 11 adet (%28.20) MRSA, 10 adet (%25.64) MRCoNS, 6 adet (%15.38) MRS ve 2 adet (%5.13) MRSI elde edilmiştir. Kedi ve köpeklerde izole edilen *Staphylococcus* türleri ve bu türlerin metisilin dirençliliği yönünden ele aldığımızda MRCoPS (MRSP, MRSA, MRSI) izolatlarındaki artış diğer çalışmalardaki gibi dikkat çekmektedir. Aynı zamanda çalışmamızdaki CoNS türleri arasında antibiyotik duyarlılık test sonuçlarına göre 10 adet (%25.64) MRCoNS ve 2 adet (%13.33) MDR-MRCoNS tespit edilmiştir. Bu suşlar köpeklerin deri svaplarından *S. epidermidis* ve *S. chromogenes* olarak izole edilmiş ve ortak olarak oksasilin, sefoksitin, eritromisin ve tetrasiklin'e karşı dirençli oldukları ortaya konulmuştur.

MDR mikroorganizmalar, evcil hayvanlar ve sahipleri arasında karşılıklı bulaşabilmektedirler. Kaspar ve ark. (24), veteriner kliniklerinde ve hastanelerde tedavi edilen veya hayvan barınaklarında ve özel hanelerde yaşayan köpeklerden (n=192), kedilerden (n=74) ve tavşanlardan (n=17) geniş spektrumlu beta-laktamaz üreten *Enterobacteriaceae* (ESBL-E) ve *S. aureus*'un prevalansını saptamak amacıyla çeşitli örnekler toplamışlardır. Örnek toplanan tüm tesisler, yüksek yoğunlukta domuz üretimi yapılan bir bölgede konumlanmıştır. Toplamda 283 adet nazal, bukkal ve perianal svap örneklerinden; köpeklerde %10.4 ve kedilerde %8.1 oranında *S. aureus* ayrıca köpeklerde %2.6 ve kedilerde %2.7 oranında MRSA tespit etmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise Kaspar ve ark.'nın (24) sonuçlarıyla benzer olarak konakçı türü bakımından köpeklerdeki izolasyon oranı daha fazla bulunmuştur. Son zamanlarda özellikle evcil hayvanlar arasında ve sahipleri arasında *S. aureus* ve MRSA izolasyon oranlarının artış nedeninin nazal taşıyıcılık oranlarının artışına bağlı olduğunu görmekteyiz (22). Aynı zamanda, *S. pseudintermedius*'un esas konakçısının köpekler olduğunu savunan bildirimler mevcuttur (25). Bu çalışmada ise izole edilen *S. pseudintermedius* suşlarının 28 tanesinin köpeklere ve 2 tanesinin de kedilere ait olması; *S. pseudintermedius*'un doğal konakçısının köpekler olduğunu destekler niteliktedir. Ayrıca toplamda 23 adet (% 29.49) MDR Stafilokok izolatının 21 adedinin köpek ve sadece 2 adedinin kedi kökenli olması istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve dikkat çekmiştir. Aradaki bu farkın köpeklerin dış ortamla kedilere oranla daha fazla temas etmelerine ve buna bağlı olarak daha yüksek oranda ampirik antimikrobiyal uygulamalarına maruz kalmalarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde Gandolfi-Decristophoris ve ark. (22) inceledikleri kedi izolatlarından %14.8'inin ve köpek izolatlarından da %20'sinin MDR Stafilokok suşu olduğunu bildirmişlerdir.

S. pseudintermedius, sadece metisiline karşı değil aynı zamanda tetrasiklinler, trimetoprim-sülfonamidler, florokinolonlar, kloramfenikol ve makrolidler gibi birçok antibiyotiğe de direnç gösterebilmektedir (26,27). MDR özelliğine sahip *S. pseudintermedius*'lar antibiyotiklere duyarlı izolatlardan daha virülant değiller ancak tedavide problem oluşturabilmektedirler (22,27). Loeffler ve ark. (28) Almanya'daki bir veteriner dermatoloji kliniğinde *S. pseudintermedius* izolatlarının %23'ünün MDR olduğunu bildirmişlerdir. Metisilin direncini belirlemeyi amaçlayan bir çalışmada da köpeklerden ve sahiplerinden 8 adet *S. aureus* ve 23 adet *S. pseudintermedius* izole edilmiştir. *S. aureus* suşları arasında çoklu ilaç direnci %75 ve MRSA suşları arasındaki çoklu ilaç direnci %80 olarak bulunmuştur. 23 adet *S. pseudintermedius* suşunun sadece 3'ü (%13.04) MDR olarak tespit edilmiş ve bunların arasında MDR-MRSP saptanamamıştır (29). Diğer bir çalışmada kedi, köpek ve atların yaralarından izole edilen MRSA oranlarına bakıldığında, köpeklerde %62.7, kedilerde %46.6 ve atlarda ise %41.3 oranında çarpıcı rakamlar elde edilmiştir (30). Yapılan bu çalışmada ise 20 adet (%25.64) *S. aureus*, 11 adet (%28.2) MRSA, 9 adet (%39.13) MDR-*S. aureus*, ve 4 adet (%26.66) MDR-MRSA izole edilmiştir. MDR-MRSA ve MDR-MRSP izolatlarının yapılan çalışmalarla aynı bulguları paylaşmış ve ek olarak penisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine de dirençli olduğu belirlenmiştir.

Avrupa'da bir proje kapsamında kedi ve köpeklerde yapılan diğer bir çalışmada 1408 adet suş arasından en fazla izole edilen tür *S. pseudintermedius* olmuştur. *S. pseudintermedius* izolatlarında; penisilin, klindamisin ve kloramfenikole direnç %18.4-25.2 oranında iken ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit ve florokinolonlara direnç %11'in altında bulunmuştur. *S. aureus* izolatlarında beta-laktam direnci yüksek (%26.7-62.1) ancak diğer antibiyotikler için düşük (%0.0-4.4) bulunmuş; *S. pseudintermedius*'un %6.3 ve *S. aureus*'un %5.4 oranında *mecA*-pozitif olduğu doğrulanmıştır (31). Bu

çalışmada 78 adet Stafilokok izolatı arasından %66.66 oranında CoPS izolatı elde edilmiş ve bu izolatların %38.46 oranında *S. pseudintermedius* ve %25.64 oranında MRSP içerdiği tespit edilmiştir. MRSP izolatlarının %40'ı MDR-MRSP olarak tanımlanmıştır. MDR-MRSP izolatlarının penisilin ve tetrasiklin antibiyotiklerine karşı yüksek oranda dirençli olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda *mecA* geni deteksiyonuna yönelik bir çalışma yapılmamış olup otomatize cihazın güncellenen CLSI-MİK değerlerine göre yorumlamalar yapılmıştır. Bir *S. intermedius* araştırmasında ise; 102 adet izolatdan 12 adet MDR-MRSP izolatı tespit edilirken (32), bu çalışmada ise MDR izolatları arasında bir adet (%6.66) MDR-MRSP tespit edilmiştir. *S. pseudintermedius*'un ilk izolasyonundan beri kedi ve köpeklerde *Staphylococcus intermedius* grubuna (SIG) ait yapılan çalışmalarda, *S. intermedius* ve özellikle *S. aureus* olarak izole edilen izolatların aslında *S. pseudintermedius* olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (33,34).

Sonuç olarak, günümüzde kedi ve köpeklerde CoNS ya da CoPS izolatlarındaki MDR artışı, insan ve hayvan sağlığı için tehdit oluşturmakta ve yeni ilaçların sürekli geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Elde ettiğimiz verilere göre toplamda 23 adet (%29.49) MDR *Staphylococcus* spp. izolatının 21 adedi köpeklerden ve 2 adedi de kedilerden izole edilmiştir. Bu çalışma, çoklu ilaç direncinin güncel yaklaşımlarını hayvanlardan izole edilen *Staphylococcus* türlerinde inceleyerek tedavi protokollerinin bu çerçevede uygulanmasına ve geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Teşekkür

İstatistiksel analizlerin yapılmasındaki katkılarından dolayı Yakın Doğu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Doç. Dr. Wayne J. FULLER'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Nikaido H., 2009. Multidrug Resistance in Bacteria. *Annu Rev Biochem*, 78, 119-146.
2. Tanwar J., Das S., Fatima Z., Hameed S., 2014. Multi Resistance: An Emerging Crisis. *Interdiscip Perspect on Infect Dis*, vol. 2014, Article ID 541340.
3. Magiorakos AP., Srinivasan A., Carey RB., Carmeli Y., Falagas ME., Giske CG., Harbarth S., Hindler JF., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Paterson DL., Rice LB., Stelling J., Struelens MJ., Vatopoulos A., Weber JT. and Monnet DL., 2012. Multidrug resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, 18, 3, 268-281.
4. Weese JS., 2011. Infection control in veterinary practice; the time is now. *J Small Anim Pract*, 52, 507-508.
5. Walther B., Tedin K., Lübke-Becker A., 2017. Multidrug-resistant opportunistic pathogens challenging veterinary infection control. *Vet Microbiol*, 200, 71-78.
6. Febler AT., Schuenemann R., Kadlec K., Hensel V., Brombach J., Murugaiyan J., Oechtering G., Burgener IA., Schwarz S., 2018. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) among employees an in the environment of a small animal hospital. *Vet Microbiol*, 221, 153-158.
7. Ruple-Czerniak A., Aceto HW., Bender JB., Paradis MR., Shaw SP., Van Metre DC., Weese JS., Wilson DA., Wilson JH., and Morley PS., 2013. Using syndromic surveillance to estimate baseline rates for healthcare-associated infections in critical care units of small animal referral hospitals. *J Vet Intern Med*, 27, 1392-1399.
8. Stull JW., Weese JS., 2015. Hospital-associated infections in small animal practice. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 45, 217-233.
9. Wieler LH., Walther B., Vincze S., Guenther S., Luebke-Becker A., 2014. In "Zoonoses – Infections Affecting Humans and Animals: Focus on Public Health Aspects", Ed., A Sing, 433ff, Springer, Oberschleißheim.
10. Wieler LH., Ewers C., Guenther S., Walther B., Lubke-Becker A., 2011. Methicillin-resistant Staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)- producing *Enterobacteriaceae* in companion animals: nosocomial infections as one reason for the rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical samples. *Int J Med Microbiol*, 301, 635-641.
11. Pinho MG., de Lencastre H., Tomasz A., 2001. An acquired and a native penicillin-binding protein cooperate in building the cell wall of drug-resistant Staphylococci. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98, 1088-10891.
12. Siugzdaite J., Gabinaitiene A., 2017. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in healthy dogs. *Vet Med (Praha)*, 62, 479-487.
13. Gronthal T., Moodley A., Nykasenoja S., Junnila J., Guardabassi L., Thomson K., Rantala M., 2014. Large outbreak caused by methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71 in a Finnish Veterinary Teaching Hospital—from outbreak control to outbreak prevention. *PLoS One* 9, 10, e110084.
14. Lee CH., Park YK., Shin S., Park YH., Park KT., 2018. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs in veterinary hospitals in Korea. *Int J Appl Res Vet Med*, 16, 211-220.
15. Rahman MM., Amin KB., Rahman SMM., Khair A., Rahman M., Hossain A., Rahman AKMA., Parvez MS., Miura N. and Alam MM., 2018. Investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among clinical isolates from humans and animals by culture methods and multiplex PCR. *BMC Vet Res*, 14, 300.
16. Guardabassi L., Schwarz S., Lloyd DH., 2004. Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant

- bacteria. J Antimicrob Chemother, 54, 321-332.
17. Lloyd DH., 2007. Reservoirs of antimicrobial resistance in pet animals. Clin Infect Dis, 45, 148-152.
 18. Loeffler A., Lloyd DH., 2010. Companion animals: a reservoir for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community? Epidemiol Infect, 138, 595-605.
 19. Tabatabaei S., Najafifarb A., Badouei AM., Salehia TZ., Tamaia IA., Khaksard E., Abbassie MS., Ghazisaedif F., 2019. Genetic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in pets and veterinary personnel in Iran: new insights into emerging methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP). Journal of Global Antimicrobial Res, 16, 6-10.
 20. Weese JS., Dick H., Willey BM., McGeer A., Kreiswirth BN., Innis B., Low DE., 2006. Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. Vet Microbiol, 115, 148-155.
 21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2017. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M02-A12/M07-A10, CLSI Standards and Guidelines, Wayne, PA.
 22. Gandolfi-Decristophoris P., Regula G., Petrini O., Zinsstag J., Schelling E., 2013. Prevalence and risk factors for carriage of multidrug resistant staphylococci in healthy cats and dogs. J Vet Sci, 14, 449-456.
 23. Detwiler A., Bloom P., Petersen A., Rosser EJ., 2013. Multi-drug and methicillin resistance of staphylococci from canine patients at a veterinary teaching hospital (2006–2011). Vet Quart, 33, 60-67.
 24. Kaspar U., von Lützu A., Schlattmann A., Roesler U., Köck R., Becker K., 2018. Zoonotic multidrug-resistant microorganisms among small companion animals in Germany. PLoS One 13, 12, e0208364.
 25. Bannoehr J., Franco A., Iurescia M., Battisti A., Fitzgerald J., 2009. Molecular diagnostic identification of *Staphylococcus pseudintermedius*. J Clin Microbiol, 47, 469-471.
 26. Qekwana DN., Sebola D., Oguttu JW., Odoi A., 2017. Antimicrobial resistance patterns of *Staphylococcus* species isolated from cats presented at a veterinary academic hospital in South Africa. BMC Vet Res, 13, 286-292.
 27. Saputra S., Jordan D., Worthing KA., Norris JM., Wong HS., Abraham R., Trott DJ., Abraham S., 2017. Antimicrobial resistance in coagulase-positive staphylococci isolated from companion animals in Australia: a one year study. PLoS One 12, 4:e0176379.
 28. Loeffler A., Linek M., Moodley A., Guardabassi L., Sung JML., Winkler M., Weiss R. and Lloyd DH., 2007. First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. Vet Dermatol, 18, 412-421.
 29. Findik A., Çiftci A., Önyay T., Sezener MG., Koçak Y., Gülhan T., 2018. Determination of methicillin resistance and some genotypic characteristics of staphylococci isolated from dogs and their owners. Turk J Vet Anim Sci, 42, 549-555.
 30. Vincze S., Stamm I., Kopp PA., Hermes J., Adlhoch C., Semmler T., Wieler LH., Lübbe-Becker A., Walther B., 2014. Alarming proportions of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in wound samples from companion animals, Germany 2010-2012. PLoS One 9, 1, e85656.
 31. Ludwig C., de Jong A., Moyaert H., El Garch F., Janes R., Klein U., Morrissey I., Thiry J. and Youala M., 2016. Antimicrobial susceptibility monitoring of dermatological bacterial pathogens isolated from diseased dogs and cats across Europe (ComPath results). J Appl Microbiol, 121, 1254-1267.
 32. Kizerwetter-Swida M., Chrobak D., Rzewuska M., Binek M., 2009. Antibiotic resistance patterns and occurrence of *mecA* gene in *Staphylococcus*

- intermedius* strains of canine origin. Pol J Vet Sci, 12, 9-13.
33. Stegmann R., Burnens A., Maranta CA. Perreten V.,2010. Human infection associated with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71. J Antimicrob Chemother, 65, 2047-2048.
34. Talan DA., Goldstein EJ., Staats D., Overturf GD.,1989. *Staphylococcus intermedius*: clinical presentation of a new human dog bite pathogen. Ann Emerg Med, 18, 410-413.



Van Kedilerinde Skeleton Manus'un Bilgisayarlı Tomografi ile Üç Boyutlu Olarak İncelenmesi*

Osman YILMAZ^{1a}, Zafer SOYGÜDER^{1b}, Alpaslan YAVUZ^{2c}

1. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.
2. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Radyoloji Anabilim Dalı, Van, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0003-2013-9213^a, 0000-0002-0489-5062^b, 0000-0002-8796-988X^c

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
18.05.2020	24.06.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Yılmaz O, Soygüder Z, Yavuz A: Van Kedilerinde Skeleton Manus'un Bilgisayarlı Tomografi ile Üç Boyutlu Olarak İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 167-176, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.739094

Öz: Bu çalışma, Van kedilerinde skeleton manus (ossa carpi, ossa metacarpalia I-V ve ossa digitorum manus)'un bilgisayarlı tomografi (BT) ile üç boyutlu (3B) rekonstrüksiyonunu yapmak, osteometrik ölçümlerini belirlemek ve bu ölçüm değerlerinin erkek ve dişi kediler arasındaki biyometrik farklılıklarının belirlenmesi amacıyla yapıldı. Çalışmada 16 adet (8 dişi, 8 erkek) yetişkin Van kedisi kullanıldı. Xylazin-ketamin kombinasyonu ile anesteziye alınan kedilerin BT ile taranarak görüntüleri elde edildi. Daha sonra bu axial imajlar DICOM formatında işlenmek üzere iş istasyonuna aktarıldı ve 3B modelleme programı olan Syngo CT kullanılarak rekonstrüksiyon işlemi yapıldı. Üç boyutlu hale getirilen rekonstrüksiyon görüntülerindeki kemikler anatomik özellikleri bakımından incelendi. Bu görüntülerden volümetrik ve morfometrik ölçüm değerleri elde edilerek, istatistiki olarak analizi yapıldı. Morfometrik analiz sonuçlarına bakıldığında, ossa carpi, ossa metacarpalia I-V ve ossa digitorum manus'un ölçüm değerleri bakımından erkek ve dişi Van kedilerinde istatistiksel farklılıklar olduğu görüldü ($P<0.05$). Ossa carpi, ossa metacarpalia I-V ve ossa digitorum manus'un volümetrik ölçüm değerlerinin ise erkek kedilerde dişi kedilere göre istatistiki olarak önemli seviyede daha fazla olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Sonuç olarak, Van kedilerinde skeleton manus volümetrik, morfometrik ve morfolojik olarak değerlendirildi. Bu kemiklerin osteometrik ölçüm değerlerinin istatistiksel olarak cinsiyetler arasındaki biyometrik farklılıkları belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Bilgisayarlı tomografi, Üç boyutlu rekonstrüksiyon, Skeleton manus, Van kedisi.

Three-Dimensional Investigation by Computed Tomography of The Skeleton Manus in Van Cats

Abstract: This study aimed to obtain the three-dimensional (3D) reconstruction by computed tomography (CT) and the osteometric measurements of the skeleton manus (ossa carpi, ossa metacarpalia I-V ve ossa digitorum manus) in adults Van cats, and to determine the biometric differences between these measurement values in male and female cats. In the study, 16 adult Van cats (8 females, 8 males) were used. The cats that were anesthetized with the xylazine-ketamine combination were scanned by CT device, and images of skeleton manus were obtained. These axial images were transferred to the workstation for processing in DICOM format and then reconstruction was performed using Syngo CT, a 3D reconstruction program. The bones in three-dimensional reconstruction images were evaluated for their anatomical features. Volumetric and morphometric measurement values were obtained from these images and statistical analyzes were done. In the results of morphometric analyses, statistically significant differences ($P<0.05$) were seen between measured values of the carpal bones, metacarpal I-V bones and phalanges of the digits in male and female Van cats. The volumetric measurement values of the carpal bones, metacarpal I-V bones and phalanges of the digits were statistically significantly greater in male cats than in female cats ($P<0.05$). In conclusion, the carpal bones, metacarpal I-V bones and phalanges of the digits were evaluated volumetric, morphometric, and morphologically in Van cats. The biometric differences between the osteometric measurement values of these bones in both sexes were examined statistically.

Keywords: Computed tomography, Skeleton manus, Three-dimensional reconstruction, Van cat.

✉ Osman Yılmaz

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, TÜRKİYE.
e-posta: osman_40_5@hotmail.com

* Bu çalışma, birinci yazarın "Van Kedilerinde Ön Bacak İskeletinin Bilgisayarlı Tomografi ile Üç Boyutlu Olarak İncelenmesi" isimli doktora tezinin bir bölümünden oluşmaktadır ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2017-5905 proje numarası ile desteklenmiştir.

GİRİŞ

Van yöresinde yetişen ve ismini buradan alan Van kedileri, farklı göz rengi, üçgen şeklinde kafa yapısı, uzun vücut yapısı, vücutlarında değişik boylarda (kısa, orta, uzun) ve yumuşak tüyler (genellikle fildişi renginde) bulundurması, bol tüylü kuyruğu, temizliği, yüzmeyi sevmesi, zekiliği ve üstün öğrenme yeteneğiyle dikkat çekmektedir (1).

Skeleton manus (autopodium), proximal'den distal'e doğru, ossa carpi (basipodium), ossa metacarpalia (metapodium) ve ossa digitorum manus (acropodium)'tan oluşur (2-4). Skeleton manus'ta memeli hayvanların yaşam koşullarına uygun olarak ve yere basış şekillerine göre bazı özel modifikasyonlar görülür. Memeli hayvanlar yere basış şekillerine göre, plantigrad (tabanlarıyla yere basanlar; insan, maymun, ayı gibi), digitigrad (parmakları ile yere basanlar; carnivorlar gibi) ve unguligrad (tırnakları ile yere basanlar; equus, ruminant ve sus gibi) memeliler olmak üzere 3 gruba ayrılırlar. Plantigrad ve digitigrad'ların ön ayağında normal gelişmesine uygun olarak bütün parmaklar (beş adet) mevcuttur. Unguligrad'lardan equus'ta bir parmak (3. parmak), ruminant'ta iki parmak (3. ve 4. parmaklar), sus'ta dört parmak (2., 3., 4., ve 5. parmaklar) vardır (5).

