



**MAKÜ** ARALIK/DECEMBER 2021 CİLT / VOLUME 6 SAYI / ISSUE 3

MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
**VETERİNER FAKÜLTESİ**  
**DERGİSİ**

VETERINARY JOURNAL OF  
MEHMET AKİF ERSOY UNIVERSITY

E-ISSN: 2148-6239

**Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**

Cilt / Volume: 06 . Sayı / Number: 03 . 2021

**Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University**

Dört ayda bir yayınlanır / Published tri-annual

E-ISSN 2148-6239

**İmtiyaz Sahibi**

Budur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Adına

**Prof. Dr. Adem KORKMAZ**

Rektör

**Editörler Kurulu / Editorial Board**

**Baş Editör / Editor-in Chief**

Prof. Dr. Hakan ÖNER

**Editör Yardımcıları / Associate Editors**

Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ

Prof. Dr. Ahmet AYDOĞAN

Doç. Dr. Ahmet Cumhur AKIN

Doç. Dr. Halil YALÇIN

Doç. Dr. Ömer Gürkan DİLEK

Doç. Dr. Ömer Hidayet TUTUN

Dr. Özlem ŞAHAN YAPICIER

Dr. Öğr. Üyesi Hasbi Sait SALTİK

**Sekreteryaya / Secretary**

Öğr. Gör. Leyla Elif Özgü AYÖZGER

Öğr. Gör. Derya Merve KARAGÖZ

**Redaktör / Redactor**

Doç Dr. Halil YALÇIN

**Mizanpaj, Sayfa Tasarımı ve Dizgi /**

*Layout, Page Design and Composition*

Dr. Öğr. Üyesi Hasbi Sait SALTİK

Arş Gör. Mustafa Furkan PALA

Tel: 0248 213 2000/2010

**Yönetim Yeri**

**Adres / Address**

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Veteriner Fakültesi Dekanlığı

İstiklal Yerleşkesi 15030 BURDUR

**Yayın Kurulu / Publication Board\***

ADANIR Ramazan, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

BALKEVICIUS Mikas, NGO – Problem Based of Learning Institute

BÜYÜKOĞLU Tülay, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

CENGİZ Seyda, Atatürk Üniversitesi

ÇETİN Yunus, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

ÇINAR Harun, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

DIMITROV Rosen, Trakia University

DURO Sokol, Agricultural University of Tirana

KARAKURUM Mehmet Çağrı, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

KART Asım, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

KÖSE Onur, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

MAMAK Nuri, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

MIGALA- WARCHOL Aldona, University of Technology

OĞUZ Mustafa Numan, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

OTROCKA - DOMAGAŁA Iwona, University of Warmia and Mazury

ÖZGEL Özcan, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

ÖZMEN Özlem, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

ÖZSOY Şule Yurdağül, Mustafa Kemal Üniversitesi

STAMATOVA-YOVCHEVA Kamelia, Trakia University

TAŞCI Fulya, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

URAL Kerem, Adnan Menderes Üniversitesi

YİĞİTARSLAN Kürşat, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

\*Bu dergi Uluslararası Zoological Record, DOAJ, CAB Abstract, CiteFactor, Google Scholar, Science Library Index, International Institute of Organized Research, Researchbib, SciLit, SJIFactor, COSMOS IF ve SOBIAD indeksleri tarafından taranmaktadır.\*

\*This Journal is indexed and abstracted by Zoological Record, DOAJ, CAB Abstract, CiteFactor, Google Scholar, Science Library Index, International Institute of Organized Research, Researchbib, SciLit, SJIFactor, COSMOS IF and SOBIAD.\*

Tüm hakları saklıdır. Bu Derginin tamamı ya da Dergide yer alan bilimsel çalışmaların bir kısmı ya da tamamı Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı'nın yazılı izni olmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayımlanamaz.

**E-posta:** veterinerdergi@mehmetakif.edu.tr

**Web Adresi:** <https://edergi.mehmetakif.edu.tr/index.php/vfd>

**Online Makale Gönderme (Online Submission)**

<http://dergipark.gov.tr/journal/779/dash-board>

*Dergimizde yayımlanan makaleler, "iThenticate & Turnitin intihal analiz programı" kullanılarak incelemeye tabi tutulmaktadır.*

**MAE Vet Fak Derg, 2021, 6 (3) Sayısının Hakem Listesi\***

**[The referee names of Vet J MAEU, 2021, 6 (3)]**

- ACAR Abuzer, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi*
- AKBAŞ Aykut Asım, *Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- ASLAN Öznur, *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- ATEŞ Sevinç, *Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- ATLI Kamil, *Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- AYDIN Hakan, *Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- AYDOĞAN Ahmet, *Çukurova Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- BOLACALI Memiş, *Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- CANGÜL Tacı, *Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- DURU Özkan, *Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- ER Cenk, *Çukurova Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- EVECEN Mithat, *İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- GÜLERSOY Erdem, *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- GÜLEŞ Özey, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- GÜRBÜZ Semra, *Mardin Artuklu Üniversitesi Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü Öğretim Üyesi*
- GÜRLER Şükrü, *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- KULAKSIZ Recai, *Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- KÜRTÜL İbrahim, *Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- MUZ DİLEK, *Tekirdağ Namık Kemal Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- ÖZTÜRK GÜRGEN Hazal, *İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- SABANCI Seyyid Said, *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- ŞAHNA Kezban, *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*
- TATAR Musa, *Kastamonu Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi*

\*2021 yılı 6.Cilt, 3. sayısında bulunan yayın kurulu üyeleri ve görev alan hakemler alfabetik sıraya göre dizilmiştir.

# İÇİNDEKİLER / CONTENTS

## Araştırma Makalesi / Research Articles

### Quantification of mineral and toxic elements in milk of dairy cows by ICP-MS

ALTUN SK, PAKSOY N. ....93-98

### Köpek, sığır, keçi ve koyunlarda mavi dil seroprevalansı

BAYRAM E, GÜMÜŞOVA SO .....99-103

### Measurement of paraoxonase and telomerase enzymes and HDL (high density lipoprotein) values and research of their possible relationships with each other in bloodserum of obese cats

DAĞ T, ŞAHİNDURAN Ş .....104-108

### Kızıl Tilki (*Vulpes vulpes*)’de Larynx Kıkırdak’larının ve Trachea’nın Morfolojik Çalışması

HALIGÜRA, ÖZKADİF S .....109-114

### Estimation of body weight and body condition score in dairy cows by digital image analysis method

KAYA M, BARDAKÇIOĞLU HE .....115-121

### Investigation of the effect of linoleic acid on vascularization in experimentally induce zoledronic acid-related osteonecrosis in rats

YURTAL Z, SERİNDERE G, AKTUNA BELGİN C, TAKCI L .....122-126

### Kedilerde feline coronavirus (FCoV) enfeksiyonunun kalsiyum metabolizması üzerindeki etkisinin araştırılması

CENGİZ HB, GÖKCE Hİ .....127-132

### Calicivirus ile enfekte kedilerde adenozin deaminaz 1, paraoksonaz 1, C-reaktif protein ve serum amiloid A düzeylerinin araştırılması

SARIKAYA S, GÖKCE Hİ .....133-138

### Mevsim dışında östrus senkronizasyonu uygulanmış kilis çebicilerinde eCG uygulama zamanının fertilité üzerindeki etkileri

ÖZMEN MF, ŞİRELİ HD, CİRİT Ü, ÇINA EM, SAY E .....139-142

### Histological and histometric study of the small intestine in Stara Zagora white turkey in age aspect

YOVCHEV D .....143-147

**Some Fertility traits of Holstein friesian cattle raised at various production scales in the Western Mediterranean Region of Turkey**

ÖZTÜRK Y, SİPAHİ C .....148-152

**Olgu Sunumu / Case Report**

**İki ceylanda (*Gazella subgutturosa*) görülen parazitik pnömoni ve *Trueperella pyogenes* ve *Candida albicans* ile ilişkili nekrotik-purulent bronkopnömoni**