Son zamanlarda bilgisayarlı tomografi gibi medikal görüntüleme yöntemleri ve üç boyutlu modellemeler sayesinde anatomi öğretiminde önemli değişiklikler meydana gelmiştir (6,7). Özellikle kedi, köpek gibi küçük pet hayvanlarında bilgisayarlı tomografi ve üç boyutlu rekonstrüksiyon programları iskelet sistemindeki anatomik yapıların morfolojik, morfometrik, volümetrik ve patolojik olarak değerlendirilmesinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (8,9).

Bu çalışmada Yetişkin Van kedilerinde skeleton manus (ossa carpi, ossa metacarpalia I-V ve ossa digitorum manus)'un, bilgisayarlı tomografi görüntülerinden üç boyutlu rekonstrüksiyonu

yapılarak anatomi eğitimi açısından kullanılmasının sağlanması, morfolojik olarak incelenmesi, morfometrik ve volümetrik ölçüm değerlerinin elde edilmesi, bu ölçüm değerlerinin cinsiyetler arasındaki biyometrik farklılıkların ortaya konulması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Yapılan çalışmada Van Kedisi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden elde edilen 3100- 6000 gr (erkeklerde ortalama ağırlık 4912.5 gr, dişilerde ortalama ağırlık 3600 gr) ağırlığında, 4 ile 6 yaşları arasında toplam 16 adet erişkin Van kedisi (8 dişi, 8 erkek) kullanıldı. Sunulan bu çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi (Van YYÜ) Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 26.01.2017 ve 2017/01 sayılı kararı ile gerçekleştirildi.

Anestezi

BT uygulamasına alınan kedilerin anestezisi için, Xylazine (Alfazyne®, 1-2 mg/kg) ile Ketamine (Ketasol®, 15 mg/kg) kombinasyonu kullanıldı.

Bilgisayarlı Tomografi Görüntülerinin Alınması

Kedilerin BT tetkikleri için Van YYÜ Tıp Fakültesi Radyoloji Ana Bilim Dalı'nda mevcut 16 dedektörlü çok kesitli BT cihazı (Somatom Sensation 16; Siemens Medical Solutions, Erlangen, Germany) kullanıldı. Anestezi altındaki kediler, prone pozisyonunda simetrik bir şekilde gantri içerisine yerleştirildi. Çekim sırasında BT cihazı parametreleri; kesit kalınlığı, 0.75 mm; fiziksel dedektör collimation, 16×0.6 mm; kernel, U90u; rotation time (sec) değerleri/effective mAs/KV, 0.75/120/120; resolution, 512×512 pixel; gantry rotation period, 420 ms; final section colimation, 32×0.63 mm; increment, 0.5 mm; feed/rotation, 6 mm olacak şekilde belirlendi. BT uygulama dozlarının parametreleri literatürler esas alınarak gerçekleştirildi (10,11). Elde edilen imajlar

DICOM formatında işlenmek üzere iş istasyonuna (Leonardo, Siemens Medical Solutions, Erlangen, Germany) aktarıldı.

Görüntülerin Üç Boyutlu Rekonstrüksiyonu ve Ölçümlerinin Alınması

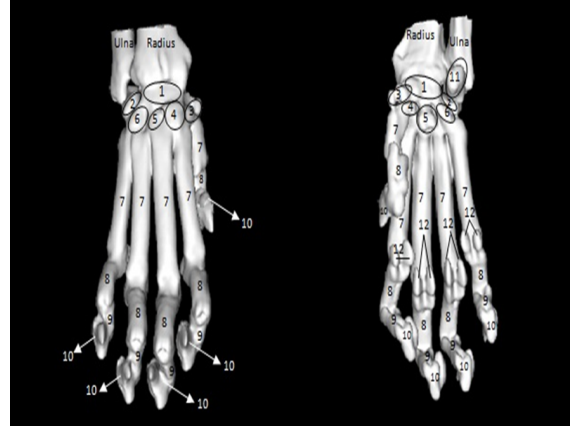
Görüntülerin 3 boyutlu (3B) rekonstrüksiyonları iş istasyonunda bulunan Syngo CT software kapsamındaki "volume rendering plus InSpace MPR" yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. 3B görüntü rekonstrüksiyonları 0.75 mm kalınlıkta oluşturuldu.

Üç Boyutlu Rekonstrüksiyon Görüntülerinin Değerlendirilmesi

İş istasyonundaki yazılım programı kullanılarak, elde edilen 3B rekonstrüksiyon görüntülerindeki yapılar; anatomik, morfometrik ve volümetrik olarak değerlendirildi.

Anatomik Değerlendirme: Üç boyutlu rekonstrüksiyonu gerçekleştirilen ossa carpi, ossa metacarpalia I-V ve ossa digitorum manus'un öncelikle yazılım programı kullanılarak anatomik yapıları belirlendi (Şekil 1). Daha sonra kemikler üzerinde yer alan yapıların, anatomik özellikleri

bakımında morfolojik olarak değerlendirilmeleri yapıldı.



Şekil 1. Van Kedilerinde skeleton manus'un cranial ve caudal'den görünümü. 1- Os carpi intermedioradiale; 2- Os carpi ulnare; 3- Os carpale- I; 4- Os carpale- II; 5- Os carpale- III; 6- Os carpale- IV; 7- Ossa Metacarpalia I-V; 8- Phalanx proximalis; 9- Phalanx media; 10- Phalanx distalis; 11- Os carpi accessorium; 12- Ossa sesamoidea proximalia.

Figure 1. The view of the skeleton manus from cranial and caudal in Van Cats. 1- Os carpi intermedioradiale; 2- Os carpi ulnare; 3- Os carpale- I; 4- Os carpale- II; 5- Os carpale- III; 6- Os carpale- IV; 7- Ossa Metacarpalia I-V; 8- Phalanx proximalis; 9- Phalanx media; 10- Phalanx distalis; 11- Os carpi accessorium; 12- Ossa sesamoidea proximalia.

Tablo 1. Skleton manus'un morfometrik ölçüm noktaları ve kısaltması (cm).

Table 1. Measurement points and abbreviations of the skeleton manus (cm).

Kısaltma	Açıklama
Ossa carpi'nin morfometrik ölçümleri için kullanılan referans noktaları	
CU	Uzunluk: Ossa carpi'nin proximal ucu ile distal ucu arasındaki mesafe
CG	Genişlik: Ossa carpi'nin lateral ucu ile medial ucu arasındaki mesafe
CİU	Os carpi intermedioradialis uzunluk: Kemiğin dorso-ventral uzaklığı
CİG	Os carpi intermedioradialis genişlik: Kemiğin latero-medial uzaklığı
CUU	Os carpi ulnare uzunluk: Kemiğin dorso-ventral uzaklığı
CUG	Os carpi ulnare genişlik: Kemiğin latero-medial uzaklığı
CAU	Os carpi accessorium uzunluk: Kemiğin dorso-ventral uzaklığı
CAG	Os carpi accessorium genişlik: Kemiğin latero-medial uzaklığı
CU- I, II, III, IV	Os carpale- I, II, III, IV uzunluk: Kemiklerin dorso-ventral uzaklığı
CG-I, II, III, IV	Os carpale- I, II, III, IV genişlik: Kemiklerin latero-medial uzaklığı
Ossa metacarpalia I-V'in morfometrik ölçümleri için kullanılan referans noktaları	
MU-I, II, III, IV	Os metacarpale-I, II, III, IV, V uzunluk: Kemiklerin proximal ucu ile distal ucu arasındaki mesafe
MPLL-I, II, III, IV	Os metacarpale- I, II, III, IV, V proximal L-L çapı: Kemiklerin proximal latero-lateral uzaklığı
MPCC-I, II, III, IV	Os metacarpale- I, II, III, IV, V proximal C-C çapı: Kemiklerin proximal cranio-caudal uzaklığı
MMLL-I, II, III, IV	Os metacarpale- I, II, III, IV, V medial L-L çapı: Kemiklerin orta noktasının latero-lateral uzaklığı

Tablo 1. Skleton manus'un morfometrik ölçüm noktaları ve kısaltması (cm) (DEVAMI).**Table 1.** Measurement points and abbreviations of the skeleton manus (cm) (CONTINUE).

Kısaltma	Açıklama
MMCC-I, II, III, IV	Os metacarpale- I, II, III, IV, V medial C-C çapı: Kemiklerin orta noktasının cranio-caudal uzaklığı
MDLL-I, II, III, IV	Os metacarpale- I, II, III, IV, V distal L-L çapı: Kemiklerin distal latero-lateral uzaklığı
MDCC-I, II, III, IV	Os metacarpale- I, II, III, IV, V distal C-C çapı: Kemiklerin distal cranio-caudal uzaklığı
Ossa digitorum manus'un morfometrik ölçümleri için kullanılan referans noktaları	
PPU-1, 2, 3, 4, 5	Phalanx proximalis 1,2,3,4,5 uzunluk: Kemiklerin proximal ucu ile distal ucu arasındaki mesafe
PPG-1, 2, 3, 4, 5	Phalanx proximalis 1,2,3,4,5 genişlik: Kemiklerin orta noktasının latero-lateral uzaklığı
PMU-2, 3, 4, 5	Phalanx media 2,3,4,5 uzunluk: Kemiklerin proximal ucu ile distal ucu arasındaki mesafe
PMG-2, 3, 4, 5	Phalanx media 2,3,4,5 genişlik: Kemiklerin orta noktasının latero-lateral uzaklığı
PDU-1, 2, 3, 4, 5	Phalanx distalis 1,2,3,4,5 uzunluk: Kemiklerin proximal ucu ile distal ucu arasındaki mesafe
PDG-1, 2, 3, 4, 5	Phalanx distalis 1,2,3,4,5 genişlik: Kemiklerin orta noktasının latero-lateral uzaklığı

b. Morfometrik Değerlendirme: Anatomik yapıdaki morfometrik ölçümler (uzunluk, çap, en, boy vs.), iş istasyonu üzerindeki görüntülerden ve oluşturulmuş 3B rekonstrüksiyon imajlarından elektronik kaliperler ile yapıldı. Kemikler üzerindeki noktaların morfometrik ölçümleri yapılırken referans noktaları literatür (12) temel alınarak, Tablo 1'de verildi.

c. Volümetrik değerlendirme: Ossa carpi, ossa metacarpalia I-V, ossa digitorum manus'un volüm ölçümlerini hesaplamak amacıyla, iş istasyonu üzerinde aksiyel görüntülerden her bir kemiksel yapı için, kemiğin girdiği bütün kesitler kemik korteksini de içine alacak şekilde çizildi. Çizilen kemik konturları iş istasyonunda bulunan Syngo CT software kapsamındaki "BT volum aplikasyonu (CT volume applications)" aracılığıyla birleştirilerek volümetrik ölçümler elde edildi. Ayrıca, çalışmada kullanılan terminolojik ifadelerde Nomina Anatomica Veterinaria (13) temel alındı.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada, Van kedilerinin ossa carpi, ossa metacarpalia I-V, ossa digitorum manus'un bilgisayarlı tomografiyle üç boyutlu olarak incelenmesi sonucunda elde edilen veriler için tanımlayıcı istatistikler; ortalama, standart sapma, maksimum ve minimum değerler olarak; kategorik değişkenler ise yüzde ve sayı olarak ifade edildi.

Ölçülen değerlerin sürekli değişkenler bakımından grup ortalamalarını karşılaştırmada Mann-Whitney U analizi yapılmıştır. Bu değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemede gruplarda ayrı ayrı olmak üzere Spearman korelasyon katsayıları hesaplanmıştır. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %1 ve %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (IBM SPSS for Windows, Ver. 23) istatistik paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Ossa carpi'nin Morfolojik, Morfometrik ve Volümetrik Değerlendirilmesi

Ossa carpi'nin proximal ve distal olmak üzere iki sıradan oluştuğu gözlemlendi. Proximal'de os carpi intermedioradiale, os carpi ulnare ve os carpi accessorium olmak üzere 3 adet; distal sırada ise os carpale- I, os carpale- II, os carpale- III ve os carpale- IV olmak üzere 4 adet kemik tespit edildi. Bu kemiklerden proximal sıra kemikleri arasında os carpi intermedioradiale'nin en geniş, distal sıra kemikleri arasında ise os carpale-IV'ün en geniş, os carpale-III'ün en kısa kemik olduğu saptandı.

Cinsiyete göre ossa carpi ölçüm değerleri Tablo 2'de verildi. Buna göre kedilerdeki ossa carpi'ye ait total volüm, CU, CG, CİU, CİG, CUG, CAU, CAG, CU- I, CG- I, CU- III, CG- III ve CG- IV ölçüm değerlerinin erkek kedilerde dişi kedilere göre istatistiki olarak anlamlı seviyede daha fazla olduğu görüldü (P<0.05).

Tablo 2. Cinsiyete göre ossa carpi değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırılması.**Table 2.** Descriptive statistics and comparison of the measurements of the ossa carpi by gender.

Parametere	Erkek				Dişi				*P.
	Ort.	Std. Sap	Min.	Max.	Ort.	Std. Sap	Min.	Max.	
CU	0.91	0.03	0.88	0.95	0.80	0.08	0.68	0.90	0.001
CG	1.83	0.01	1.81	1.85	1.55	0.06	1.49	1.67	0.001
CiU	0.60	0.05	0.51	0.65	0.44	0.03	0.4	0.49	0.001
CiG	0.86	0.05	0.76	0.92	0.76	0.06	0.68	0.86	0.002
CUU	0.63	0.09	0.55	0.84	0.57	0.05	0.5	0.63	0.088
CUG	0.56	0.03	0.51	0.59	0.49	0.03	0.44	0.52	0.001
CAU	0.87	0.03	0.83	0.94	0.67	0.04	0.61	0.75	0.001
CAG	0.46	0.05	0.41	0.56	0.42	0.03	0.38	0.45	0.032
CU-I	0.74	0.03	0.69	0.8	0.64	0.06	0.52	0.72	0.001
CG-I	0.54	0.05	0.47	0.60	0.45	0.01	0.43	0.47	0.001
CU-II	0.54	0.05	0.5	0.64	0.51	0.03	0.45	0.55	0.109
CG-II	0.45	0.05	0.35	0.50	0.43	0.03	0.39	0.47	0.176
CU-III	0.39	0.02	0.35	0.42	0.36	0.03	0.3	0.39	0.027
CG-III	0.44	0.03	0.41	0.50	0.31	0.04	0.25	0.36	0.001
CU-IV	0.49	0.03	0.45	0.54	0.45	0.06	0.32	0.50	0.142
CG-IV	0.64	0.04	0.58	0.68	0.59	0.05	0.48	0.63	0.035
Total Volüm (cm ³)	0.99	0.04	0.95	1.06	0.72	0.04	0.66	0.79	0.001

* Mann-Whitney U testi sonuçları; P<0.05 olanlar istatistik olarak anlamlı bulunmuştur; Ort.: Ortalama; Std. Sap: Standart Sapma; Min.: Minimum; Max.: Maksimum; CU: Ossa carpi'nin uzunluk; CG: Ossa carpi'nin genişlik; CiU: Os carpi intermedioradialis uzunluk; CiG: Os carpi intermedioradialis genişlik; CUU: Os carpi ulnare uzunluk; CUG: Os carpi ulnare genişlik; CAU; Os carpi accessorium uzunluk; CAG: Os carpi accessorium genişlik; CU- I, II, III, IV: Os carpale- I, II, III, IV uzunluk; CG-I, II, III, IV: Os carpale- I, II, III, IV genişlik.

* Mann-Whitney U test results; P <0.05 were found statistically significant; Mean, Std. Dev: Standard Deviation; Min.: Minimum; Max.: Maximum; CU: Ossa carpi length; CG: Ossa carpi width; CiU: Os carpi intermedioradialis length; CiG: Os carpi intermedioradialis width; CUU: Os carpi ulnare length; CUG: Os carpi ulnare width; CAI; Os carpi accessorium length; CAG: Os carpi accessorium width; CU- I, II, III, IV: Os carpale- I, II, III, IV length; CG-I, II, III, IV: Os carpale- I, II, III, IV width.

Ossa metacarpalia I-V 'in Morfolojik, Morfometrik ve Volümetrik Değerlendirilmesi

Metacarpal kemiklerin medial'den lateral'e doğru, os metacarpale-I, os metacarpale-II, os metacarpale-III, os metacarpale-IV ve os metacarpale-V şeklinde sıralandığı tespit edildi. Kemiklerin uzunlukları küçükten büyüğe doğru sırasıyla; os metacarpale-I, os metacarpale-V, os metacarpale-II, os metacarpale-IV ve os metacarpale-III olduğu tespit edildi. Ayrıca, orta kısımlarının cavum medullare çaplarına bakıldığında bu sıranın, os metacarpale-I, os metacarpale-V, os metacarpale-IV, os metacarpale-II ve os metacarpale-III şeklinde olduğu gözlemlendi.

Cinsiyete göre os metacarpale I-V ölçüm değerleri Tablo 3'de verildi. Buna göre os metacarpale-I'e ait MU-I, MPLL-I, MMLL-I, MMCC-I, MDLL-I, MDLL-I ve MDCC-I ölçüm değerlerinin; os metacarpale-II'ye ait tüm ölçüm değerlerinin; os metacarpale-III'ye ait MU-III, MPLL-III, MPCC-III, MMCC-III, MDLL-III ve MDCC-III değerlerinin; os metacarpale-IV'ye ait MU-IV, MPLL-IV, MPCC-IV, MMLL-IV, MMCC-IV ve MDLL-IV ölçüm değerlerinin; os metacarpale-V'ye ait MU-V, MPLL-V, MMLL-V, MMCC-V ve MDLL-V ölçüm değerlerinin ve ossa metacarpalia I-V total volüm değerlerinin erkek kedilerde dişi kedilere göre istatistik olarak önemli seviyede daha fazla olduğuna rastlandı (P<0.05).

Tablo 3. Cinsiyete göre ossa metacarpalia I-V değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırılması.**Table 3.** Descriptive statistics and comparison of the measurements of the ossa metacarpalia I-V by gender.

Parametere	Erkek				Dişi				*P.
	Ort.	Std. Sap	Min.	Max.	Ort.	Std. Sap	Min.	Max.	
MU-I	1.08	0.06	1.01	1.15	0.87	0.04	0.81	0.93	0.001
MPLL-I	0.41	0.01	0.38	0.42	0.34	0.02	0.30	0.36	0.001
MPCC-I	0.45	0.02	0.41	0.47	0.44	0.02	0.42	0.47	0.400
MMLL-I	0.39	0.02	0.36	0.43	0.34	0.03	0.29	0.40	0.006
MMCC-I	0.51	0.02	0.47	0.54	0.39	0.01	0.38	0.42	0.001
MDLL-I	0.45	0.03	0.42	0.49	0.36	0.02	0.33	0.38	0.001
MDCC-I	0.48	0.02	0.43	0.50	0.42	0.02	0.40	0.45	0.001
MU-II	2.67	0.08	2.54	2.77	2.12	0.04	2.06	2.18	0.001
MPLL-II	0.45	0.02	0.42	0.49	0.41	0.02	0.38	0.43	0.001
MPCC-II	0.45	0.03	0.40	0.48	0.38	0.02	0.36	0.43	0.001
MMLL-II	0.43	0.03	0.37	0.47	0.37	0.01	0.35	0.39	0.001
MMCC-II	0.40	0.04	0.36	0.48	0.33	0.02	0.31	0.36	0.001
MDLL-II	0.50	0.02	0.47	0.55	0.42	0.05	0.37	0.51	0.002
MDCC-II	0.43	0.03	0.39	0.48	0.35	0.03	0.30	0.39	0.001
MU-III	3.20	0.14	2.98	3.40	2.66	0.10	2.53	2.82	0.001
MPLL-III	0.48	0.03	0.41	0.51	0.38	0.08	0.28	0.49	0.004
MPCC-III	0.43	0.03	0.39	0.47	0.36	0.04	0.30	0.42	0.002
MMLL-III	0.42	0.01	0.40	0.43	0.40	0.04	0.33	0.44	0.138
MMCC-III	0.40	0.03	0.38	0.46	0.37	0.02	0.34	0.39	0.014
MDLL-III	0.52	0.01	0.50	0.54	0.39	0.03	0.34	0.42	0.001
MDCC-III	0.41	0.02	0.38	0.46	0.36	0.03	0.31	0.40	0.003
MU-IV	2.96	0.15	2.74	3.12	2.54	0.06	2.47	2.61	0.001
MPLL-IV	0.39	0.03	0.36	0.43	0.33	0.02	0.30	0.36	0.001
MPCC-IV	0.42	0.03	0.39	0.48	0.36	0.01	0.34	0.38	0.001
MMLL-IV	0.39	0.03	0.32	0.44	0.33	0.02	0.30	0.36	0.001
MMCC-IV	0.43	0.02	0.40	0.45	0.39	0.04	0.35	0.46	0.034
MDLL-IV	0.44	0.04	0.40	0.50	0.37	0.03	0.32	0.40	0.001
MDCC-IV	0.41	0.03	0.38	0.45	0.40	0.02	0.36	0.42	0.245
MU-V	2.54	0.10	2.41	2.68	2.07	0.06	2.00	2.15	0.001
MPLL-V	0.39	0.02	0.34	0.41	0.33	0.02	0.31	0.35	0.001
MPCC-V	0.49	0.03	0.45	0.52	0.46	0.03	0.40	0.49	0.052
MMLL-V	0.39	0.02	0.34	0.41	0.33	0.02	0.31	0.35	0.001
MMCC-V	0.49	0.05	0.41	0.55	0.40	0.02	0.38	0.44	0.001
MDLL-V	0.45	0.02	0.41	0.48	0.38	0.02	0.36	0.41	0.001
MDCC-V	0.42	0.03	0.38	0.46	0.41	0.02	0.36	0.42	0.310
Total Volüm (cm ³)	2.69	0.19	2.40	2.90	1.65	0.10	1.50	1.81	0.001

* Mann-Whitney U testi sonuçları; P<0.05 olanlar istatistik olarak anlamlı bulunmuştur; Ort.: Ortalama; Std. Sap: Standart Sapma; Min.; Minimum; Max.: Maximum; MU-I, II, III, IV: Os metacarpale-I, II, III, IV, V uzunluk; MPLL-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V proximal L-L çapı; MPCC-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V proximal C-C çapı; MMLL-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V medial L-L çapı; MMCC-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V medial C-C çapı; MDLL-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V distal L-L çapı; MDCC-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V distal C-C çapı.

* Mann-Whitney U test results; P <0.05 were found statistically significant; Mean; Std. Dev: Standard Deviation; Min.; Minimum; Max.: Maximum; MU-I, II, III, IV: Os metacarpale-I, II, III, IV, V length; MPLL-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V proximal L-L diameter; MPCC-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V proximal C-C diameter; MMLL-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V medial L-L diameter; MMCC-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V medial C-C diameter; MDLL-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V distal L-L diameter; MDCC-I, II, III, IV: Os metacarpale- I, II, III, IV, V distal C-C diameter.

Ossa digitorum manus'un Morfolojik, Morfometrik ve Molümetrik Değerlendirilmesi

Ossa digitorum manus'ta toplam beş adet parmak olduğu görüldü. Birinci parmak haricinde, diğer parmak kemiklerinin her biri proximal'den distal'e doğru sırasıyla; phalanx proximalis, phalanx

media ve phalanx distalis'ten oluşmaktaydı. Birinci parmakta ise bu kemiklerden phalanx media'nın olmadığı saptandı. Tüm parmak kemiklerinde (birinci parmak hariç) phalanx media'nın, phalanx proximalis'in yarısından daha uzun olduğu gözlemlendi. Phalanx distalis'in her iki yandan basık olduğu ve uç kısmının tırnak gibi sivrilmiş olduğu tespit edildi.

Bununla birlikte phalanx distalis'te tuberculum flexorium ve proc. extensorius yapılarının belirgin bir şekilde geliştiği gözlemlendi. Ayrıca her bir phalanx distalis'in küçük bir tırnakla sonlandığı gözlemlendi.

Cinsiyete göre ossa digitorum manus ölçüm değerleri Tablo 4'te verildi. Buna göre kedilerdeki phalanx proximalis'e ait tüm ölçüm değerlerinin;

phalanx media'ya ait PMU-III, PMG-III, PMU-IV ve PMG-V ölçüm değerlerinin; phalanx distalis' ait PDU-I, PDG-I, PDU- II, PDG-II, PDG-IV, PDU- V ve PDG-V ölçüm değerlerinin ve ossa digitorum manus total volüm değerlerinin erkek kedilerde dişi kedilere göre istatistik olarak önemli seviyede daha fazla olduğu görüldü (P<0.05).

Tablo 4. Cinsiyete göre ossa digitorum manus değerlerinin tanımlayıcı istatistikleri ve karşılaştırılması.

Table 4. Descriptive statistics and comparison of the measurements of the ossa digitorum manus by gender.

Parametere	Erkek				Dişi				*P.
	Ort.	Std. Sap	Min.	Max.	Ort.	Std. Sap	Min.	Max.	
PPU-1	0.88	0.05	0.80	0.93	0.82	0.06	0.73	0.88	0.031
PPG-1	0.43	0.04	0.38	0.51	0.37	0.02	0.35	0.39	0.002
PPU-2	1.21	0.12	1.02	1.38	1.08	0.08	0.98	1.20	0.023
PPG-2	0.49	0.04	0.41	0.53	0.40	0.03	0.37	0.45	0.001
PPU-3	1.34	0.16	1.12	1.63	1.14	0.04	1.06	1.20	0.004
PPG-3	0.47	0.03	0.42	0.51	0.42	0.02	0.40	0.45	0.001
PPU-4	1.40	0.06	1.28	1.49	1.16	0.04	1.10	1.21	0.001
PPG-4	0.42	0.03	0.38	0.47	0.36	0.02	0.34	0.39	0.001
PPU-5	1.13	0.04	1.08	1.20	1.00	0.04	0.93	1.03	0.001
PPG-5	0.41	0.03	0.36	0.47	0.36	0.01	0.34	0.37	0.001
PMU-2	0.78	0.09	0.65	0.90	0.72	0.06	0.60	0.80	0.183
PMG-2	0.38	0.04	0.31	0.42	0.37	0.02	0.35	0.40	0.329
PMU-3	0.94	0.10	0.82	1.10	0.75	0.03	0.71	0.81	0.001
PMG-3	0.42	0.03	0.35	0.44	0.31	0.02	0.28	0.34	0.001
PMU-4	0.92	0.09	0.84	1.08	0.67	0.05	0.62	0.75	0.001
PMG-4	0.41	0.06	0.33	0.50	0.37	0.01	0.35	0.38	0.053
PMU-5	0.86	0.12	0.73	1.00	0.86	0.04	0.80	0.90	0.889
PMG-5	0.40	0.05	0.30	0.46	0.31	0.01	0.30	0.33	0.001
PDU-1	0.76	0.06	0.68	0.86	0.60	0.03	0.56	0.63	0.001
PDG-1	0.67	0.05	0.61	0.75	0.49	0.03	0.43	0.54	0.001
PDU-2	0.78	0.07	0.68	0.89	0.68	0.05	0.62	0.77	0.004
PDG-2	0.62	0.05	0.57	0.70	0.51	0.05	0.42	0.57	0.001
PDU-3	0.74	0.05	0.68	0.80	0.69	0.07	0.58	0.78	0.155
PDG-3	0.60	0.06	0.51	0.67	0.57	0.04	0.49	0.60	0.309
PDU-4	0.83	0.08	0.71	0.93	0.82	0.05	0.76	0.91	0.672
PDG-4	0.73	0.03	0.68	0.79	0.50	0.07	0.42	0.61	0.001
PDU-5	0.84	0.03	0.81	0.87	0.77	0.03	0.74	0.81	0.001
PDG-5	0.74	0.05	0.63	0.80	0.58	0.04	0.52	0.62	0.001
Total Volüm (cm ³)	2.58	0.20	2.24	2.77	1.49	0.11	1.33	1.65	0.001

* Mann-Whitney U testi sonuçları; P<0.05 olanlar istatistik olarak anlamlı (önemli) bulunmuştur; Ort.: Ortalama; Std. Sap: Standart Sapma; Min.: Minimum; Max.: Maximum; PPU-1, 2, 3, 4, 5: Phalanx proximalis 1,2,3,4,5 uzunluk; PPG-1, 2, 3, 4, 5: Phalanx proximalis 1,2,3,4,5 genişlik; PMU-2, 3, 4, 5: Phalanx media 2,3,4,5 uzunluk; PMG-2, 3, 4, 5: Phalanx media 2,3,4,5 genişlik; PDU-1, 2, 3, 4, 5: Phalanx distalis 1,2,3,4,5 uzunluk; PDG-1, 2, 3, 4, 5: Phalanx distalis 1,2,3,4,5 genişlik.

* Mann-Whitney U test results; P < 0.05 were found statistically significant; Mean; Std. Dev: Standard Deviation; Min.; Minimum; Max.: Maximum; PPU-1, 2, 3, 4, 5: Phalanx proximalis 1, 2, 3, 4, 5 length; PPG-1, 2, 3, 4, 5: Phalanx proximalis 1, 2, 3, 4, 5 width; PMU-2, 3, 4, 5: Phalanx media 2, 3, 4, 5 length; PMG-2, 3, 4, 5: Phalanx media 2, 3, 4, 5 width; PDU-1, 2, 3, 4, 5: Phalanx distalis 1, 2, 3, 4, 5 length; PDG-1, 2, 3, 4, 5: Phalanx distalis 1, 2, 3, 4, 5 width.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan çalışmada ossa carpi'nin proximal ve distal olmak üzere iki sıradan oluştuğu, proximal'de os carpi radiale ile os carpi intermedium'un kaynaşarak oluşturduğu os carpi intermedioradiale, os carpi ulnare ve os carpi accessorium olmak üzere 3 adet; distal sırada ise os carpale- I, os carpale- II, os carpale- III ve os carpale- IV olmak üzere 4 adet kemik bulunduğu tespit edilmiştir. Dursun (2), Liebich ve ark. (4), Dyce ve ark. (3), Bahadır ve Yıldız (5), skeleton manus'taki bu kemik sıralarının evcil carnivor'larda da benzer olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Özkan (14), kirpilerde proximal sırada 3, distal sırada 4 adet kemik bulunduğunu, bu kemiklerden proximal sıra kemikleri arasında os carpi intermedioradiale'nin, distal sıra kemikleri arasında ise os carpale-IV'ün en geniş kemik olduğunu bildirmiştir. Kirpi ossa carpi'sinin bu özelliklerinin çalışma verileriyle uyum içerisinde olduğu görülmüştür. Ayrıca, Atalar ve Karan (15), sansarlarda da proximal sırada 3 adet, distal sırada 4 adet ossa carpi'nin bulunduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte, Yılmaz ve ark. (16) oklu kirpilerde ve Karan (17) yaban domuzlarında proximal sırada 4 adet, distal sırada 4 adet; Tobechukwu (18), grascutterlerde proximal sırada 3 adet, distal sırada 5 adet; Saber (19), wombatlarda proximal sırada 4 adet; distal sırada 2 adet ve Özkan (20), mole-ratlarında proximal sırada 2 adet, distal sırada 4 adet ossa carpi'nin olduğunu bildirmişlerdir. Oklu kirpi, yaban domuzu, grascutter, wombat ve mole-rat ossa carpi'lerinde görülen bu kemik sayıları çalışma bulgularını desteklememektedir. Ayrıca Özkan (20) mole-ratlarda ve Dursun (2) tavşanlarda proximal ve distal sıralara arasında os carpi centrale'nin bulunduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada böyle bir bulguya rastlanılmamıştır.

Girgin ve ark. (21) tilki, kurt ve yerli köpeklerde, Yılmaz ve ark. (16) oklu kirpilerde, Özkan (14) kirpilerde, Atalar ve Karan (15) sansarda ve Özkan (20) mole-ratlarında 5 tane metacarpal kemiğin bulunduğunu ve bu kemiklerden ise os metacarpale-III'ün en uzun, os metacarpale-I'in ise en kısa kemik

olduğunu rapor etmişlerdir. Karan ve Atalar (22) sincaplarda, Karan (17) yaban domuzlarında ve Gough-Palmer (23) mirketlerde os metacarpale-I'in bulunmadığından dolayı 4 adet metacarpal kemiğin bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada, 5 tane metacarpal kemiğin bulunduğu ve bu kemiklerin uzunluklarının küçükten büyüğe doğru sırasıyla; os metacarpale-I, os metacarpale-V, os metacarpale-II, os metacarpale-IV ve os metacarpale-III olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan araştırmada ossa digitorum manus'un 5 tane parmandan oluştuğu, sadece birinci parmakta phalanx media'nın olmadığı gözlenmiş olup, bu bulguların literatür verileriyle aynı şekilde olduğu tespit edilmiştir (2-4).

Atalar ve Karan (15) sansarlarda, Karan ve Atalar (22) sincaplarda, Yılmaz ve ark. (16) oklu kirpilerde phalanx media'nın phalanx proximalis'in yaklaşık yarısı kadar olduğunu bildirmelerine rağmen, yapılan çalışmada phalanx media'nın, phalanx proximalis'in yarısından daha uzun olduğu gözlenmiştir.

Dursun (2) evcil Carnivor'larda, Yılmaz ve ark. (16) oklu kirpilerde phalanx distalis'in her iki yandan basık olduğunu, uç kısmının tırnak gibi sivrildiğini, proc. extensorius, tuberculum flexorium ve tuberculum flexorium'un yanlarında for. soleare yapılarının bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada, bu bulgulardan tuberculum flexorium'un yanlarında bulunan for. soleare yapısına rastlanılmamıştır. Ayrıca phalanx distalis'in Bahadır ve Yıldız (5) evcil carnivor'larda, Yılmaz ve ark. (24) su samurlarında, Karan ve Atalar (22) sincaplarda, Atalar ve Karan (15) sansarlarda küçük bir tırnağa sahip olduğunu, Atalar ve Karan (15) porsuklarda ise phalanx distalis'in oldukça büyük bir tırnak taşıdığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada ise phalanx distalis'in evcil carnivor, su samuru, sincap ve sansarlarda olduğu gibi küçük bir tırnakla sonlandığı görülmüştür.

Lokomasyon, hayvan ekolojisinde oldukça önemli bir yer tutmaktadır (25). Skeleton manus ise, tüm canlılarda lokomasyonun önemli bir parçasını oluşturmaktadır (26). Bununla birlikte skeleton manus, özellikle kedi gibi carnivor hayvanlarda

avlarını yakalama-tutma, tırmanma, pençeleme, koşma, hızlanma gibi davranışsal hareketlerin meydana getirilmesinde oldukça önemli bir yer tutmaktadır (23,25,26). Bu duruma paralel olarak yapılan çalışmada Van kedilerinde skeleton manus ayrıntılı bir şekilde morfolojik, morfometrik ve volümetrik olarak incelenmiştir. Bu ölçümlerde skeleton manus kemiklerinin L-M genişliği özellikle dikkat çekmektedir. Bu durum diğer carnivor'larda olduğu gibi avlarını yakalama-tutma, tırmanma, pençeleme, koşma ve hızlanma gibi davranışsal hareketlerin Van kedilerinde de iyi bir şekilde geliştiğini göstermektedir. Bununla birlikte skeleton manus'u oluşturan kemiklerin L-M genişlemesi Van kedilerinde el bölgesinin genişlemesine neden olmaktadır. Ayrıca bu anatomik özelliklerinden dolayı yüzme sporunu diğer kedilerden daha çok seven ve bu sporu kolaylıkla yapan Van kedilerinde, yüzme ve kulaç atma işleminin daha kolay yapıldığı düşünülmektedir.

Bilgisayarlı tomografi ve üç boyutlu yazılım programları, ilgili anatomik yapıdaki morfometrik ölçüm değerlerinin yanı sıra volümetrik ölçüm değerlerinin de elde edilmesine olanak sağlamaktadır (27,28). Bu amaçla yapılan çalışmada Van kedilerinin ön bacak iskeletini oluşturan kemiklere ait volümetrik ölçüm değerleri elde edilmiştir. Cinsiyete göre bu volüm değerlerine bakıldığında, kedilerdeki ossa carpi, ossa metacarpalia I-V ve ossa digitorum manus ölçüm değerlerinin erkek kedilerde dişi kedilere göre istatistik olarak anlamlı seviyede daha yüksek olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak, Van kedilerinde skeleton manus volümetrik, morfometrik ve morfolojik olarak değerlendirildi. Bu kemiklerin osteometrik ölçüm değerlerinin istatistiksel olarak cinsiyetler arasındaki biyometrik farklılıkları belirlendi. Ayrıca bu çalışmanın, Van kedilerinde iskelet sistemi ile ilgili anatomi eğitimi başta olmak üzere, cerrahi ve klinik uygulama alanlarında veteriner hekimlere ve eğitim alan öğrencilere faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Cak B., 2017. Turkish Van cat and Turkish Angora cat: a review. *J Agr Sci Tech A*, 7, 3, 151-159.
2. Dursun N., 2008. Veteriner Anatomi I. Medisan Yayınevi, Ankara.
3. Dyce KM., Sack WO., Wensing CJG., 2002. *Textbook of Veterinary Anatomy*. 3rd ed., Saunders, Philadelphia, United States.
4. Liebich HG., Maierl J., König HE., 2015. Ön bacaklar (membra thoracica). In "Veteriner Anatomi (Evcil Memeli Hayvanlar)". Ed., HE König, HG Liebich (Ed), Çev Ed., İ Kürtül, İ Türkmenoğlu, 6th ed., 151-222, Medipres, Malatya.
5. Bahadır A., Yıldız H., 2008. Veteriner Anatomi: Hareket Sistemi & İç Organlar. Ezgi Kitabevi, Bursa.
6. Brenton H., Hernandez J., Bello F., Strutton P., Purkayastha S., Firth T., Darzi A., 2007. Using multimedia and web 3D to enhance anatomy teaching. *Comput Educ*, 49, 32-53.
7. Özkadif S., Haligur A., Eken E., 2019. A three-dimensional reconstruction of the scapula in the red fox (*Vulpes vulpes*). *Indian J Anim Res*, 53, 336-340.
8. Ohlerth S., Scharf G., 2007. Computed tomography in small animals-basic principles and state of the art applications. *Vet J*, 173, 254-71.
9. Yılmaz O., Soyguder Z., Yavuz A. 2020. Three-dimensional investigation by computed tomography of the clavicle and scapula in Van cats. *Van Vet J*, 31, 1, 34-41.
10. Prokop M., 2003. General principles of MDCT. *Eur J Radiol*, 45, 4-10.
11. Kalra MK., Maher MM., Toth TL., Hamberg LM., Blake MA., Shepard J., Saini S., 2004. Strategies for CT radiation dose optimization. *Radiology*, 230, 619-628.
12. Von Den Driesch A., 1976. A guide to the

- measurement of animal bones from archaeological sites. Peabody Museum Bulletins, Harvard University, The United States of America.
13. Nomina Anatomica Veterinaria., 2017. Prepared by the international committes on veterinary gross anatomical nomenclature and authorized by the general assambly of the world association of veterinary anatomists. 6th Ed., the editorial committee Hanover (Germany), Ghent (Belgium), Columbia, MO (U.S.A.), Rio de Janeiro (Brazil).
 14. Özkan ZE., 2004. Macro-anatomical investigations on the Hedgehog skeleton (*Erinaceus europaeus*) I- Ossa membri thoracici. Turk J Vet Anim Sci, 28, 271-274.
 15. Atalar Ö., Karan M., 2002. Macro-anatomical investigations on the skeletons of Marten (*Martes foina*) I. Ossa membri thoracici. FÜ Sağlık Bil Dergisi, 16, 2, 229-232.
 16. Yılmaz S., Özkan ZE., Özdemir D., 1998. Macro-anatomical investigations on the skeletons of Porcupine (*Hystrix cristata*) I. Ossa membri thoracici. Turk J Vet Anim Sci, 22, 389-392.
 17. Karan M., 2012. Macro-anatomical study of ossa membri thoracici in the Feral pigs (*Sus scrofa*). FÜ Sağ Bil Vet Derg, 26, 1, 17-20.
 18. Tobeckukwu OK., Adeniyi OS., Olajide HJ., Tavershima D., Sulaiman SO., 2015. Macro-anatomical and morphometric studies of the Grasscutter (*Thryonomys winderianus*) forelimb skeleton. Int J Vet Sci Anim Husb, 2, 006-012.
 19. Saber AS., 2013. Some morphological observations on the thoracic limb bones of the Hairy-Nosed Wombat (*Lasiornhinus latifornis*, Owen). J Vet Anat, 6, 93-109.
 20. Özkan ZE., 2002. Macro-anatomical investigations on the forelimb skeleton of Mole-Rat (*Spalax leucodon nordmann*). Vet Arhiv, 72, 91-99.
 21. Girgin A., Karadağ H., Bilgiç S., Temizer A., 1988. A study on the macro-anatomical differences of the skeletons of wolf and fox as compared with the skeleton of dog. SÜ Vet Fak Derg, 4, 169-182.
 22. Karan M., Atalar Ö., 2003. Macro-anatomical investigations on the skeletons of squirrels (*Sciurus vulgaris*) I. Ossa membri thoracici. FÜ Sağlık Bil Derg, 17, 35-38.
 23. Gough-Palmer AL., Maclachlan J., Routh A., 2008. Paws for thought: comparative radiologic anatomy of the mammalian forelimb. Radio Graphics, 28, 501-510.
 24. Yılmaz S., Dinç G., Özdemir D., 1999. Su samuru (*Lutra lutra*) iskelet sistemi üzerinde makro-anatomik araştırmalar. I. Ossa membri thoracici. FÜ Sağlık Bil Derg, 13, 225-228.
 25. Martin-Serra A., Figueirido B., Palmqvist P., 2014. A three-dimensional analysis of morphological evolution and locomotor performance of the carnivoran forelimb. Plos One, 9, 1-20.
 26. Meachen-Samuels J., Valkenburgh BV., 2009. Forelimb indicators of prey-size preference in the felidae. J Morphol, 270, 729-744.
 27. Yılmaz O., 2018. Van kedilerinde ön bacak iskeletinin bilgisayarlı tomografi ile üç boyutlu olarak incelenmesi. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
 28. Yılmaz O., Soyguder Z., Yavuz A., Dundar I., 2020. Three-dimensional computed tomographic examination of pelvic cavity in Van cats and its morphometric investigation. Anat Histol Embryol, 49, 60-66.



Rottweiler Irkı Köpekte Uterin Leyomiyosarkom, Miyometritis ve Hemanjiyosarkom Olgusu

Gizem AKIN^{1a}✉

1. Kemalpaşa Belediyesi Geçici Hayvan Bakımevi, İzmir, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0002-6146-8227^a

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
30.04.2020	17.06.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Akın G: Rottweiler Irkı Köpekte Uterin Leyomiyosarkom, Miyometritis ve Hemanjiyosarkom Olgusu. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 177-180, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.730291

Öz: Rottweiler ırkı 3-4 yaşlı bir sokak köpeği kanlı vajinal akıntı, abdominal şişlik ve iştahsızlık şikâyeti ile Geçici Hayvan Bakım Evi'ne getirilmiştir. Sokak köpeği olması nedeniyle klinik belirtilerin ne zaman başladığı hakkında bilgi edinilememiştir. Yapılan muayeneler sonrasında piyometra olgusu olduğu düşünülerek operasyona alınmıştır. Yapılan ovariyohisterektomi (OVH) operasyonu sırasında kornu uteri ve korpus uteri üzerinde sert kitlesel oluşumlara ayrıca dalağın kaudaline yapışık bir şekilde bulunan fluktuan yapılı bir kitleye rastlanmıştır. Çıkarılan dokular incelenmek üzere İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Patoloji Bölümü'ne gönderilmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda çıkan 28x25x6 cm boyutunda ve 3.7 kg ağırlığında dalağın kaudalindeki kitlenin anaplastik hücrelerden oluşan hemanjiyosarkom, kornu uteri üzerinde bulunan kitlelerin ise leyomiyosarkom olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca uterustan alınan kesitlerdeki incelemeler sonucu miyometritis tablosunun mevcut olduğu saptanmıştır. Sunulan olgu birden fazla farklı karakterde tümörün (hemanjiyosarkom ve leyomiyosarkom) saptandığı ve metritisin eşlik ettiği nadir rastlanan bir veteriner vakası olma özelliğindedir.