YILMAZ R, KESKİN O, GÜLLÜ YÜCETEPE A .....153-157

**Derleme / Review**

**COVID-19 infections in pets such as cats and dogs**

DEMİRCİ M, YİĞİN A, KOCAZEYBEK BS, KESKİN O .....158-162

# Quantification of mineral and toxic elements in milk of dairy cows by ICP-MS

Serap Kılıç Altun<sup>1</sup>, Nilgün Paksoy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Hygiene and Technology, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, 63200, Şanlıurfa/TURKEY

<sup>2</sup>Department of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, 63200, Şanlıurfa/TURKEY

## Key Words:

cow milk  
mineral  
toxic element  
ICP-MS

Received : 21.01.2021  
Accepted : 18.10.2021  
Published Online : 31.12.2021  
Article Code : 866003

## Correspondence:

N PAKSOY  
(nilgunpaksoy@harran.edu.tr)

## ORCID

SK ALTUN :0000-0002-4203-2508  
N PAKSOY :0000-0001-6231-5524

This research was presented as a oral presentation at the 1st International GAP Food, Agriculture and Veterinary Sciences Congress held in Şanlıurfa on 29 November - 01 December 2019.

## ABSTRACT

Milk is an important component of mammalian metabolism which included micro and macronutrients. The objective of this study was to survey the concentrations of minerals and toxic elements in cow milk samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). In this study, it was analyzed the content of sodium, magnesium, potassium, calcium, zinc, iron, copper, cobalt, manganese, nickel, selenium, chromium, titanium, arsenic, cadmium, lead, and thallium in cow milk samples (n=25) collected from Kahramanmaraş province of Turkey. The highest levels recorded for potassium, calcium, and sodium with average concentrations of 1587.36, 1157.98, 643.34 mg L<sup>-1</sup>, respectively. The results revealed that the toxic element levels were below the limit of detection in cow milk samples. Regular element analysis of cow milk, which is the most widely used milk in dairy industry, is important for health.

## INTRODUCTION

Milk is an important requirement of mammalian metabolism, especially in the early stages of life. The reason why milk is important for mammalian metabolism is the presence of proteins, amino acids, fats and minerals necessary for metabolism. The minerals are in proportional equilibrium with ions, amino acids, carbohydrates, lipids (1), and these elements create the nutritional level of the milk. There are a lot of factors such as feed, geographical location, forage, maternal age, lactation stage, milking time, and environmental characteristics such as water, soil, affect the quality of milk (1, 2).

Minerals have biochemical, structural, and nutritional features in physical and mental metabolic reactions (3, 4). Sodium is a major cation for regulating osmotic pressure and acid-base balance (3). Potassium is important for nerve impulses and bone metabolism (3). Calcium is an essential element for bones, teeth, enzyme activation, and cardiac concentration (3, 5). Magnesium is important for muscle contraction and the regulation of blood pressure (3). When we examine the studies conducted in different regions of Turkey in the past years, Yılmaz (2017) reported the most abundant minerals in cow's milk as calcium, magnesium, phosphorus and potassium from

Muş province (6). Also Dinç et al. (2019) reported that the most abundant minerals in cow milk as potassium, calcium and, phosphorus from Şanlıurfa, Gaziantep and Mardin province (7).

The increase in environmental pollution leads to increased exposure of milking animals to environmental pollution and thus contamination of milk and dairy products. So, milk may include varied toxic elements such as thallium, cadmium, lead, arsenic. These toxic elements originated either geographical origin or pollution caused by developing technology (8-10). When the international studies are examined; heavy metal contamination in milk and dairy products, most notably lead and cadmium, has been reported (3, 7, 11, 12, 13, 14, 15, 16). However, these studies were done in the milk of cattle raised in the researchers' home countries and showed different results. Considering the studies conducted in our country, according to Temurci et al. (17) in the province of Ankara, Şimşek et al. (18) in the province of Bursa, Ayar et al. (19) in the province of Konya, Bigucu et al. (20) in Çanakkale and İnci et al. (21) in Aydın reported the contamination of metals such as aluminum, arsenic, cadmium, chromium, cobalt, copper, iron, nickel, manganese, lead and selenium in milk and dairy products in their study. The objective of this study was to detect the

mineral and toxic element concentrations in cow milk samples with inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS).