Anahtar Kelimeler: Hemanjiyosarkom, Köpek, Miyometritis, Uterin leyomiyosarkom.

A Case of Uterine Leiomyosarcoma, Myometritis and Hemangiosarcoma in a Rottweiler Dog

Abstract: A 3-4 year-old Rottweiler breed dog was brought to Temporary Animal Care House with complaints of bloody vaginal discharge, abdominal swelling and loss of appetite. Due to being a stray dog, no information could be obtained about when the clinical symptoms started. After the examinations, it was considered to be a pyometra case and was taken into operation. During the ovariohysterectomy (OVH) operation, hard mass formations on the cornu uteri and corpus uteri and a fluctuant mass attached to the caudate of the spleen were found. The extracted tissues were sent to Izmir Bornova Veterinary Control Institute, Pathology Department for examination. As a result of the examinations, it was determined that the mass in the caudal part of the spleen, 28x25x6 cm in size and 3.7 kg in weight, was hemangiosarcoma consisting of anaplastic cells, and the masses on the cornu uteri were leiomyosarcoma. Besides, as a result of the examinations taken from the uterus, it was found that the picture of myometritis was present. The presented case is a rare veterinary case in which more than one tumor (hemangiosarcoma and leiomyosarcoma) is detected and accompanied by metritis.

Keywords: Bitch, Hemangiosarcoma, Metritis, Uterine leiomyosarcoma.

✉ Gizem Akın

Kemalpaşa Belediyesi Geçici Hayvan Bakımevi, İzmir, TÜRKİYE.
e-posta: vet.hekim.gizemisikcan@hotmail.com

GİRİŞ

Hemanjiyosarkomlar; karaciğer, dalak, kalp, deri ve damar endotel hücrelerinden ayrıca kemik iliği gibi hücrelerden de köken alarak oluşabilen, metastaz yapma özelliğine sahip malign tipteki tümörlerdir. Hemanjiyosarkomlar hemoabdomen oluşumuna neden olabilmektedir (1-4).

Köpeklerde uterin neoplazmlar %0,5 oranında nadir gözlenmekle birlikte daha çok vajina ve vulvada rastlanmaktadır. İyi huylu olan leyomiyom %85-95 oranında görülürken köken aldığı düz kas hücrelerinden farklı olarak böbrek, ovaryum ve iskelet kasında oluşabilen malign tipteki leyomiyosarkom %10 oranında görülmektedir (5,6). Klinik belirtiler tümörün büyüklüğü, bulunduğu yer ve metastazına bağlı olmakla birlikte genellikle kusma, anoreksi, tenesmus, asites ve abdominal bölgede kitle belirlenmesi olarak sıralanabilmektedir (6,7). Endometriyal hiperplazi, piyometra, endometriyal tümöral oluşumlarla arasında bir ilişki saptanamamıştır (8). Bununla birlikte kedi (9) ve köpekte piyometra, kistik glandüler hiperplazi (8,10) ile beraber seyreden leyomiyosarkomlar rapor edilmiştir. Bu vaka takdiminde 3-4 yaşında *Rottweiler* ırkı bir köpekte hemanjiyosarkom ve leyomiyosarkom olgusu hakkında detaylar sunulmuştur. Bildiğimiz kadarıyla veteriner hekimliği alanında hemanjiyosarkom ve leyomiyosarkomun birlikte görüldüğü ilk köpek vakasıdır.

OLGU SUNUMU

10.12.2019 tarihinde 3-4 yaşlı *Rottweiler* cinsi dişi köpek Kemalpaşa Belediyesi Geçici Hayvan Bakımına getirilmiştir. Alınan anamnez bilgilerinde iştahsızlık, bol su tüketimi, halsizlik ve karında şişlik kaydedilmiştir. Yapılan muayene sonucunda vajinadan kanlı bir akıntı geldiği ve abdominal bölgede sıvı birikimi bulgusuna rastlanmıştır. Ateş 39.8°C olarak ölçülmüştür. Piyometra olgusu olduğu düşünülerek OVH operasyonuna alınmıştır. Abdominal bölge açıldığında kan içeren, kokusuz bol miktarda sıvı ile karşılaşmıştır. Kornu uteri ve korpus

uteri üzerinde sert kitlesel oluşumlar (Şekil 1) ve dalağa yapışık olarak bulunan fluktuan kıvamda büyük bir kitle gözlenmiştir (Şekil 2). Kitlenin uygun şekilde bölgeden ayrımı yapılmış ve çıkarılan ovaryum ve uterus dokusu ile beraber İzmir Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Patoloji Bölümü'ne gönderilmiştir. Operasyon sonrası sıvı sağaltımı ve antibiyotik uygulamaları yapılmıştır.



Şekil 1. Uterus üzerinde gözlemlenen kitleler.
Figure 1. The masses observed on the uterus.



Şekil 2. Dalağa yapışık olarak belirlenen fluktuan kitle.
Figure 2. Fluctuant mass determined as an adherent to the spleen.

Patoloji sonucunda dalağa yapışık olarak alınan kitlenin makroskobik incelemesinde 28x25x6 cm boyutunda ve 3.7 kg ağırlığında olduğu tespit

edilmiştir. Histopatolojik muayenelerde; genellikle iğ şekilli, anaplastik hücrelerden oluşan boşlukların pembe homojen renkte sıvı veya eritrositler ile dolu olduğu belirlenmiştir. Ayrıca geniş nekroz sahalarının gözlemlendiği hücre proliferasyonlarına yer yer nötrofil lökosit infiltrasyonlarının da eşlik ettiği görülmüştür. Bu kitlenin hemanjiyosarkom olduğu tespit edilmiştir.

Kornu uteri üzerinde 4x3.5x2 cm çapında bir kitle ile bu kitlenin 1 ve 3 cm distalinde başka kitlelerin daha bulunduğu belirlenmiştir. Kitlelerin histopatolojik muayenesinde değişik yönlere seyreden iğ şekilli, anizositozis, anizonükleozis mitotik aktivite gösteren anaplastik hücre proliferasyonlarının Masson Trichrome ve Van Gisson Özel boyamaları sonucu leyomyosarkom olduğu tespit edilmiştir. Uterusta yoğun nötrofil lökosit infiltrasyonlarının olduğu miyometritis saptanmıştır. Postoperatif dönemde köpeğin öldüğü belirlenmiştir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Köpeklerde uterus tümörlerine nadir rastlanmaktadır. 75000 köpekle yapılan bir çalışmada sadece 3073 tanesinde tümöral oluşum tespit edilmiş ve bunların sadece 11 tanesinin uterus tümörü olduğu belirlenmiştir (11). Leyomyomlar ve leyomyosarkomlar genellikle yaşlı hayvanlarda görülmekle birlikte birçoğu otopsi veya ovaryohisterekтоми operasyonları sırasında ortaya çıkmaktadır. Uterus neoplazilerinde klinik bulgular metastatik bir hastalığın varlığına veya piyometra, mukometra gibi eş zamanlı seyreden hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir (12). Uterusta oluşan tümörler yeterli büyüklüğe ulaşmadan klinik belirtiler göstermemekle birlikte daha sonraki dönemlerde vajinal akıntı, poliüri, polidipsi, kusma, kilo kaybı ve asites gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır (6,7,11). Bu oluşumlar ultrasonografi, radyografi ve laparotomi yöntemleri ile belirlenebilmekte kesin tanı histopatoloji ile konmaktadır (8). Sunulan bu vakada alınan anamnezde hayvanın çok fazla su içtiği bilgisine ulaşılmış, muayenede kanlı vajinal akıntıya ve asites bulgusuna rastlanmıştır. Yapılan

ovaryohisterekтоми operasyonu sırasında uterusta tümöral oluşumlarla karşılaşmıştır.

Escherichia coli, *Proteus* spp., *Staphylococcus* spp. ve *Streptococcus* spp. gibi bakteriler metritise neden olmaktadır. Metritis endometriyum ve miyometriyumda yangı oluşması ile karakterizedir. Klinik belirti olarak uyuşukluk, yüksek ateş, vajinadan purulent kötü kokulu kahverengi veya kırmızımsı rekte vulvar akıntı gelmesi, puerperal dönemde yavrulara ilgisizlik gözlemlenebilmektedir (13). Karşılaşılan bu vakada vajinadan kanlı bir akıntının geldiği gözlemlenmiştir. Akıntıya miyometritis ve leyomyosarkomun birlikte neden olduğu düşünülmektedir.

Köpeklerde diğer evcil hayvanlara oranla daha sık karşılaşılan malign tipteki endotelial hücre tümörü olan hemanjiyosarkomda prognoz kötüdür ve ölüm oranı yüksektir. Hemanjiyosarkomun birincil olarak dalağı etkilediği, ortalama 9-12 yaşlı hayvanlarda görüldüğü, karaciğer, omentum ve akciğer gibi organlarda sık metastaz yaptığı belirtilmektedir (14,15). Viseral hemanjiyosarkom olgularında akut zayıflık, anemi, uyuşukluk, abdominal bölgede genişleme, hemoabdomen ve kitlede ruptur şekillenebilmektedir (3,16). Bu vakada hayvanın abdominal bölgesindeki şişlik dikkati çekmiştir ve abdominal bölge açıldığında kanlı kokusuz bir sıvı ile karşılaşmıştır. Nedenin hemanjiyosarkom olduğu düşünülmektedir. Sokak köpeği olduğu için daha önceki sağlık durumu ile ilgili bilgi edinilememiştir.

Sonuç olarak sunulan vakada, köpeklerde nadir olarak rastlanan leyomyosarkom ve hemanjiyosarkom olgusuna birlikte rastlanmış ve bu neoplastik olgularla birlikte miyometritis de tespit edilmiştir. Köpeklerde malign tümörlerin prognozu tümörün büyüklüğüne, invazyon yerine ve metastaz durumuna göre değişmektedir. Bu olguda da birden fazla tümöral yapı varlığı ve dalak yakınında bulunan kitlenin çok büyük olmasına bağlı olarak hastalığın prognozu olumsuz seyretmiş ve postoperatif dönemde köpeğin öldüğü belirlenmiştir. Yapılan literatür taramalarında köpeklerde aynı anda

belirlenen leyomiyosarkom ve hemanjiyosarkom olgusuna rastlanmamıştır. Bu olguda her iki tümörün birlikte görülmesi veteriner sahada literatür verilerine katkıda bulunabileceği düşünülmüştür.

Çıkar Çatışması

Yazar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Murakami Y., Uchida K., Yamaguchi R., Tateyama S., 2001. Diffuse bilateral hemangiosarcoma of the uterus in a dog. *Vet Med Sci*, 63, 191-193.
2. Wenzlow N., Tivers MS., Selmic LE., Scurrrell EJ., Baines SJ., Smith KC., 2009. Haemangiosarcoma in the uterine remnant of a spayed female dog. *J Small Anim Pract*, 50, 488-491.
3. Herman EJ., Stern AW., Fox RJ., Dark MJ., 2019. Understanding the Efficiency of splenic hemangiosarcoma diagnosis using Monte Carlo Simulations. *Vet pathol*, 56, 856-859.
4. Kakiuchi-Kiyota S., Obert LA., Crowell DM., Xia S., Roy MD., Coskran TM., Cook JC., 2020. Expression of hematopoietic stem and endothelial cell markers in canine hemangiosarcoma. *Toxicol Pathol*, 0192623319897539.
5. Köse AM., Özsoy ŞY., Doğruer G., 2017. Vaginal leiomyosarcoma in a bitch. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 12, 80-83.
6. Mohan D., Maiti SK., Shivaraju S., 2018. Surgical management of multiple uterine tumours in a dog. *MOJ Anat Physiol*, 5, 117-118.
7. Pena FJ., Gines JA., Duque J., Vieitez V., Martinez-Perez R., Madejon L., Fernandez-Garcia S., 2006. Endometrial adenocarcinoma and mucometra in a 6-year-old Alaska Malamute dog. *Reprod Domestic Anim*, 41, 189-190.
8. Miller MA., Ramos-Vara JA., Dickerson MF., Johnson GC., Pace LW., Kreeger JM., Turk JR., 2003. Uterine neoplasia in 13 cats. *J Vet Diagn Invest*, 15, 575-522.
9. Tsioli VG., Gouletsou PG., Loukopoulos P., Zavlaris M., Galatos AD., 2011. Uterine leiomyosarcoma and pyometra in a dog. *J Small Anim Pract*, 52, 121-124.
10. Enginler SÖ., Sığircı U., Arun SS., Ekici H., 2014. Vaginal leiomyosarcoma subsequent to pyometra in a Labrador Retriever bitch. *J Fac Vet Med Istanbul Univ*, 40, 109-113.
11. Kıvrak MB., 2016. Köpeklerde meme tümörü. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.
12. Serin G., Aydoğan A., Yaygingul R., Tunca R., 2010. Uterine leiomyosarcoma in a dog: a case report. *Vet Med*, 55, 405-408.
13. Fresno L., Marco A., Calvo MA., Santos L., Del Alamo MMR., 2014. Fibrino-purulent necrotizing metritis as a post-surgical complication after a prolonged delivery in a bitch: a case report. *Int J Vet Med Res Rep*, 1-8.
14. Clifford CA., Mackin AJ., Henry CJ., 2000. Treatment of canine hemangiosarcoma: 2000 and beyond. *J Vet Intern Med*, 14, 479-485.
15. Bray JP., Munday JS., 2020. Thalidomide reduces vascular endothelial growth factor immunostaining in canine splenic hemangiosarcoma. *Vet Sci*, 7, 67.
16. da Silva EO., Wasques DG., Hilst CLS., dos Reis ACF., Bracarense APFRL., 2014. Primary ovary hemangiosarcoma in a female dog. *Sem Ciencias Agras*, 35, 2507-2511.



Sepsis Oluşturmak İçin Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri

Beyzagül POLAT ERKAYMAN^{1a}✉

1. Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Erzurum, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0003-2042-5949

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
18.02.2020	26.03.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Polat Erkayman B: Sepsis Oluşturmak İçin Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 181-186, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.690314

Öz: Sepsis, tüm vücutta enflamatuar bir durum ve bilinen veya şüphelenilen bir enfeksiyonun varlığı ile karakterize edilen ciddi bir durumdur. Vücut, bağışıklık sistemi tarafından kan, idrar, akciğerler, cilt veya diğer dokulardaki mikroplara karşı bu enflamatuar yanıtı geliştirebilir. Bu karmaşık patofizyolojinin sonuçları ciddi hipotansiyon, metabolik asidoz, doku hasarı ve çoklu organ yetmezliği, akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) / akut akciğer hasarı (ALI) ve hatta ölüm gibi farklı şekillerde izlenebilir. Destek tedavileri, antibiyotikler, immünoterapi ajanları ve yeni tedavi seçeneklerine rağmen, sepsis %90'a varan yüksek mortalite oranı gösteren, yoğun bakım ünitelerinde ölüme en çok neden olan bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle sepsis dünya üzerinde hem insanlarda en çok araştırma yapılan hastalıklardan birisidir, hem de deneysel hayvanlarda en çok çalışılan modellerden birisi olarak bilinmektedir. Aynı zamanda veteriner hekimlikte özellikle koyun gibi hayvanlarda görülen sepsis ve sepsise bağlı komplikasyonlar sıklıkla araştırılmaktadır. Hem klinik çalışma öncesi ilaçların hayvan deneylerinde mutlaka denenmesi ve incelenmesi gerekliliği, hem de hayvan refahını tehdit eden bir hastalık olması sebebiyle, bu yazıda sepsis oluşturmak için hayvanlarda kullanılan modeller (Lipopolisakkarit (LPS) gibi eksojen bir toksinin enjeksiyonu ile oluşturulan sepsis modeli, Fekal sepsis modelleri, eksojen bakterinin infüzyonu veya aşılması ile oluşturulan sepsis modeli.) hakkında bilgi verilecektir.

Anahtar Kelimeler: Fare, Hayvan modelleri, Koyun, Sepsis, Sığan.

Experimental Animal Models for Sepsis

Abstract: Sepsis is a serious condition characterized by an inflammatory condition throughout the body and the presence of a known or suspected infection. The body can improve this inflammatory response by its immune system to microbes in blood, urine, lungs, skin or other tissues. The results of this complex pathophysiology can be monitored in different ways, such as severe hypotension, metabolic acidosis, tissue damage and multiple organ failure, acute respiratory distress syndrome (ARDS) / acute lung injury (ALI), and even death. Despite supportive treatments, antibiotics, immunotherapy agents and new treatment options, sepsis appears to be the most common health problem in intensive care units with a high mortality rate of up to 90%. For this reason, sepsis is known as both one of the most researched diseases in humans and one of the most studied models in experimental animals. At the same time, sepsis and complications related to sepsis are frequently investigated in veterinary medicine, especially in animals such as sheep. In this article, the information will be given about the models used in animals to create sepsis (Sepsis model created by injection of an exogenous toxin such as lipopolysaccharide (LPS), Fecal sepsis models, sepsis model created by infusion or inoculation of exogenous bacteria), both because of the necessity to try and examine the drugs before the clinical trial in animal experiments and as a disease that threatens animal welfare.

Keywords: Animal models, Mouse, Rat, Sepsis, Sheep.

GİRİŞ

Sepsis, tüm vücutta enflamatuar bir durum ve bilinen veya şüphelenilen bir enfeksiyonun varlığı ile karakterize edilen ciddi bir durumdur (1). Vücut, bağışıklık sistemi tarafından kan, idrar, akciğerler, cilt veya diğer dokulardaki mikroplara karşı bu enflamatuar yanıtı geliştirebilir. Bu karmaşık patofizyolojinin sonuçları ciddi hipotansiyon, metabolik asidoz, doku hasarı ve çoklu organ yetmezliği, akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) / akut akciğer hasarı (ALI) ve hatta ölüm gibi farklı şekillerde izlenebilir (2). Genel tedavi altta yatan sepsisin uygun antibiyotiklerle yeterli tedavisini ve endike ise cerrahi tedaviyi içerir (3). Sepsis patofizyolojisi tam olarak anlaşılammıştır, ancak patojen ile konağın bağışıklık sistemi arasında karmaşık bir etkileşimi içerir. Tümör nekroz faktörü (TNF) ve interlökinler (IL'ler) dahil olmak üzere çeşitli sitokinler indüklenir (4). Normal fizyolojik koşullarda, hücresel aktivitelerin sürdürülmesinde düşük konsantrasyonlarda reaktif oksijen türleri (ROS) önemlidir, ancak konsantrasyonlar yükseldiğinde hücre hasarı görünebilir. Birçok çalışma oksidatif stres ve sepsisteki apoptotik süreç arasında güçlü bir bağlantı olduğunu göstermiştir (5).

Destek tedavileri, antibiyotikler, immünoterapi ajanları ve yeni tedavi seçeneklerine rağmen, sepsis %90'a varan yüksek mortalite oranı gösteren, yoğun bakım ünitelerinde ölüme en çok neden olan bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle sepsis dünya üzerinde hem insanlarda en çok araştırma yapılan hastalıklardan birisidir, hem de deneysel hayvanlarda en çok çalışılan modellerden birisi olarak bilinmektedir. Aynı zamanda veteriner hekimlikte özellikle koyun gibi hayvanlarda görülen sepsis ve sepsise bağlı komplikasyonlar sıklıkla araştırılmaktadır. Hem klinik çalışma öncesi ilaçların hayvan deneylerinde mutlaka denenmesi ve incelenmesi gerekliliği, hem de hayvan refahını tehdit eden bir hastalık olması sebebiyle, bu yazıda sepsis oluşturmak için hayvanlarda kullanılan modeller (Lipopolisakkarit (LPS) gibi eksojen bir toksinin

enjeksiyonu ile oluşturulan sepsis modeli, Fekal sepsis modelleri, eksojen bakterinin infüzyonu veya aşılması ile oluşturulan sepsis modeli.) hakkında bilgi verilecektir.

1. SEPSİSTE DENEYSEL HAYVAN MODELLERİ

Sepsis oluşturmak için kullanılan kronik deneysel hayvan modelleri 3'e ayrılır: a) Lipopolisakkarit (LPS) gibi eksojen bir toksinin enjeksiyonu ile oluşturulan sepsis modeli, b) Fekal sepsis modelleri, c) eksojen bakterinin infüzyonu veya aşılması ile oluşturulan sepsis modeli.

1.1. Lipopolisakkarit (LPS) gibi Eksojen Bir Toksinin Enjeksiyonu ile Oluşturulan Sepsis Modeli

Gram-negatif bakterilerin dış membranını oluşturan endotoksin glikolipid yapılıdır ve sepsis patogenezinde yakından ilişkilidir. Bu nedenle LPS infüzyon / enjeksiyon modeli sepsis araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (6-8). *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi birçok gram-negatif bakteri kullanılarak LPS elde edilmektedir. LPS uygulaması, sepsisin başlangıçtaki klinik özelliklerin çoğunu taklit eden, TNF-a ve IL-1 gibi sitokinlerin artışının bakteremi olmadan izlendiği sistemik inflamasyon indükler (9). LPS enjekte edilmiş hayvanların TNF-a veya IL-1 antikorlarının nötralize edilmesiyle tedavi edilmeye çalışılması prensibi bu modelde işe yaramaktadır (10). LPS infüzyonu ayrıca; azalmış glomeruler filtrasyon hızı, artmış kan üre azotu (BUN) ve böbrek nötrofil infiltrasyonunda artışla karakterize böbrek hasarına neden olur (11).

LPS toz halinde üreticilerden temin edilmektedir. Deneyde model oluşturmak için suda çözündürüldükten sonra periton içine veya damar içine verilir. Yapılan çalışmalarda verilen LPS dozunun hayvanın türüne, kullanılan bakteri suşuna ve sepsisin şiddetine göre 1 mg/kg'dan başlayarak 80-100 mg/kg'a kadar geniş bir doz aralığında verildiği görülmektedir (12-14). Sepsisin en belirgin bulgusu

olan sağkalım (mortalite) deneylerinde ise kalan hayvan sayısının belirlenebilmesi için LPS dozları daha yüksek uygulanmaktadır (15). Deneysel LPS modellerinde verilen endotoksin, sepsisteki bir canlıdakinden daha yüksek olduğu ve tek tip bakteriden geldiği için klinikle model arasında uyumsuzluk yaşanabilir. Bu nedenle bir diğer model olan çekal bağlama ve delme daha çok tercih edilmektedir (16).

Deneysel LPS modellerinde deney hayvanı türü seçilirken çalışmanın amacı, hayvan türünün kolay ulaşılabilir ve düşük maliyetli oluşu oldukça önemlidir. Bu nedenlerle mouse, rat, kobay gibi küçük deney hayvanı daha çok kullanılmaktadır. Sağkalım çalışmalarında, histopatolojik incelemelerde de bu türler kullanılmaktadır (14,17). Sıvı resüsitasyonu veya hemodinami destek tedavisi uygulanarak yapılacak çalışmalarda, defaten kan alınmasını gerektiren biyokimyasal çalışmalarda, kalp debisi ve pulmoner arter basıncını ölçüleceği çalışmalarda koyun ve domuz gibi büyük hayvanları kullanmak daha mantıklıdır (17).

1.2. Fekal Sepsis Modelleri

Fekal sepsis modellerinde en basit olarak fekal nakil kullanılabilir. Bu yöntemde fekal emülsiyon tüm abdominal bölgeyi kontamine etmek için karın içine direkt enjekte edilir (18). Fekal emülsiyon kaynağı olarak insan feçesi, deney hayvanı ile aynı türden olan hayvanlardan toplanan feçes veya hayvanın kendi feçesi kullanılabilir (19). Feçesin alındığı tür kadar feçesin alındığı türün beslenme şekli (ot bazlı-et bazlı) de deneyi etkilemektedir. En belirgin patojenite tahıl bazlı dışkıdaki daha yüksek lif içeriği nedeniyle oluşmaktadır (20). Bu tip sepsis modelleri kliniğe en yakın sepsis modellerinden birisi olarak bilinmektedir ancak feçes çeşitliliğinden dolayı standardize edilemeyen ve deneysel olarak kontrol altına alınamayan bir modeldir (19).

Fekal nakil yönteminin yukarıda sayılan dezavantajlarından dolayı, daha standardize ve kontrollü olabilecek bir model arayışının sonucunda günümüzde en sıklıkla kullanılan yöntem olan

çekumun bağlanması ve delinmesi (cecal ligation and puncture-CLP) yöntemi 1980 yılında Wichterman ve ark. tarafından tanımlanmıştır (21). CLP sepsis yöntemi kullanılarak yapılan birçok bilimsel çalışma literatürde mevcuttur (22-24). Uygulanması kolay ve ucuz olan CLP sepsis modeli, ilk ratlarda tarif edilmesine rağmen fare ve koyunlarda da kullanılmaktadır. CLP modelinin deneysel prosedürü şu şekilde özetlenebilir (25): Genel anestezi altında, rat sırt üstü olarak sabitlenir. Abdominal alan tıraş edilir ve dezenfeksiyon yapılır. Batın genital çıkıntının önünden 2 cm yukarı doğru açılır. Çekum ortaya koyulur ve ilioçekal valf distalinden 3/0 suture ile bağlanır. Antimezenterik kenardan 18G ile 2 kez delinir. Cilt, kas ve periton önce 3/0 ipek ile kapatılır. Hayvana ağırlığına göre subkutan sıvı takviyesi yapılır. CLP modeli sayesinde, *E. coli*, Enterokoklar başta olmak üzere çok bakterili bir septik tablo oluşturulmuş olur. İlk 24 saat içinde %30-70 mortalite görülür.

CLP sepsis modelinde perforasyon sayısı ve iğne kalınlığı belirleyicidir. 18 G iğne ile 48. saatte mortalite %70, 22 G ile %46'dır. Çift perforasyonda 24 saatte %70 mortalite görülürken, tek perforasyonda bu oran %30 olarak gözlemlenmiştir (26).

Klinikte görülen patofizyolojik değişikliklerin çoğu CLP modelinde de görülmektedir. Bu değişiklikler sıcaklık, kalp atım sayısı ve kardiyak outputtaki bifazik değişiklikler, bozulmuş sol ventriküler kasılma, gereksiz glikoz kullanımı ve azalmış pulmoner ve sistemik vasküler rezistanslar olarak sayılabilir (27-29).

Saatlerine göre CLP sepsiste değişimler şu şekilde gelişmektedir (30): İlk 2 saatte kanda PMNL ve TNF-alfa artışı görülür. İlk 10 saatte görülen sepsisin erken hızlı dinamik fazı, 16-24. saatlerde yerini sepsisin hipodinamik fazı ya da geç dönem sepsise bırakır. Bu dönemde organlarda kan akımı azalır, kalp outputu düşer, kanda hipoglisemi, hipoinsulinemi ve serum laktat düzeyleri artmış olarak görülür. 16-24 saatte ise sepsisin hipodinamik fazı ya da geç dönem sepsis bulguları ortaya çıkar. 24

saatten sonraki süreç, adezyonlar ve organ yetmezlikleri başlar (İrreversibl değişim süreci)

Oluşturulacak polimikrobiyal sepsisin standardize edilebilmesi ve oluşturulacak sepsisin derecelerinin belirlenebilmesi için dikkat edilmesi gereken noktalar bulunmaktadır (14). Bunlardan ilki çekum hep aynı seviyeden bağlanmalı ve feçesin çıkışı için delik sayısı ve kullanılan iğnenin çapı aynı olmalıdır. Araştırmacı sepsis şiddetini artırmak istiyorsa daha büyük çaplı iğne kullanabilir. Yine sepsisin derecesini artırmak için delik sayısı artırılabilir. 2, 4 veya en fazla 6 delik açılması tavsiye edilebilir. Delme sonrasında çekuma bir miktar sıvı uygulanarak feçesin dışarı çıkması sağlanabilir. Ancak bu basının da aynı düzeyde uygulanması oldukça önemlidir. Yine dikkat edilmesi gereken bir nokta hayvanların açlık-tokluk durumlarıdır. Tercihen deneyden bir gece önceden hayvanlar aç bırakılmadır. Resüsitasyon amacıyla sıvı verilip verilmemesi de sepsisin şiddetini değiştirmektedir.

1.3. Eksojen Bakterinin İnfüzyonu veya Aşılması ile Oluşturulan Sepsis Modeli

Bu model periton veya damar içine canlı bakterilerin enjekte edilmesi ile karakterizedir (31, 32). Canlı olarak verilen bakterilerden en çok *Escherichia coli* kullanılmaktadır (33, 34). Kullanılan bakteri miktarları 6×10^5 ile $2,5 \times 10^{10}$ CFU arasında değişmektedir ve verilimini takip eden 48 saat içinde %50 ve %90 arasında bir mortalite göstermektedir (35). *Staphylococcus aureus* ise gram pozitif sepsisi araştırmak için kullanılmaktadır (36). Bakteriler tek seferde veya infüzyon ile verilebilir (19). Bu modelde sınırlı tipte bakteri (aerobik ve anaerobik suşlar dahil) deney hayvanlarına verildiği için, canlı bakteri ile oluşturulan sepsis modeli klinikte oluşan polimikrobiyal sepsisi tam olarak taklit edemez. Kullanılacak hayvan türleri büyüdükçe sıvı resüsitasyonu veya vazoaktif maddelerle destek tedavisi ile kliniğe uygun model yaratmak mümkün olmaktadır (14). İntravenöz ve periton içine canlı bakteri uygulaması sırasında laboratuvar çalışanları

ve araştırmacılar için kontaminasyon riski olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

SONUÇ

Klinikteki sepsisi taklit edecek ideal bir model arayışı sonucu farklı mantıklarda birçok deneysel sepsis modeli literatüre sunulmuştur. Bu modellerden ideal olanı belirleme kriterler ise modelin standardize edilebiliyor olması, tekrarlanabilirliği ve oluşturduğu semptomların kliniğe uygunluğu olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak bu kriterlere uyan ideal bir model hala tanımlanamamıştır. Literatürü incelediğimizde ise özellikle CLP sepsis modelinin kullanımının hızla arttığı görülmektedir. Sepsis modellerinde erken ölümlerin büyük bir nedeni akciğer hasarına bağlı solunum yetmezliğidir ve özellikle sıçan ve fare gibi sık kullanılan küçük deney hayvanlarına solunum desteği sağlanamamaktadır. Solunumu ve dolaşımı destekleyici girişimler deney hayvanlarına uygulanamıyor bile olsa, oluşturulan deneysel modeller sepsisin patofizyolojisinin anlaşılmasında ve yeni tedavi ajanlarının belirlenmesinde önemini korumaya devam etmektedir.

Çıkar Çatışması

Yazar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Levy MM., Fink MP., Marshall JC., Abraham E., Angus D., Cook D., Cohen J, Opal SM., Vincent JL., Ramsay G., 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. Crit Care Med, 31, 1250-1256.
2. Gyawali B., Ramakrishna K., Dharmoon AS., 2019. Sepsis: The evolution in definition, pathophysiology, and management. SAGE Open Med, 7, 2050312119835043.

3. Minasyan H., 2017. Sepsis and septic shock: Pathogenesis and treatment perspectives. *J Crit Care*, 40, 229-242.
4. Kruttgen A., Rose-John S., 2012. Interleukin-6 in Sepsis and Capillary Leakage Syndrome. *J Interf Cytok Res*, 32, 60-65.
5. Compton CN., Franko AP., Murray MT., Diebel LN., Dulchavsky SA., 1998. Signaling of apoptotic lung injury by lipid hydroperoxides. *J Trauma*, 44, 783-788.
6. Chang YT., Huang WC., Cheng CC., Ke MW., Tsai JS., Hung YM., Huang NC., Huang MS., Wann SR., 2020. Effects of epinephrine on heart rate variability and cytokines in a rat sepsis model. *Bosn J Basic Med Sci*, 20, 88-98.
7. Baradaran Rahimi V., Rakhshandeh H., Raucci F., Buono B., Shirazinia R., Samzadeh Kermani A., Maione F., Mascolo N., Askari VR., 2019. Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activity of *Portulaca oleracea* Extract on LPS-Induced Rat Lung Injury. *Molecules*, 24, 139.
8. Zhang H., Sha J., Feng X., Hu X., Chen Y., Li B., Fan H., 2019. Dexmedetomidine ameliorates LPS induced acute lung injury via GSK-3 β /STAT3-NF-kappaB signaling pathway in rats. *Int Immunopharmacol*, 74, 105717.
9. Remick DG., Newcomb DE., Bolgos GL., Call DR., 2000. Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: lipopolysaccharide vs. cecal ligation and puncture. *Shock*, 13, 110-116.
10. Tracey KJ., Fong Y., Hesse DG., Manogue KR., Lee AT., Kuo GC., Lowry SF., Cerami A., 1987. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*, 330, 662-664.
11. Tiwari MM., Brock RW., Megyesi JK., Kaushal GP., Mayeux PR., 2005. Disruption of renal peritubular blood flow in lipopolysaccharide-induced renal failure: role of nitric oxide and caspases. *Am J Physiol Renal Physiol*, 289, F1324-1332.
12. Kose D., Cadirci E., Halici Z., Sirin B., Dincer B., 2019. The investigation of possible roles of central 5-HT7 receptors in antipyretic effect mechanism of paracetamol in LPS-induced hyperthermia model of mice. *Inflammopharmacology*, 27, 1169-1178.
13. Abareshi A., Anaeigoudari A., Norouzi F., Marefati N., Beheshti F., Saeedjalali M., Hosseini M., 2019. The effects of captopril on lipopolysaccharide-induced sickness behaviors in rats. *Vet Res Forum*, 10, 199-205.
14. İskit A., 2005. Sepsiste Deneysel Modeller. *Yoğun Bakım Dergisi*, 5, 133-136.
15. Cadirci E., Halici Z., Bayir Y., Albayrak A., Karakus E., Polat B., Unal D., Atamanalp SS., Aksak S., Gundogdu C., 2013. Peripheral 5-HT7 receptors as a new target for prevention of lung injury and mortality in septic rats. *Immunobiology*, 218, 1271-1283.
16. Elin RJ., Robinson RA., Levine AS., Wolff SM., 1975. Lack of clinical usefulness of the limulus test in the diagnosis of endotoxemia. *N Engl J Med*, 293, 521-524.
17. Iskit AB., Guc MO., 2001. The timing of endothelin and nitric oxide inhibition affects survival in a mice model of septic shock. *Eur J Pharmacol*, 414, 281-287.
18. Kazarian KK., Perdue PW., Lynch W., Dziki A., Nevola J., Lee CH., Hayward I., Williams T., Law WR., 1994. Porcine peritoneal sepsis: modeling for clinical relevance. *Shock*, 1, 201-212.
19. Freise H., Bruckner UB., Spiegel HU., 2001. Animal models of sepsis. *J Invest Surg*, 14, 195-212.
20. Bartlett JG., Onderdonk AB., Louie T., Kasper DL., Gorbach SL., 1978. A review. Lessons from an animal model of intra-abdominal sepsis. *Arch Surg*, 113, 853-857.
21. Wichterman KA., Baue AE., Chaudry IH., 1980. Sepsis and septic shock--a review of laboratory models and a proposal. *J Surg Res*, 29, 189-201.
22. Wu XJ., Yan XT., Yang XM., Zhang Y., Wang HY., Luo H., Fang Q., Li H., Li XY., Chen K., Wang YL., Zhang ZZ., Song XM., 2020. GTS-21 ameliorates polymicrobial sepsis-induced hepatic injury by modulating autophagy through alpha7nAChRs in

- mice. *Cytokine*, 128, 155019.
23. Piliponsky AM., Shubin NJ., Lahiri AK., Truong P., Clauson M., Niino K., Tsuha AL., Nedospasov SA., Karasuyama H., Reber LL., Tsai M., Mukai K., Galli SJ., 2019. Basophil-derived tumor necrosis factor can enhance survival in a sepsis model in mice. *Nat Immunol*, 20, 129-140.
24. Ibrahim YF., Moussa RA., Bayoumi AMA., Ahmed AF., 2020. Tocilizumab attenuates acute lung and kidney injuries and improves survival in a rat model of sepsis via down-regulation of NF-kappaB/JNK: a possible role of P-glycoprotein. *Inflammopharmacology*, 28, 215-230.
25. Polat B., Cadirci E., Halici Z., Bayir Y., Unal D., Bilgin BC., Yuksel TN., Vancelik S., 2013. The protective effect of amiodarone in lung tissue of cecal ligation and puncture-induced septic rats: a perspective from inflammatory cytokine release and oxidative stress. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 386, 635-643.
26. Ruiz S., Vardon-Bounes F., Merlet-Dupuy V., Conil JM., Buleon M., Fourcade O., Tack I., Minville V., 2016. Sepsis modeling in mice: ligation length is a major severity factor in cecal ligation and puncture. *Intensive Care Med Exp*, 4, 22.
27. Tang CS., Liu MS., 1996. Initial externalization followed by internalization of beta-adrenergic receptors in rat heart during sepsis. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*, 270, R254-R263.
28. Chen SJ., Wu CC., Yen MH., 1994. Alterations of Ex-Vivo Vascular Reactivity in Intraperitoneal Sepsis. *J Cardiovasc Pharmacol*, 24, 786-793.
29. Hwang TL., Lau YT., Chen MF., Tang CS., Liu MS., 1993. Biphasic Intracellular Redistribution of Alpha-1-Adrenergic Receptors in Rat-Liver During Sepsis. *Am J Physiol*, 265, R385-R391.
30. Toscano MG., Ganea D., Gamero AM., 2011. Cecal ligation puncture procedure. *J Vis Exp*, 7, 2860.
31. Han Y., Li X., Gao S., Liu X., Kang L., Li X., Lang Y., Li X., Sun M., Gai Z., Yu S., 2019. Interleukin 17 is an important pathogenicity gene in pediatric sepsis. *J Cell Biochem*, 120, 3664-3671.
32. Doulias T., Quickert S., Weis S., Claus RA., Kontopoulou K., Giamarellos-Bourboulis EJ., Bauer M., Koutelidakis IM., 2018. Low-dose hydrocortisone prolongs survival in a lethal sepsis model in adrenalectomized rats. *J Surg Res*, 227, 72-80.
33. Goldfarb RD., Glock D., Kumar A., Mccarthy RJ., Mei J., Guynn T., Matushek M., Trenholme G., Parrillo JE., 1996. A porcine model of peritonitis and bacteremia simulates human septic shock. *Shock*, 6, 442-451.
34. Gurtner GC., Robertson CS., Chung SC., Ling TK., Ip SM., Li AK., 1995. Effect of carbon dioxide pneumoperitoneum on bacteraemia and endotoxaemia in an animal model of peritonitis. *Br J Surg*, 82, 844-848.
35. Aranow JS., Zhuang J., Wang H., Larkin V., Smith M., Fink M.P., 1996. A selective inhibitor of inducible nitric oxide synthase prolongs survival in a rat model of bacterial peritonitis: comparison with two nonselective strategies. *Shock*, 5, 116-121.
36. Channabasappa S., Durgaiah M., Chikkamadaiah R., Kumar S., Joshi A., Sriram B., 2018. Efficacy of novel antistaphylococcal ectolysin P128 in a rat model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Antimicrob Agents Chemother*, 62.



İkinci Beyin: Bağırsak

Oğuzcan KOCA^{1a}, Nurcan DÖNMEZ^{1b}✉

1. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizioloji Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0001-5311-3111^a, 0000-0003-4271-598X^b

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
10.03.2020	07.07.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Koca O, Dönmez N: İkinci Beyin: Bağırsak. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 187-195, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.701620

Öz: Bağırsak mikrobiyotası konakçılara paralel olarak gelişen ve konakçının fizyolojik ortamına bağlı karmaşık bir ekosistemi temsil etmektedir. Enterik sinir sisteminin 100 milyondan fazla nöron içermesi ve merkezi sinir sisteminden bağımsız işlev görebilmesi onun ikinci beyin olarak adlandırılmasına da neden olmuştur. Bağırsak mikrobiyotası beyin ve bağırsak arasında bir ilişki oluşturarak insan sağlığı üzerinde önemli bir rol oynar. Hastalıklarla bağırsak mikrobiyotası arasındaki ilişki incelendiğinde bazı hastalıklarda özel bir mikrobiyota olduğu ortaya konmuştur. Bu mikrobiyota sağlıklı bir insanın mikrobiyotasından farklıdır. Obezite, diyabet gibi metabolik hastalıklar ve Parkinson, Alzheimer gibi nörodejeneratif bozukluklarla bağırsak mikrobiyotası arasında bağlantı olduğuna ilişkin güçlü kanıtlar sunulmuştur. Yapılan araştırmalar gastrointestinal sistemde yaşayan faydalı ve zararlı mikroorganizmaların immün sistemi, nöral yolları ve merkezi sinir sistemini uyardığını ortaya koymaktadır. Bu mikroorganizmalar beyin ve bağırsak için önemli olan gama amino bütirik asit, dopamin ve serotonin gibi nörotransmitter maddeleri üretmektedir. Son yıllarda bağırsak mikrobiyotasına olan ilgi ve bu doğrultuda yapılan çalışmalar bu bakterilerin çevresel faktörlerden nasıl etkilendiğini ve sinir sistemi üzerinde nasıl etkiler oluşturabildiğini göstermiştir. Çevresel etkenler ve beslenmenin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri de son yıllarda açığa çıkmaya başlamıştır. Bu makalede bağırsak mikrobiyotasının beyin, davranış ve nöropsikiyatrik bozukluklar üzerine etkisi incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Alzheimer, Bağırsak, Beyin, Mikrobiyota, Parkinson.

Second Brain: Gut

Abstract: Intestinal microbiota represents a complex ecosystem that develops in parallel with the hosts and depends on the physiological environment of the host. The enteric nervous system containing more than 100 million neurons and its ability to function independently from the central nervous system also caused it to be called the second brain. The gut microbiota plays an important role in human health by creating a relationship between the brain and the gut. When the relationship between diseases and intestinal microbiota is examined, it is revealed that there is a special microbiota in some diseases. This microbiota is different from the microbiota of a healthy person. Strong evidence is provided that there is a link between metabolic diseases such as obesity, diabetes, and neurodegenerative disorders such as Parkinson and Alzheimer's, and intestinal microbiota. Research shows that beneficial and harmful microorganisms living in the gastrointestinal tract stimulate the immune system, neural pathways and central nervous system. These microorganisms produce neurotransmitter substances such as gamma amino butyric acid, dopamine and serotonin, which are important for the brain and intestine. In this article, the effects of intestinal microbiota on brain, behavior and neuropsychiatric disorders were investigated.

Keywords: Alzheimer, Brain, Gut, Microbiota, Parkinson.

✉Nurcan Dönmez

Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizioloji Anabilim Dalı, Konya, TÜRKİYE.
e-posta: nurcandonmez@selcuk.edu.tr

GİRİŞ

Mikrobiyom kavramı ilk olarak Joshua Lederberg tarafından vücut alanımızı paylaşan ortak, simbiyotik ve patojenik mikroorganizmaların ekolojik topluluğu olarak tanımlanmıştır (1). Mikrobiyom, insanların içinde veya cilt yüzeyinde bulunan mikrobiyotanın genel koleksiyonu olarak tanımlanır. İnsan mikrobiyotası vücudumuzun epitel bariyerlerinde yaşayan bakteri ve diğer mikroorganizmaların bir araya gelmesiyle oluşmaktadır. İnsan ve hayvanlarda mikrobiyota doğumdan sonra ilk 2-3 yıl boyunca stabilize olan bifidobakterilerin hâkim olduğu dinamik bir ekosistem olarak başlamaktadır. Mikrobiyal kompozisyonun çeşitliliği ve zenginliği yaşam boyunca artmaya devam etmektedir. Ayrıca, bu mikroorganizmaların sindirim, metabolizma ve bağışıklık sisteminde önemli bir rol oynadığı da gösterilmiştir (1,2,3). Mikrobiyotanın bileşimini ve sayısını konakçı genetiği, doğum şekli, bireyin yaşama tarzı, yaşı, etnik kökeni, hastalıkların görülme sıklığı, antibiyotik kullanımı ve stres gibi çeşitli faktörler belirlemektedir. Mikrobiyota fizyolojik fonksiyonları özellikle metabolizmayı, nörolojik ve bilişsel fonksiyonları, hematopoezi, enflamasyonu ve bağışıklığı da etkilemektedir (1,4).

1. BAĞIRSAK MİKROBİYOTASI

Gastrointestinal kanal 5 metre uzunluğunda ve 32 m² yüzey alanına sahip, enterik sinir sistemini oluşturan 200-600 milyon nöronun innerve ettiği, vücudun bağışıklık hücrelerinin %70-80'ine ev sahipliği yapan, 100.000'e kadar ekstrinsik sinir ucuna sahip, karmaşık ve dinamik mikroorganizma topluluklarının bulunduğu ve sindirim, emilim, salgılama gibi olayların gerçekleştiği çok önemli bir yerdir. Bakteri yoğunluğu en çok distal ince ve kalın bağırsakta bulunmaktadır (1,5).

Bağırsak mikrobiyotası konakçılara paralel olarak gelişen ve konakçının fizyolojik ortamına bağlı karmaşık bir ekosistemi temsil etmektedir. Plazenta mikrobiyal varlığı için bazı kanıtlar olmasına rağmen

(1), genel olarak doğum sırasında, emzirme ve temasla mikroorganizmalara maruz kaldığımız kabul edilmektedir. Bununla beraber doğal yoldan doğan bebeklerin sezaryen ile doğanlara göre farklı mikrobiyal yapıya sahip olduğu belirtilmiştir (4). Deriden sonraki en yoğun mikrobiyal yoğunluk (10¹²) gastrointestinal kanalda bulunmaktadır. Kolon ise insan bağırsağının en fazla sayıda mikroorganizmayı (10¹⁴) barındıran kısmıdır ve yetişkin bir insan bağırsağındaki mikroorganizmaların toplam ağırlığı, insan beyniyle yaklaşık olarak aynı ağırlıktadır (6). Enterik sinir sisteminin 100 milyondan fazla nöron içermesi ve merkezi sinir sisteminden (MSS) bağımsız işlev görebilmesi onun ikinci beyin olarak adlandırılmasına da neden olmuştur (5,7).

2. ENTERİK SİNİR SİSTEMİ

Memeli sinir sistemi, merkezi ve periferik sinir sistemi olmak üzere 2 kola ayrılmaktadır. MSS'den enterik sinir sistemine (ESS) ekstrinsik bağlantı hem sempatik hem de parasempatik sinir lifleri ile sağlanmaktadır. Parasempatik ve sempatik sinir telleri arka beyinden ayrıldıktan sonra gastrointestinal sisteme doğrudan ulaşmakta; myenterik gangliyonlar, düz kas ve mukoza hücreleri üzerinde sinapslar yapabilmektedir. İntrinsik enterik sinir sistemi ise gastrointestinal kanalda yer alan geniş nöron ve glia ağından oluşmaktadır. Bunlar gastrointestinal kanalın fizyolojisini ve fonksiyonunu bağımsız bir şekilde etkileyebilmekte (7) ancak ESS'nin çalışması sempatik ve parasempatik sinirlerle olan bağlantısıyla da ayarlanabilmektedir. Bu nedenle MSS ve ESS arasındaki iletişiminin iki yönlü olarak gerçekleştiği belirtilmiştir (5).

Bağırsak duvarındaki konumu nedeniyle ESS'nin lümen içeriğinden epitelyal bariyer, mukoza tabakası ve ayrıca iyon ve sıvı salgılanması ile korunduğu kabul edilmektedir. Bu engeller bir dereceye kadar ESS'yi mikrobiyotadan ayırmaktadır. ESS ayrıca bağırsak lümeni ile bağırsak duvarı içindeki hücreler ve dokular arasındaki epitelyal bariyerin bütünlüğünün

korunmasına gliyal hücrelerle birlikte katkıda bulunmaktadır (7). Bağırsak mikroplarının konakçıyı etkileyebileceği hücrel bileşenleri, benzersiz moleküllerin biyosentezi ve diyet modifikasyonunu içeren çok sayıda yol olduğu bildirilmektedir. Bu tür birkaç mekanizmanın mikrobiyota ve ESS arasındaki doğrudan veya dolaylı olarak iletişimi kolaylaştırmak için kullanıldığı düşünülmektedir (8).

3. BEYİN VE BAĞIRSAK ARASINDAKİ ETKİLEŞİM

Beyin ve bağırsak arasındaki iletişim, MSS, ESS, otonom sinir sistemi, hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenini, nöral, endokrin ve bağışıklık sistemlerini içeren karmaşık bir ağ aracılığıyla sağlanmaktadır. Aralarındaki bu iletişim büyük ölçüde çift yönlü olarak kabul edilmekte ve bağırsak-beyin eksenini olarak adlandırılmaktadır (9).

Bağırsak beyin ile iki nöroanatomik yoldan etkileşime girmektedir. Bunlardan biri omurilikteki otonom sinir sistemi ve vagus siniri tarafından doğrudan bağırsak ve beyin arasında karşılıklı bilgi alışverişidir. Diğer bağırsaktaki ESS ile omurilik içindeki otonom sinir sistemi ve vagus siniri arasındaki iletişim yoluyla bağırsak ve beyin arasındaki çift yönlü bir iletişimidir (10).

Bağırsak bakterileri gama amino bütirik asit (GABA), 5-Hidroksitriptamin (5-HT), dopamin ve kısa zincirli yağ asitlerini (SCFA) sentezleyebilmektedirler. Özellikle bağırsak hücreleri beyin üzerinde etkisi olan birçok 5-HT üretebilmektedir (5). Görüldüğü gibi vücuttaki birçok gerekli nörotransmitter, bağırsak mikrobiyotası tarafından üretilmekte ve beyin de dahil olmak üzere canlı vücudu üzerinde etki göstermektedir (11).

İnsanlarda ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, bağırsak enflamasyonu ve disbiyozis ile bağırsak geçirgenliğinin artmasının beyin otoimmünesinde patojenik bir rol oynayabileceğini göstermektedir (12). Periferik olarak üretilen enflamatuar faktörlerin de kan-beyin bariyerinin geçirgenliğini artırabileceği ve böylece beyni doğrudan etkileyebileceği mümkün görünmektedir (13).

4. MİKROBİYOTA ve KAN – BEYİN BARIYERİ

Kan-beyin bariyerinin (KBB) yapısal ve fonksiyonel olarak bozulması, MSS hastalıklarına katkıda bulunarak birçok MSS bozukluğunda rol oynadığı ve bakterilerin ve hücre duvarı bileşenlerinin de KBB disfonksiyonuna neden olabileceği belirtilmiştir. Menenjitte neden olduğu bilinen bakterinin, bakteriyel fimbriyalar veya lipoteikoik asit gibi hücre duvarı bileşenlerinin beyin endoteli ile etkileşimi yoluyla KBB'ni geçerek transsitozu indükleyebileceği bildirilmiştir (11,14). Beyin endotel hücreleri gram-negatif bakterilerden Lipopolisakkaritler (LPS) ve gram-pozitif bakterilerden lipoteikoik asit gibi bakteriyel hücre duvarı bileşenlerine TLR4 ve TLR2 yoluyla doğrudan yanıt vermelerini sağlayan toll-like reseptörlerini eksprese etmektedir (15). LPS ve lipoteikoik asitin, daha sonra KBB fonksiyonunu modüle eden diğer hücre tiplerinden pro-enflamatuar araçların üretimini ve salımını da indükleyebileceği bildirilmektedir (16). Lipopolisakkaritler tarafından doğrudan veya dolaylı olarak değiştirilen KBB işlevleri arasında tight junction ekspresyonu ve KBB bütünlüğü, bağışıklık hücrelerinin kaçması, HIV-1 ve insülin geçirgenlikleri, amiloid beta peptidinin akışı ve sitokinler, kemokinler, nitrik oksit ve prostaglandinlerin bariyer hücreleri tarafından salgılanması yer almaktadır (17).

Braniste ve ark. (18) germ-free (GF) fareleri spesifik patojen free (SPF) farelerle karşılaştırdıkları araştırmalarında GF farelerin tight junction proteinleri, okludin ve claudin-5 ekspresyonunda azalma olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu değişikliklerin, beyin endotelinin vasküler yoğunluk veya perisit kapsamındaki değişikliklerin yokluğunda meydana geldiği belirtilmiştir. Ayrıca, GF farelerin SPF farelerin florası ile kolonizasyonunun, KBB fonksiyonunu restore ettiği (18) ve SCFA'ların GF farelerde işlevsiz kan-beyin bariyerini geliştirerek bağırsak bariyeri bütünlüğüne katkıda bulunduğu belirtilmiştir (19).

Erny ve ark. (20) mikrobiyotanın, mikrogliyalının fonksiyonunu ve morfolojisini etkilediğini ortaya

koydukları bir çalışmada GF farelerin olgunlaşmamış fenotiplerinde, artan proliferatif belirteçleri ve artan segment uzunlukları, dallanma ve bitişik mikroglia ile temas gibi morfolojik değişiklikleri belirlemişler ve bu verilerin mikrobiyotanın mikroglia gelişimini ve olgunlaşmasını etkilediğini ifade etmektedirler.

Yapılan araştırmalarda kan yoluyla taşınan bağışıklık hücrelerinin, vasküler kan-beyin bariyeri ve koroid pleksusu geçtiği, sağlıklı beyne çok düşük seviyelerde girdiği ve T hücrelerinin koroid pleksusu ve meninksleri denetlediği gösterilmiştir (17). Bu bölümlerdeki T hücrelerinin, stres ve hasarlanmalara karşı konakçı yanıtına katkıda bulunduğu belirlenmiştir. İlginç bir şekilde, T hücresi olmayan farelerde öğrenme ve sosyal davranış sergilemede bozukluk olduğu gözlenmiştir (21). Bu çalışmalardan, T hücrelerinin serebrospinal sıvı tarafından kemirgen davranışı ile ilişkili beyin bölgelerine taşınan çözünmüş faktörleri salgıladığı sonucunun çıkarılabileceği belirtilmektedir. Bu faktörün, kemirgen prefrontal korteks nörofizyolojisi ve sosyal davranışta hayati bir rol oynadığı gösterilen T hücreleri tarafından salgılanan interferon gama olduğu belirlenmiştir (22).

5. MİKROBİYOTANIN DAVRANIŞ ÜZERİNE ETKİSİ

Bağırsak mikrobiyotası hayvan ve insan davranışlarını birkaç yoldan etkileyebilmektedir. GF farelerin bilişsel fonksiyonlarında, hafızalarında, stres cevabında, anksiyete ve sosyal davranışlarında değişikliklere neden olabileceği belirtilmiştir (23). Bu bulgular mikrobiyotanın konakçı davranışını modüle edebildiğini göstermektedir. Beyin bağırsak aksındaki etkileşimin hormonların aracılığı ile de gerçekleştiği düşünülmektedir. Konakçı davranışları üzerinde muhtemel etkisi olan bakteriyel kaynaklı hormonların nörohormonlar (serotonin ve ketaşölinler) ve stres hormonları (kortizol, kortikosteron, adrenokortikosteron ve kortikotropin) olduğu düşünülmektedir (24).

Nörohormonlar, nöronal girdilere cevap olarak nöroendokrin hücrelerden salgılanmaktadır. Sistemik bir etki için kana salgılanmalarına rağmen

nörotransmitter olarak da hareket edebilmektedir. Davranışın mikrobiyota ile modüle edilmesinin nörohormon öncülüleri aracılığıyla gerçekleştiğine inanılmaktadır. Bağırsak bakterilerinin serotonin, dopamin ve norepinefrin gibi nörohormonları üreterek bunlara yanıt oluşturduğu ifade edilmektedir (25).

5.1. Serotonin

Serotonin (5-HT) beyindeki ana nörotransmitterlerden biridir. Ancak memeli konakçı serotoninin %90'ından fazlası bağırsakta bulunmaktadır. Bağırsakta serotonin salgılanması diyetten etkilenmekte ve bağırsak hareketi, ruh hali, iştah, uyku ve bilişsel işlevleri düzenlemektedir (24). Clostridium sporojenlerinin, ESS nöronlarına etki ederek mide-bağırsak hareketliliğini uyarmak amacıyla enterokromaffin hücrelerinden serotonin salınımını uyardığı bilinen triptamini üretmek için, triptofan dekarboksilazları eksprese ettiğini ortaya koyan bir çalışmada, plazma triptofan seviyelerindeki azalmanın beyindeki serotonin üretimini azaltacağı ve bunun mikrobiyotanın davranışa olan etkisini temsil edebileceği ifade edilmiştir (26). Serotonin ayrıca Streptococcus, Escherichia ve Enterococcus türleri tarafından da üretilmekte ve Bifidobacterium infantis, plazma triptofan seviyelerini artırarak 5-HT seviyelerini düzenlediği bildirilmektedir (24).

5.2. Dopamin

Lümendeki serbest dopamin seviyelerinin, GF farelerde normal farelere göre anlamlı derecede düşük olduğu ve beta-glukuronidaz ifade eden bakteriler inokule edildiğinde tekrar yükseldiği bildirilmektedir (27). Bu sonuçlar yetersiz dopamin oluşumu ile karakterize edilen Parkinson hastalığı gibi durumlarda bağırsak bakterileri ve dopamin seviyeleri arasında korelasyon olabileceğini düşündürmektedir. Helikobakter pylori'nin L-DOPA seviyelerini etkileyerek Parkinson hastalığı riskini artırdığı gözlenmiştir. Nitekim dışkı transplantasyonu tedavisi gören Parkinson hastalarında bazı nörolojik semptomların hafiflediği bildirilmektedir (28).

5.3. Gamma Aminobütirik Asit

Memeli merkezi sinir sistemindeki ana inhibitör nörotransmitter olan gamma-aminobütirik asitin (GABA) mikrobiyota tarafından kullanılabilirdiği ve üretilebildiği bildirilmektedir. Mikrobiyotanın dolaşımdaki GABA seviyelerini etkilediği sonucuna varılan bir çalışmada, GF hayvanlarda GABA'nın lümen ve serum seviyelerinin büyük ölçüde düşük olduğu gözlenmiştir (29). İnsanlarda mikrobiyotanın manipüle edilmesinin GABA seviyelerini etkileyebileceği, ketojenik diyet uygulanan refrakter epilepsili çocukların beyin omurilik sıvısında GABA seviyelerinin artmasıyla, semptomların iyileşmesi arasında bir ilişki olabileceği belirtilmektedir (30).

6. MİKROBİYOTA ve OTİZM İLİŞKİSİ

Otizm bir dizi nörogelişimsel bozukluktur. Otizmde karakteristik nörogelişimsel bozukluklar genellikle karın ağrısı, ishal ve şişkinlik gibi bir dizi gastrointestinal semptom ile ilişkilidir (31,32). Hem otizmden etkilenen çocuklarda hem de otizimli kemirgen modellerinde bağırsak mikrobiyota bileşimi ve metabolik aktivitelerde de değişimler gözlenmiştir. Çalışmalar ayrıca serebral gelişim ve aktivite için kritik olan bağırsak mikrobiyotasının bozulmasının otistik davranış bozukluklarına katkıda bulunabileceğini ortaya koymaktadır (31).

Mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenindeki bozuklukların otizmin ortaya çıkmasına ve gelişmesine potansiyel olarak katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Mikrobiyota-bağırsak-beyin eksenindeki kritik araçlar olan SCFA'lar kan-beyin bariyerini geçebilmekte ve beyin aktivitesini doğrudan modüle edebilmektedir (32). Yapılan bir çalışmada otizimli çocukların dışkı örneklerinde düşük SCFA seviyelerine sahip oldukları gösterilirken (33) dışkıdaki SCFA'ların ve amonyak konsantrasyonlarının arttığını bildiren başka çalışmalar da bulunmaktadır (34). Foley ve ark. (35) annenin bağırsak mikrobiyotasının yavrularda otizm gelişme riskini etkileyebileceğini bildirmektedirler.

Otizimli hastalarının büyük bir yüzdesinde geniş bir antibiyotik kullanımı öyküsü bulunmaktadır. Oral antibiyotikler koruyucu mikrobiyotayı bozmakta ve bağırsakta anaerobik bakterilerin çoğalmasına neden olmaktadır (32). Örneğin, Clostridia, Bacteroidetes ve Desulfovibrio otizmde gastrointestinal semptomları ve otistik davranışları teşvik edebilecek yaygın bakteriler olarak bildirilmektedir. Bağırsak bağışıklık sistemini modüle etmenin yanı sıra, bu bakteriler otizmin patolojisine doğrudan katkıda bulunan bazı metabolitleri de üretebilmektedirler (32,36). Örneğin, Clostridium tetani, güçlü bir nörotoksin olan tetanoz nörotoksini (TeNT) üreten, her yerde bulunabilen bir anaerobik basildir. Vagus siniri ise TeNT'nin taşınmasında aracı olmakta ve bağırsak sisteminden beyne bir çıkış yolu sağlamaktadır. TeNT'nin nörotransmitter salınımı bozacağı ve bunun da otizmde gözlenen çok çeşitli davranış bozukluklarına neden olabileceği ifade edilmektedir (37).

7. MİKROBİYOTA ve PARKİNSON HASTALIĞI

Parkinson hastalığı, 65 yaş üstü kişilerin % 1-2'sini etkileyen ikinci en yaygın nörodejeneratif hastalıktır (38). Parkinson hastalığı ile ilişkili gastrointestinal işlev bozuklukları arasında kabızlık, yetersiz beslenme, dış problemleri, yutma güçlüğü, mide boşalması, dışkılama güçlükleri, bulantı, kusma, salya üretiminde artış, *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ve ince bağırsakta bakteriyel aşırı büyüme sayılabilmektedir (38,39).

Vagotominin Parkinson hastalığı gelişimi üzerindeki koruyucu etkileri ve vagus siniri tarafından beyne mikrobiyal sinyalizasyonda oynadığı rol göz önüne alındığında, bağırsak ve bakterilerinin Parkinson hastalığı gelişiminde rol oynayabileceği bildirilmektedir (39). Çok sayıda Parkinson hastasında *Helicobacter pylori* kolonizasyonu şekillendiği bildirilen çalışmalar bulunmaktadır. İlginç bir şekilde, *Helicobacter pylori* için antibiyotik tedavisinin, artan L-DOPA emilimi ve biyoyararlanımı sonucu hasta semptomlarını iyileştirdiğini gösteren bulgular olduğu ileri sürülmektedir (40).

Parkinson hastalığı olan kişilerin dışkı örneklerinde Prevotellaceae bolluğunun, kontrollere kıyasla neredeyse %80 azaldığı bildirilmektedir. Enterobacteriaceae'nin nispi bolluğu, postüral dengesizliğin şiddeti ve yürüme zorluğu ile yüksek derecede korelasyon içinde olduğu belirtilmektedir. Bulgular doğrultusunda bağırsak mikrobiyotasının Parkinson hastalığında değiştiği ve motor davranışları ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (41).

8. MİKROBİYOTA ve ALZHEİMER HASTALIĞI

İlerleyici bir nörodejeneratif bozukluk olan Alzheimer hastalığı (AD), demansın en yaygın şeklidir (42,43). Diyabet, hipertansiyon, sigara kullanımı ve obezitenin demans riskini artırdığı bildirilmektedir (42). Örneğin, bakterilerin ve hücre duvarı bileşenlerinin kan-beyin bariyeri disfonksiyonuna neden olduğu gibi (14) hipertansiyonunda kan-beyin bariyerinin vasküler bütünlüğünü azaltarak, Alzheimer riskini artıran beyin dokusuna protein ekstrasvazyonunu artırdığı ifade edilmektedir. Buna karşılık, protein ekstrasvazyonu hücre hasarına, nöronal veya sinaptik fonksiyonda bir azalmaya, apoptozise ve beta-amiloid birikiminde bir artışa yol açabileceği ve bunun da bilişsel bozulmalara neden olabileceği ileri sürülmektedir (42).

Alzheimer oluşturulmuş transgenik fare modellerinde yapılan çalışmalarda, bağırsak mikrobiyotasının manipüle edilmesinin serebral amiloid birikimini etkileyebileceği gösterilmektedir (43). Bu konuda yapılan bir çalışmada Alzheimer hastası olan bireylerin kontrollere kıyasla bağırsak mikrobiyotasında çeşitliliğin azaldığı bildirilmektedir. Alzheimer hastalarında bağırsak mikrobiyal topluluklarındaki değişikliklerin beyindeki patofizyolojik değişikliklere neden olabileceği belirtilmektedir (44). Transgenik Alzheimer hastası GF farelerin, geleneksel olarak yetiştirilmiş Alzheimer hastası farelerden daha az serebral amiloid birikimine sahip olduğu ve bunun da bağırsak mikrobiyotasının

amiloid patolojisinin gelişimini etkilediği ileri sürülmektedir (45).

SONUÇ

Bağırsak mikrobiyotasının özellikle son yıllarda yapılan çalışmalarda immün sistem, beyin ve sinir sistemi gelişiminin yanı sıra davranışların şekillenmesindeki etkisi ortaya konulduca bilim adamlarının ilgisini daha fazla çekmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyotası ve hastalıklarla ilişki incelendiğinde organizmada hastalık geliştiğinde mikrobiyotada farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Klinik araştırmalar ve yapılan deneysel çalışmalar beyin ve bağırsak arasında oldukça güçlü ve etkin bir bağ olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan bu çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasında meydana gelebilecek değişimlerin metabolizma, immunité ve hormonal sistem üzerinde değişimlere neden olabileceğinden dolayı özellikle kanser, obezite, çeşitli bağırsak hastalıkları, depresyon, panik atak, anksiyete, Parkinson ve günümüzün vebası Alzheimer gibi birçok hastalıkların gelişimine neden olabileceği bildirilmektedir. Nörolojik bozukluklar ve bağırsak beyin aksının bozulması arasındaki muhtemel ilişkiyi belirlemek için daha geniş kapsamlı klinik çalışmalara da ihtiyaç vardır. Ayrıca diyetle yapılacak değişiklikler ile beyin bağırsak arasındaki ilişki nörolojik rahatsızlıkların tedavisinde çeşitli terapötik stratejiler geliştirilmesinde rol oynayabilir.

Mikrobiyota ve sinir sistemi prenatal ve postnatal dönemlerde paralel geliştiğinden şizofren, otizm, obezite, depresyon gibi nöropsikiyatrik; Alzheimer, Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar üzerinde mikrobiyotanın etkisi son zamanlarda elde edilen bulgular ve geliştirilen teoriler ışığında yeniden değerlendirilerek bu konuda yapılan çalışmalar artırılmalıdır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Haque SZ., Haque M., 2017. The ecological community of commensal, symbiotic, and pathogenic gastrointestinal microorganisms—an appraisal. *Clin Exp Gastroenterol*, 10, 91-103.
2. Ottman N., Smidt H., De Vos WM., Belzer C., 2012. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Front Cell Infect Microbiol*, 2, 104.
3. Guinane CM., Cotter PD., 2013. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Therap Adv Gastroenterol*, 6, 295-308.
4. Costello EK., Stagaman K., Dethlefsen L., Bohannan BJ., Relman DA., 2012. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. *Science*, 336, 1255-1262.
5. Yoo BB., Mazmanian SK., 2017. The Enteric Network: Interactions between the Immune and Nervous Systems of the Gut. *Immunity*, 46, 910-926.
6. Sender R., Fuchs S., Milo R., 2016. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol*, 14, e1002533.
7. Furness JB., 2012. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 9, 286-294.
8. Hyland NP., Cryan JF., 2016. Microbe-host interactions: Influence of the gut microbiota on the enteric nervous system. *Dev Biol*, 417, 182-187.
9. Cryan JF., Dinan TG., 2012. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*, 13, 701-712.
10. Wang HX., Wang YP., 2016. Gut Microbiota-brain Axis. *Chin Med J (Engl)*, 129, 2373-80.
11. Dinan TG., Stanton C., Cryan JF., 2013. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry*, 74, 720-726.
12. Antonini M., Lo Conte M., Sorini C., Falcone M., 2019. How the interplay between the commensal microbiota, gut barrier integrity and mucosal immunity regulates brain autoimmunity. *Front Immunol*, 10, 1937.
13. Mccusker RH., Kelley KW., 2013. Immune-neural connections: how the immune system's response to infectious agents influences behavior. *J Exp Biol*, 216, 84-98.
14. Coureuil M., Lecuyer H., Bourdoulous S., Nassif X., 2017. A journey into the brain: insight into how bacterial pathogens cross blood-brain barriers. *Nat Rev Microbiol*, 15, 149-159.
15. Nagyoszi P., Wilhelm I., Farkas AE., Fazakas C., Dung NT., Hasko J., Krizbai IA., 2010. Expression and regulation of toll-like receptors in cerebral endothelial cells. *Neurochem Int*, 57, 556-564.
16. Boveri M., Kinsner A., Berezowski V., Lenfant AM., Draing C., Cecchelli R., Dehouck MP., Hartung T., Prieto P., Bal-Price A., 2006. Highly purified lipoteichoic acid from gram-positive bacteria induces in vitro blood-brain barrier disruption through glia activation: role of pro-inflammatory cytokines and nitric oxide. *Neurosci*, 137, 1193-1209.
17. Logsdon AF., Erickson MA., Rhea EM., Salameh TS., Banks WA., 2018. Gut reactions: How the blood-brain barrier connects the microbiome and the brain. *Exp Biol Med (Maywood)*, 243, 159-165.
18. Braniste V., Al-Asmakh M., Kowal C., Anuar F., Abbaspour A., Toth M., Korecka A., Bakocevic N., Ng LG., Kundu P., Gulyas B., Halldin C., Hultenby K., Nilsson H., Hebert H., Volpe BT., Diamond B., Pettersson S., 2014. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med*, 6, 263ra158.
19. Chen T., Kim CY., Kaur A., Lamothe L., Shaikh M., Keshavarzian A., Hamaker BR., 2017. Dietary fibre-based SCFA mixtures promote both protection and repair of intestinal epithelial barrier function in a Caco-2 cell model. *Food Funct*, 8, 1166-1173.
20. Erny D., Hrabe De Angelis AL., Jaitin D., Wieghofer P., Staszewski O., David E., Keren-Shaul H., Mahlakoiv T., Jakobshagen K., Buch T.,

- Schwierzeck V., Utermohlen O., Chun E., Garrett WS., McCoy KD., Diefenbach A., Staeheli P., Stecher B., Amit I., Prinz M., 2015. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat Neurosci*, 18, 965-977.
21. Filiano AJ., Gadani SP., Kipnis J., 2017. How and why do T cells and their derived cytokines affect the injured and healthy brain? *Nat Rev Neurosci*, 18, 375-384.
22. Filiano AJ., Xu Y., Tustison NJ., Marsh RL., Baker W., Smirnov I., Overall CC., Gadani SP., Turner SD., Weng Z., Peerzade SN., Chen H., Lee KS., Scott MM., Beenhakker MP., Litvak V., Kipnis J., 2016. Unexpected role of interferon-gamma in regulating neuronal connectivity and social behaviour. *Nature*, 535, 425-429.
23. Diaz Heijtz R., Wang S., Anuar F., Qian Y., Bjorkholm B., Samuelsson A., Hibberd ML., Forsberg H., Pettersson S., 2011. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108, 3047-3052.
24. Neuman H., Debelius JW., Knight R., Koren O., 2015. Microbial endocrinology: the interplay between the microbiota and the endocrine system. *FEMS Microbiol Rev*, 39, 509-521.
25. Roshchina VV., 2010. Evolutionary Considerations of Neurotransmitters in Microbial, Plant, and Animal Cells, in *Microbial Endocrinology: Interkingdom Signaling in Infectious Disease and Health*. Springer New York, 17-52.
26. Takaki M., Mawe GM., Barasch JM., Gershon MD., Gershon MD., 1985. Physiological responses of guinea-pig myenteric neurons secondary to the release of endogenous serotonin by tryptamine. *Neurosci*, 16, 223-240.
27. Asano Y., Hiramoto T., Nishino R., Aiba Y., Kimura T., Yoshihara K., Koga Y., Sudo N., 2012. Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 303, G1288-1295.
28. Pierantozzi M., Pietroiusti A., Brusa L., Galati S., Stefani A., Lunardi G., Fedele E., Sancesario G., Bernardi G., Bergamaschi A., Magrini A., Stanzone P., Galante A., 2006. Helicobacter pylori eradication and l-dopa absorption in patients with PD and motor fluctuations. *Neurology*, 66, 1824-1829.
29. Feehily C., Karatzas KA., 2013. Role of glutamate metabolism in bacterial responses towards acid and other stresses. *J Appl Microbiol*, 114, 11-24.
30. Dahlin M., Elfving A., Ungerstedt U., Amark P., 2005. The ketogenic diet influences the levels of excitatory and inhibitory amino acids in the CSF in children with refractory epilepsy. *Epilepsy Res*, 64, 115-125.
31. De Theije CG., Wopereis H., Ramadan M., Van Eijndthoven T., Lambert J., Knol J., Garssen J., Kraneveld AD., Oozeer R., 2014. Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun*, 37, 197-206.
32. Li Q., Zhou JM., 2016. The microbiota-gut-brain axis and its potential therapeutic role in autism spectrum disorder. *Neurosci*, 324, 131-139.
33. Adams JB., Johansen LJ., Powell LD., Quig D., Rubin RA., 2011. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol*, 11, 22.
34. Wang L., Christophersen CT., Sorich MJ., Gerber JP., Angley MT., Conlon MA., 2012. Elevated fecal short chain fatty acid and ammonia concentrations in children with autism spectrum disorder. *Dig Dis Sci*, 57, 2096-2102.
35. Foley KA., Macfabe DF., Vaz A., Ossenkopp KP., Kavaliers M., 2014. Sexually dimorphic effects of prenatal exposure to propionic acid and lipopolysaccharide on social behavior in neonatal, adolescent, and adult rats: implications for autism spectrum disorders. *Int J Dev Neurosci*, 39, 68-78.
36. Macfabe D., 2012. Short-chain fatty acid fermentation products of the gut microbiome: Implications in autism spectrum disorders.

- Microb Ecol Health Dis, 23, 1-24.
37. Bolte ER., 1998. Autism and Clostridium tetani. Med Hypotheses, 51, 133-144.
38. Felice VD., Quigley EM., Sullivan AM., O'keeffe GW., O'mahony SM., 2016. Microbiota-gut-brain signalling in Parkinson's disease: Implications for non-motor symptoms. Parkinsonism Relat Disord, 27, 1-8.
39. Park H., Lee JY., Shin CM., Kim JM., Kim TJ., Kim JW., 2015. Characterization of gastrointestinal disorders in patients with parkinsonian syndromes. Parkinsonism Relat Disord, 21, 455-460.
40. Pierantozzi M., Pietroiusti A., Sancesario G., Lunardi G., Fedele E., Giacomini P., Frasca S., Galante A., Marciari MG., Stanzione P., 2001. Reduced L-dopa absorption and increased clinical fluctuations in Helicobacter pylori-infected Parkinson's disease patients. Neurol Sci, 22, 89-91.
41. Dinan TG., Cryan JF., 2015. The impact of gut microbiota on brain and behaviour: implications for psychiatry. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 18, 552-558.
42. Kalaria RN., 2010. Vascular basis for brain degeneration: faltering controls and risk factors for dementia. Nutr Rev, 68, 74-87.
43. Minter MR., Zhang C., Leone V., Ringus DL., Zhang X., Oyler-Castrillo P., Musch MW., Liao F., Ward JF., Holtzman DM., Chang EB., Tanzi RE., Sisodia SS., 2016. Antibiotic-induced perturbations in gut microbial diversity influences neuroinflammation and amyloidosis in a murine model of Alzheimer's disease. Sci Rep, 6, 30028.
44. Vogt NM., Kerby RL., Dill-Mcfarland KA., Harding SJ., Merluzzi AP., Johnson SC., Carlsson CM., Asthana S., Zetterberg H., Blennow K., Bendlin BB., Rey FE., 2017. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease. Sci Rep, 7, 13537.
45. Harach T., Marungruang N., Duthilleul N., Cheatham V., Mc Coy KD., Frisoni G., Neher JJ., Fak F., Jucker M., Lasser T., Bolmont T., 2017. Reduction of Abeta amyloid pathology in APPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota. Sci Rep, 7, 41802.

YAZARLARA BİLGİ

1. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nin hakemli bilimsel yayın organı olup, Nisan, Ekim ve Aralık aylarında olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış ismi "Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg." dir.
2. Bu dergide, Türkçe veya İngilizce dillerinden birinde hazırlanmış ve daha önce başka bir dergide yayınlanmamış veya başka bir dergiye eşzamanlı olarak sunulmamış Temel Veteriner Bilimleri (Anatomi, Biyokimya, Fizyoloji, Histoloji, Mesleki Etik ve Deontoloji), Klinik Öncesi Veteriner Bilimleri (Farmakoloji ve Toksikoloji, Mikrobiyoloji, Parazitoloji, Patoloji, Viroloji), Klinik Veteriner Bilimleri (İç Hastalıkları, Cerrahi, Doğum ve Jinekoloji, Dölerme ve Suni Tohumlama), Zootekni ve Hayvan Besleme Bilimleri (Biyostatistik, Genetik, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları, Hayvancılık İşletme Ekonomisi, Zootekni), Veteriner Orjinli Gıda Hijyeni ve Teknolojisi, Egzotik Hayvanlar Bilimi ve Laboratuvar Hayvanları Bilimi alanlarında hazırlanmış orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu ve derlemeler yayımlanır.
3. Materyal olarak hayvan kullanılan orijinal araştırma makalelerinde (klinik, deneysel, saha çalışmaları vb.); etik kurul onayı alınmış olmalıdır. Etik kurul onayının alındığı kurum ve onay numarası makalenin Materyal ve Metot kısmına yazılmalıdır. Yayın kurulu etik kurul onay belgesini isteme hakkına sahiptir.
4. Yazarlar, başka kaynaklardan alınan ve kullanılan materyal ile ilgili telif hakkı şartlarına uymak ve telif hakkının dergiye devrini ifade eden sözleşmeyi imzalamakla yükümlüdürler. Dergide yer alan yazılardan doğacak her türlü sorumluluk yazar(lar)'ına aittir.
5. Makaleler değerlendirme için en az iki hakeme gönderilir. Makale kabul sürecinde, iki hakemin görüşlerinin farklı olması durumunda editör veya üçüncü bir hakemin görüşü alınarak karar verilir.
6. Sorumlu yazar Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisine yayımlanmak üzere göndereceği makale ile birlikte "**Makale Kontrol Formu**"nu da göndermek zorundadır.
7. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi' ne gönderilen makalelerde, makale değerlendirme süreci başladığı andan itibaren, makalede yazar ismi değişikliği ve isim sıralaması değişikliği yapılmaz.
8. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğüne ulaşan makale ve makale kontrol formu, dergi editörlüğüne ön değerlendirmeye tabi tutulur. Editörlük, ön değerlendirme sonucuna göre makaleyi reddetme veya hakem değerlendirmesine tabi tutmadan önce düzeltme isteme hakkına sahiptir.
9. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'nin etik politikası gereği intihale müsamaha gösterilmemektedir. Dergiye gönderilen tüm makaleler, uygun bir yazılım kullanılarak benzerlik yönünden kontrol edilir. Benzerlik oranı %15'den fazla olan makaleler (kaynaklar hariç) reddedilir.

10. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'na belirtilen "İhbarı Mecburi Hastalıklar" ile ilgili makalelerin değerlendirmeye alınabilmesi için T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan alınmış izin yazısının Dergi Editörlüğüne sunulması zorunludur.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

1. Makaleler, A4 dosya kâğıdına (tek yüz), çift satır aralıklı olarak, kenarlarından 3 cm boşluk bırakarak yazılmalı, şekil, tablolar ve kaynaklarda dahil olmak üzere sayfa sayısı orijinal bilimsel araştırmalarda ve derlemelerde 16, olgu sunumu gibi kısa bilimsel çalışmalarda ise 5 sayfayı geçmemelidir.

2. Makale, Microsoft Word 6.0 veya daha üst versiyonda, Calibri karakterinde ve 12 punto ile hazırlanmalıdır.

3. Makaleye satır numaraları (makalenin 2. sayfasından başlamak üzere sürekli olacak şekilde) ve sayfa numaraları (sayfa altında ve ortalı) eklenmelidir.

4. Makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje, vb.) makale başlığının sonuna üst simge olarak * işareti konulup makale başlığı altında italik yazıyla açıklanmalıdır.

5. Araştırmaya konu olan maddelerin ve ürünlerin ticari adları kullanılmamalıdır.

Orijinal Bilimsel Araştırma Makaleleri İçin:

Birinci Sayfa: makalenin birinci sayfası başlık, yazar isimleri ve adresleri, yazarların e-posta adresleri, sorumlu yazar iletişim bilgileri ve eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgidir oluşmalıdır.

Başlık: Türkçe ve İngilizce başlıklar sadece ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Makalenin dili Türkçe ise önce Türkçe sonra İngilizce başlık, makalenin dili İngilizce ise önce İngilizce sonra Türkçe başlık yazılmalıdır.

Yazar İsimleri ve Adresleri: Yazar(lar)'ın adı ve soyadının (akademik ünvanlı) sadece baş harfleri büyük ve başlığın altına ortalı gelecek şekilde yazılmalıdır. Sorumlu yazar (*) ile işaretlenmeli, yazarların isminin sağ üst köşesine sayı eklenmeli ve bu sayılar adresler bölümünde kullanılmalıdır. Yazarların adresinde; bağlı olduğu kurum, birim, şehir ve Ülke belirtilmelidir.

Yazarların e-posta Adresleri: makalede ismi bulunan tüm yazarların ismi ve e-posta adresleri yazılmalıdır.

Sorumlu Yazar İletişim Bilgileri: Makalenin sorumlu yazarına ait isim-soyisim, e-posta, adres, telefon, GSM ve fax numaralarını içeren bilgiler yazılmalıdır.

Makale ile İlgili Açıklayıcı Bilgi: Eğer varsa makale ile ilgili açıklayıcı bilgiler (tez, proje vb.) birinci sayfanın sonunda italik yazıyla açıklanmalıdır.

İkinci Sayfa: Makalenin ikinci sayfası Türkçe özet ve anahtar kelimeler ile İngilizce özet ve anahtar kelimeleri içermelidir. Makale yazım dili Türkçe ise öncelikli olarak Türkçe özet ve anahtar kelimeler; eğer makale yazım dili İngilizce ise öncelikli olarak İngilizce özet ve anahtar kelimeler sunulmalıdır.

Özet: Kısaca amaç, materyal, metot, bulgular ve sonuçları içermelidir. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 kelime arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Anahtar kelimeler “Türkiye Bilimleri Terimleri” nden seçilmelidir (<http://www.bilimterimleri.com/tr-index.html>). En fazla 5 adet olmalıdır. Türkçe anahtar kelimeler Türkçe’ye göre, İngilizce anahtar kelimeler İngilizce’ye göre alfabetik olarak sıralanmalıdır. Her anahtar kelime arasına (,) işareti konulup, sonuncu anahtar kelimedenden sonrada (.) işareti konulmalıdır.

Üçüncü Sayfa: Makale üçüncü sayfadan itibaren “GİRİŞ”, “MATERYAL ve METOT”, “BULGULAR”, “TARTIŞMA ve SONUÇ”, Çıkar çatışması ve “KAYNAKLAR” bölümleri halinde tamamlanmalıdır. Bulgular ve tartışma birlikte verilebilir. Gerekli olduğu takdirde, teşekkür de eklenebilir. Bölüm başlıkları büyük harflerle yazılmalıdır. Bölümlere ait alt başlıklar yalnız ilk harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır. Tüm başlıklar koyu tonda ve 12 punto ile satırbaşı hizasında yazılmalıdır.

İstatistiksel Analiz bilgileri: makalenin MATERYAL ve METOT bölümünün sonunda “İstatistiksel Analiz” başlığı altında verilmelidir.

Birimler ve Kısaltmalar: Her bir kısaltmanın açılımı metinde ilk geçtiği yerde verilmelidir. Birimler ve ölçülerde Uluslar Arası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır. Cins ve tür isimleri italik olarak yazılmalıdır. Makale içerisinde kullanılan rakamsal ve istatistiki verilerde nokta kullanılmalıdır (örnek: 44.5; 0.82; % 97.7; $P<0.01$ vb.).

Tablo ve Şekiller: Tablo ve Şekiller ana dökümandan ayrı olarak gönderilmelidir. Tablolar Dikey sayfa olanlar genişlik 7 cm’ye sığacak şekilde en fazla 35 satır, yatay sayfaya 15 cm’ye sığacak şekilde en fazla 25 satır olmalıdır. Şekiller bulanık olmayacak şekilde, jpeg, tiff, bmp veya gif formatında ve en az 150 dpi çözünürlükte hazırlanmalı, şekil üzerine yazılan yazılar ve işaretlemeler aynı şekilde resim işleme programlarında (Photoshop, paint vs.) “Calibri” fontu ile 12 puntoyu geçmemesi gerekmektedir. Grafikler resim formatında değil doc, docx, xls veya xlsx formatında hazırlanmalıdır. Şekil, grafik, fotoğraf ve resimler başlıklarda ve metin içerisinde Şekil olarak ifade edilmelidir. Şekil ve tablolar metin içerisindeki sırasına göre numaralandırılmalı ve metin içerisinde kısaltılmadan yazılmalıdır (Örn; Şekil 1, Tablo 1). Tablo ve şekillerin başlık ve açıklamaları hem Türkçe hemde İngilizce olarak eklenmelidir. Tablo ve şekillerde kullanılan her türlü kısaltma tablo ve şekil altında açıklanmalıdır.

Sonuç: Makaleye ait elde edilen/varılan sonuç, “TARTIŞMA ve SONUÇ” kısmının sonunda “sonuç olarak...” ifadesiyle başlayan tek bir paragrafla belirtilmelidir.

Olgu Sunumları İçin:

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 120'den daha az olmamalı ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Üçüncü sayfadan itibaren "GİRİŞ", "OLGU SUNUMU" (olgu sunumu başlığı altında materyal, metot ve bulgulardan bahsedilmelidir) "TARTIŞMA ve SONUÇ" "Çıkar çatışması", ve "KAYNAKLAR" şeklinde tamamlanmalıdır.

Olgu sunumu içerisinde eğer varsa İstatistiksel analiz bilgileri, birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Olgu sunumuna ait elde edilen/varılan sonuç, "TARTIŞMA ve SONUÇ" kısmının sonunda "sonuç olarak..." ifadesiyle başlayan tek bir paragrafla belirtilmelidir.

Derlemeler İçin:

Birinci ve ikinci sayfalar orijinal bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde hazırlanmalıdır. Derlemeler için hazırlanan özet derlemenin konusu hakkında bilgi ve derlemenin amacından oluşmalıdır. Özetlerde kullanılacak kelime sayısı 170-200 arasında olmalıdır ve tek satır aralıklarla yazılmalıdır.

Derleme üçüncü sayfadan itibaren "GİRİŞ" ile başlamalı, yazar/lar tarafından belirlenecek ara başlıklarla devam etmeli, "SONUÇ", Çıkar çatışması ve KAYNAKLAR ile tamamlanmalıdır.

Derleme içerisinde eğer varsa birimler ve kısaltmalar, tablo ve şekiller bilimsel araştırma makaleleri kısmında anlatıldığı şekilde sunulmalıdır.

Derlemeye ait sonuç, KAYNAKLAR bölümünden hemen önce SONUÇ başlığı altında belirtilmelidir.

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne yayımlanmak üzere gönderilen derlemenin sorumlu yazarının derlemenin konusu ile ilgili en az 3 (üç) adet makalesinin olması gerekmektedir. Sorumlu yazar, derlemesini gönderirken konu ile ilgili makalelerinin de künye bilgilerini dergi editörlüğüne göndermelidir (makale künyeleri, makale metninin en son sayfasında sunulmalıdır)

Çıkar Çatışması

Dergiye gönderilen makalenin türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme), makale içerisinde kaynaklar başlığından önce Çıkar Çatışması başlığı eklenmeli ve "yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder" ifadesi yazılmalıdır.

Kaynaklar

Kullanılan kaynak sayısı olgu sunumları için 10'dan az, araştırma makaleleri için 20'den az ve tüm makale türleri için 45'den fazla olmamalıdır.

Makale türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme) kullanılan kaynakların (makalenin gönderildiği yıl baz alınarak) en az üçte birlik kısmı son 3 yıla ait olmalıdır.

Makale türü ne olursa olsun (orijinal araştırma makalesi, olgu sunumu, derleme) kaynaklar aşağıda belirtildiği şekilde sunulmalıdır:

Metin içerisinde:

Metin içerisinde kaynaklara 1'den başlamak üzere numara verilmelidir ve bu numaralar (1), (1,2), (1,4-7,13) şeklinde parantez içerisinde belirtilmelidir. Yazar isminin kullanılacağı yerlerde ise yazarın soyadı ve parantez içerisinde kaynağın numarası Aktaş (22), Aktaş ve ark. (13) örneklerinde olduğu gibi yazılmalıdır.

Kaynaklar Bölümünde:

Metin içerisinde numaralandırılan kaynaklar, makalenin kaynaklar bölümünde numaralarına göre sıralandırılmalıdır.

Kaynak verilen bilimsel dergilerin isimlerinin yazılmasında derginin isminin kısaltması kullanılmalıdır.

Kaynak makale ise; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infect Immun*, 69, 4657-4660.

Kaynak kitap ise; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th ed., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

Kaynak kitapta bir bölüm ise; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine", Ed., SJ Ettinger, 6th ed., 230-250, W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Kaynak bir tez ise; Aktaş MS., 2005. Köpeklerde antibiyotiklerin neden olduğu ishallerde probiyotiklerden *Saccharomyces boulardii*'nin etkisi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Türkiye.

Kaynak bir kuruluşun yayını ise; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

Kaynak bir yazılım ise; SAS, 1990. SAS user's guide: Statistics, 4th ed., Sas Institute, Cary.

Web tabanlı kaynaklar kullanılmamalıdır.

MAKALENİN GÖNDERİLMESİ

Makale online sistem (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ataunivbd>) aracılığıyla dergi editörlüğüne gönderilmelidir.

DERGİ BASKISI

Kabul edilen makaleler **ücretsiz** basılacaktır.

Yazarlara ayrı baskı gönderilmeyecektir.

Sorumlu yazara makalenin basıldığı sayıdan bir örnek ücretsiz olarak gönderilir.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

- 1.** Atatürk University Journal of Veterinary Sciences is a refereed scientific publication organ of Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences and is published tri-annually in April, October and December. The abbreviation of the journal's title is "Atatürk University J. Vet. Sci.".
- 2.** Original research papers, case reports and reviews to be submitted should be prepared either in Turkish or in English, must not be published elsewhere or submitted concomitantly to any other journal, within the scope of Veterinary Medicine and relevant Departments, i.e. Basic Veterinary Sciences (Anatomy, Biochemistry, Physiology, Histology, Occupational/Professional Ethics and Deontology), Preclinical Veterinary Sciences (Pharmacology and Toxicology, Microbiology, Parasitology, Pathology, Virology), Clinical Veterinary Sciences (Surgery, Internal Medicine, Obstetrics and Gynecology, Reproduction and Artificial Insemination), Animal Science and Nutritional Sciences (Biostatistics, Genetics, Animal Nutrition and Nutritional Disorders, Animal Enterprises Economy, Animal Science), Animal-Originated Food Hygiene and Technology, with, exotic animal science and laboratory animals, are published in this journal.
- 3.** In the original research manuscripts (Clinical, Experimental, field studies, etc.), which used animals as material; ethics committee approval must be obtained. Ethics committee approval number should be written in the Material and Method section of the article. The editorial board may also request an ethics committee approval document when deemed necessary.
- 4.** Authors are responsible for complying with the copyright conditions related with the material cited (taken) from other resources or used and signing the agreement contract declaring transfer of the copyright to the journal. The full responsibility of the texts to be appeared within the journal belongs to the author(s).
- 5.** Manuscripts to be considered are sent to the two referees at least. In the article acceptance process, if the opinions of the two referees are different, the decision is made by taking the opinion of the editor or a third referee.
- 6.** The responsible author has to send the "Article Check List" along with the article to be sent to Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication.
- 7.** We will not be able to make any changes to the author names (adding/removing authors, change of order of authors) at the manuscript send to Atatürk University Journal of Veterinary Science from the moment the manuscript evaluated process begins.
- 8.** Manuscript and manuscript check list reaching Atatürk University Journal of Veterinary Sciences Editor is subject to preliminary evaluation by a journal editor. The editorial has the right to refuse the manuscript according to the preliminary evaluation result or to request a correction before subjecting it to the referee evaluation.
- 9.** According to the ethics policy of Atatürk University Journal of Veterinary Sciences, plagiarism is not tolerated. Submitted manuscripts are subject to Similarity Index checking

using appropriate software. If the Similarity Index is more than 15% (except for references), manuscript is rejected.

10. Only for Turkish authors: In order to evaluate the articles related to “diseases which have to be notified” stated by the Ministry of Agriculture and Forestry of the Republic of Turkey, the permission letter obtained from the Ministry of Agriculture and Forestry of the Republic of Turkey must be submitted to the Journal editor.

MANUSCRIPT PREPARATION

1. Manuscripts should be written in A4-sized paper (one-sided), double-spaced, with 3 cm space from the margins of the paper and should not exceed 16 pages for original scientific researches and reviews or 5 pages for short scientific studies such as case reports.

2. Manuscript should be prepared using Microsoft Word 6.0 or upper versions, in Calibri characters with 12 point typing size.

3. Line numbers (be started from the 2nd page onwards) and page numbers (at the middle of the bottom of the page) should be given in the manuscript.

4. Details (thesis, project, etc.) related with the manuscripts should be given at the end of the title of the manuscript with the sign of superscript (*) with further explanation below the title in italic format.

5. Trademarks of substances (materials) and products of the subject of the study should not be used.

For Research Articles:

First page: The first page of the manuscript should contain title, authors' name-surname and addresses, e-mail addresses of the authors, corresponding authors' explanatory details related with the manuscripts, if any.

Title: Titles in Turkish and English should be written in small letters with only the first letter to be in capital. In case of the Turkish language of the main text, firstly titles in Turkish then in English should be given, while the opposite should be given for manuscripts written in English.

Names of authors and addresses: The first letters of name and surnames (without academic titles) of author(s) should be written in capital and aligned at the middle below the title. Corresponding author (*) should be pointed, a value should be added as a superscript at the right and these values should be used in the section of addresses. In that section, the body/authority, unit/department, city and country of the authors should be described.

E-mail addresses of the authors: All the names and e-mail addresses of authors mentioned within the manuscript should be written.

Contact details of the corresponding author: The name-surname, e-mail, address, phone, mobile and fax numbers of the corresponding author should be written.

Explanatory details of the manuscripts: If any, the explanatory details (thesis, project, etc.) should be written in *italic* letters at the end of the first page.

Second page: The second page of the manuscript should contain summary and keywords.

Summary: Briefly, it should contain the aim, material, method, results and conclusions. The number of word to be used should be between 170-200 words and be written in single-space.

Keywords: The number of keywords should be 5 at maximum in the alphabetic order. Between each of the words, a comma (,) sign should be put while a full stop (.) sign should be put at the end of the last one.

Third page: From this page onwards, the manuscript should continue with the sections of “INTRODUCTION”, “MATERIALS and METHODS”, “RESULTS”, “DISCUSSION and CONCLUSION”, “Conflict of interest”, REFERENCES in the following order. The sections of results and discussion may be given together. A section of acknowledgement may also be added, if needed. Section titles should be written in capital letters. Sub-headings of the sections should be written with the first letters in capital only and aligned with the beginning of paragraph. All the headings should be written in black 12-point typing-size and aligned with the beginning of paragraph.

Data from Statistical analyses: This section should be given at the end of MATERIALS and METHODS section and under the title of “Statistical Analysis”.

Units and Abbreviations: The meaning of each abbreviation should be given where it appears first. For units and measurements, International Standard units (SI-system) should be used. The names of genus (breeds) and species should be written in italic style. For numerical and statistical values, full stop (.) sign should be used (e.g. 44.5; 0.82; 97.7 %; $P < 0.01$, etc.).

Tables and Figures: Figures, graphics, photos and pictures/plates within the headings and text should all be given as Figure. Figures and tables should be numbered according to their orders within the text and written without any abbreviation within the paragraph (e.g. Figure 1, Table 1). Tables and figures should be placed into the sections appropriately, and their headings and explanations should also be included in Turkish and English. All types of abbreviations used within tables and figures should be explained below them.

Conclusion: The ultimate result obtained should be described as “In conclusion,…” in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

For Case Reports:

The first and second pages should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The number of words to be used in summary should not be less than 120 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, INTRODUCTION, CASE REPORT (materials, methods and results should be mentioned under the title of case report) should be followed by “DISCUSSION and CONCLUSION” “Conflict of interest” and REFERENCES.

If any, data from the statistical analysis, units and abbreviations, tables and figures should be presented as given for scientific research manuscripts.

For case report, the ultimate result obtained should be described as “In conclusion,...” in a single paragraph at the end of DISCUSSION and CONCLUSION section.

For Reviews:

The first and second pages of reviews should be prepared according to details given for the scientific research manuscripts. The summary should involve data on the subject and aim of the review. The number of words used in summary should be between 170-200 words and be written in single-spaced type.

From the third page onwards, reviews should start with “INTRODUCTION”, continue with subheadings to be determined by the author(s) and be completed with “CONCLUSION” “Conflict of interest” and REFERENCES.

If any, the units and abbreviations, tables and figures within the review should be presented as given for scientific research manuscripts.

For reviews, the ultimate result should be described as CONCLUSION section in a single paragraph just before the section for REFERENCES.

The corresponding author of the compilation sent to the Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication must have at least 3 articles on the subject of the compilation. The corresponding author must send the citation information of relevant articles related to the subject along with his/ her article (relevant article citations must be presented on the last page of the article)

Conflict of interest

Regardless of the type of manuscript submitted to the journal (original research article, case report, review), the title of Conflict of Interest should be added before the references in the article and “the authors declare that there is no conflict of interest”.

References

The number of references used must not be less than 10 for case reports, less than 20 for research articles, and more than 45 for all article types.

Regardless of the type of article (original research article, case report, review), at least one-third of the references used (based on the year the article was submitted) must belong to the last three years.

Regardless of the type of manuscript (original research paper, case report, review), references should be given, as follows:

For Text section:

Within the text, reference numbers should be given as numbers starting from 1, and these numbers should be indicated within the brackets as (1), (1,2), and/or (1,4-7,13). Where the name of the author is to be given, the surname of the author and reference number should be written as Aktas (22), and/or Aktas et al. (13).

For References section:

The references given within the text should be given as numbers in numerical order within the reference section.

For writing the scientific journals, its international title recommended by the journal should be used. The journal title abbreviation must not be used.

For articles; Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infection and Immunity*, 69, 4657-4660.

For books; Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th edn., 330-335, Woodhead Publication, Cambridge.

For chapters of a book; Mark E., 1989. Thyroid diseases. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine", Ed., SJ Ettinger, 6th edn., 230-250, W.B. Saunders Co., Philadelphia.

For theses; Aktas MS., 2005. Efficacy of *Saccharomyces Boulardii* as a probiotic in Dogs with lincomycin induced diarrhoea. Ankara University, Graduate School Health Science, Turkey.

For publications of a Foundation; FAWC, 1991. Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publication.

For softwares; SAS, 1990. SAS user's guide: Statistics, 4th edn., SAS Institute, Cary.

Web-based references should not be used.

MANUSCRIPT SUBMISSION

The manuscript must be sent to the journal editor through online system (<https://dergipark.org.tr/tr/pub/ataunivbd>).The file names of original manuscripts and tables should involve a “.doc” extension.

Figures (graphs, photos, figures and pictures/plates) should be submitted, as a separate file, in JPEG format with 300 DPI resolutions.

JOURNAL’S PRESS

Manuscript accepted for publication will be published free of charge.

No offprints will be sent to the authors.

A copy of the issue of the journal with the article is sent for free to the corresponding author of the article.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ

YAYIN HAKLARI DEVRİ SÖZLEŞMESİ

Makale Türü: () Araştırma () Derleme () Olgu Sunumu () Diğer

Makale Başlığı:.....

.....

Biz türü ve başlığı yukarıda belirtilmiş makalenin yazarları olarak; Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi yazım ve yayın şartlarını bilerek ve kabul ederek hazırlayıp yayımlanması dileğiyle Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğüne gönderdiğimiz makalenin orijinal olduğunu, kısmen veya tamamen daha önce yayımlanmadığını veya eşzamanlı olarak başka bir yayın kuruluşuna gönderilmediğini, makale yayımlandıktan sonra ortaya çıkabilecek her türlü bilimsel ve etik sorumluluğun bize ait olduğunu ve Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'nin hiçbir sorumluluk taşımayacağını, danışman ve dergi editörü tarafından gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayımlandığı tarihten itibaren Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne devrettiğimizi taahhüt ederiz.

Bununla birlikte yazarların telif hakkı dışında kalan patent vb. tescil edilmiş hakları, yazarların kitap ve dersler gibi çalışmalarında makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanım hakkı, ticari amaçla kullanmamak üzere makaleyi çoğaltma hakkı saklıdır.

Yazarın Adı ve Soyadı
(Makaledeki İsim Sırasına Göre)

İmza

Tarih

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8

Sorumlu Yazar

Adı ve Soyadı:

Adres:

Telefon/Fax:

E-posta:

Tarih:.....İmza:.....

Not: Lütfen formu doldurduktan sonra e-posta adreslerimizden herhangi birine gönderiniz.

DERGİ ADRESİ

Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü, 25240 Kampüs/ERZURUM-TÜRKİYE

Tel: +90 442 2360880, Fax: +90 0442 2360881, E-posta: vetdergisi@atauni.edu.tr/ atavetderg@hotmail.com

ATATÜRK UNIVERSITY JOURNAL OF VETERINARY SCIENCES
COPYRIGHT DECLARATION FORM

Type of Manuscript: () Research () Review () Case Report () Other
Title of Manuscript:.....
.....

We, as the authors of manuscript having type and title aforegiven, declare that; i) this manuscript submitted to The Editor of Atatürk University Journal of Veterinary Sciences for publication, as prepared in complying with the instructions for authors, is original, ii), it has not been published partially or totally or submitted synchronously to other publishing body, iii) all the possible scientific and ethical responsibilities, without any further responsibility of The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences at all, following the publication of manuscript are belong to us, iv) we transfer all the copyrights along with the corrections recommended by the advisor and Editor to The Journal of Ataturk University Veterinary Sciences following the date of publication of the manuscript.

However, other than the copyright conditions described; i) the authenticated rights (such as patent), ii) the right of use of the manuscript, totally or partially, for scientific activities such as books and lectures, with no charge and iii) dissemination of the manuscript by the authors without commercial purposes are all reserved.

Name and Surname of the author (in the manuscript's order)	Signature	Date
---	------------------	-------------

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8

Corresponding Author

Name and Surname:

Address:

Phone/Fax:

E-mail:

Date:.....Signature:.....

Note: Please send the form to either of our e-mail addresses after filling in the blanks.

JOURNAL'S ADDRESS

Atatürk University Faculty of Veterinary Sciences, The Editor of Atatürk University J. Vet. Sci., 25240-Campus/Erzurum-TURKEY

Phone: +90 442 2360880, Fax: +90 0442 2360881, E-mail: vetdergisi@atauni.edu.tr or atavetderg@hotmail.com

Araştırma Makaleleri / Research Articles

▶ Derviş ÖZDEMİR, Zekeriya ÖZÜDOĞRU, Hülya BALKAYA, Hülya KARA. Hasmer Koyununda Arteria Celiaca ve Dallarının Makroanatomik İncelenmesi (<i>Macroanatomic Investigation of Arteria Celiaca and Its Branches in Hasmer Sheep</i>).	100-105
▶ Leyla ATASEVEN. Determination of Seroprevalence of Infectious Bovine Keratoconjunctivitis Disease by ELISA and AGID (<i>Siğirilerin İnfeksiyöz Keratokonjunktivitis Hastalığının Seroprevalansının ELISA ve AGID Testi ile Belirlenmesi</i>).	106-112
▶ Duygu KÖSE, Zekai HALICI, Erdem TOKTAY. Prepubertal ve Postpubertal Sıçanların Genital Sistem Organlarında Ürotensin 2 Reseptörünün Karşılaştırılması (<i>A Comparison of Urotensin 2 Receptor in Genital System Organs of Prepubertal and Postpubertal Rats</i>).	113-121
▶ Gizem ESER, Serkan YILDIRIM, Yavuz Selim SAĞLAM, Demet ÇELEBİ, Ahmet YILMAZ. Koyun Pnömonilerinde <i>Mannheimia (Pasteurella) haemolytica</i> İzolasyonu ve Patolojik İncelemeler (<i>Isolation and Pathological Examinations of Mannheimia (Pasteurella) haemolytica in Sheep Pneumonia</i>).	122-129
▶ Safak SANDAYUK, Pınar AKSU KILICLE. Investigation of The Genotoxic Effect of Acetamidrid in Mouse Bone Marrow Cells by KA (chromosomal aberration) and MN (micronucleus) Test Methods (<i>Asetamidridin Fare Kemik İliği Hücrelerinde Genotoksik etkisinin KA (Kromozomal Aberasyon) ve MN (Mikronükleus) Test Yöntemleri ile Araştırılması</i>).	130-137
▶ Recep Hakkı KOCA, Muhammed Mesud HÜRKÜL, Serdal KURT, Ayşegül KÖROĞLU. Wistar Albino Sıçanlarda <i>Michauxia campanuloides L'Hér.</i> 'in Bazı Sperma Parametreleri Üzerine Etkisi (<i>The effect of Michauxia campanuloides L'Hér. on Some Semen Parameters in Wistar Albino Rats</i>).	138-144
▶ Emrah BAYYİT, Oğuz MERHAN. Normal ve Güç Doğum Yapan İneklerde Bazı Akut Faz Proteinlerinin ve Oksidatif Stres Düzeyinin Belirlenmesi (<i>Some Acute Phase Proteins and Oxidative Stress Level in Cows with Normal Parturition and Dystocia</i>).	145-150
▶ İsmail AYTEKİN. Botulismuslu İneklerde Serum Total Sialik Asit Konsantrasyonunun ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi (<i>Evaluation of Serum Total Sialic Acid Levels and Some Biochemical Parameters in Cows with Botulism</i>).	151-155
▶ Hüban GÖÇMEN, Hazel TAMAKAN, Halit ŞÜKRÜ, Ömer Memduh ESENDAL. Kedi ve Köpeklerden İzole Edilen <i>Staphylococcus</i> Türlerinde Çoklu İlaç Dirençliliğinin Araştırılması (<i>Investigation of Multidrug Resistance among Staphylococcus Species Isolated from Cats and Dogs</i>).	156-166
▶ Osman YILMAZ, Zafer SOYGÜDER, Alpaslan YAVUZ. Van Kedilerinde Skeleton Manus'un Bilgisayarlı Tomografi ile Üç Boyutlu Olarak İncelenmesi (<i>Three-Dimensional Investigation by Computed Tomography of The Skeleton Manus in Van Cats</i>).	167-176

Olgu Sunumu / Case Report

▶ Gizem AKIN. <i>Rottweiler</i> Irkı Köpekte Uterin Leyomyosarkom, Miyometritis ve Hemanjiyosarkom Olgusu (<i>A Case of Uterine Leiomyosarcoma, Myometritis and Hemangiosarcoma in a Rottweiler Dog</i>).	177-180
--	---------

Derlemeler / Reviews

▶ Beyzagül POLAT ERKAYMAN. Sepsis Oluşturmak İçin Kullanılan Deneysel Hayvan Modelleri (<i>Experimental Animal Models for Sepsis</i>).	181-186
▶ Oğuzcan KOCA, Nurcan DÖNMEZ. İkinci Beyin: Bağırsak (<i>Second Brain: Gut</i>).	187-195