## MATERIAL and METHODS

### Sample Collection

A number of 25 cow milk samples were gathered from Kahramanmaraş province of Turkey. Milk samples were collected between 8:00-10:00 am from different local market. Cow milk samples, collected in sterile polyethylene tubes and brought to the laboratory under the cold chain, stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until analysis. In this study, the method of Dinç et al.' study was modified and applied (7).

### Instrumentation

Sodium, magnesium, potassium, calcium, zinc, iron, copper, cobalt, manganese, nickel, selenium, chromium, titanium, arsenic, cadmium, lead, and thallium were measured by ICP-MS (7700x, Agilent, The USA) with an AutoSampler (Cetac ASX-520). A microwave dissolver (CEM Corporation, USA) with teflon vessels was used for sample digestion. The operating circumstances for microwave digestion were carried out in the order presented in Table 1.

**Table 1.** Operating conditions of microwave digestion.

Stage	Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Time (min.)	Power (Watt)
1	120	7	1600
2	160	5	1600
3	210	20	1600

### Preparation and Digestion of Samples

Five mL of milk samples were taken and put into the vessels of the microwave digestion. 4 mL of nitric acid ( $\text{HNO}_3$ ) and 2 mL of hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) was added and placed in the microwave digestion system. With an appropriate program, the milk samples were thawed in the microwave. The thawed samples were transferred to a sterile 50 mL falcon tube which was never used and diluted to 50 mL with ultra-pure water (7).

Macro, micro and toxic mineral levels of milk samples were measured by Agilent brand, 7500ce series ICP-MS (Tokyo, Japan) device in Mersin University Advanced Technology Education, Research and Application Center (MEITAM) laboratory (7).

### Quality Assurance

On the ICP-MS device, each analysis was performed in 3 replicates and the average of these 3 replicates were taken. Analyses with a relative standard deviation (RSD%) of these 3 replicates were repeated 3. During the analyzes, a standard reading was performed in every 10 samples and the accuracy of the instrument was maintained until the end of the analysis. Limit of quantification (LOQ) and limit of detection (LOD)

was calculated, respectively as shown in Table 2.

### Statistical Analysis

Minerals and toxic element concentrations were not ordinarily distributed; whence, a non-parametric test was used for the statistical analysis. Statistical significance was set at  $P < 0.05$  and analyses were performed using software of SPSS 11.0 (IBM, USA).

## RESULTS

Sodium, magnesium, potassium, calcium, zinc, iron, copper, nickel, selenium, and titanium were detected in all samples of cow milk (positive rate 100.0 %). Table 3 presents the mineral and toxic element concentrations measured in cow milk samples.

## DISCUSSION

Minerals have a constitutional part in the mammalian structure and it is great familiar that milk and dairy products are well dietary resources of macro-minerals (sodium, magnesium, potassium, calcium). The quantity of minerals may vary in the function of the operated analytical methods, and therefore there is no complete contract within different

authors about mean content in milk and dairy products. The analytical method (ICP-MS) used in this study was preferred because it is sensitive, up-to-date and reliable considering the mineral and toxic metal contents of milk samples. The minerals are in chemical balance with amino acids, proteins, carbohydrates, and lipids present in higher amounts in milk (1). Magnesium plays an important role in approximately three hundred enzymatic reactions (7). The contents of magnesium in cow milk monitored in this study are higher than those reported in cow milk ( $151\text{-}167\text{ mg L}^{-1}$ ) (22) and commercial milk samples from Spain ( $126\text{ mg L}^{-1}$ ) (23). This may be due to the vegetation the animal feeds on. Potassium is an intracellular cation that has a remarkable role for in heart, nervous, and urinary systems. The mean potassium level found in this study was  $1587.3\text{ mg L}^{-1}$ , which was higher than the results of Chi et al. (24) that was  $1532\text{ mg L}^{-1}$  and lower than the findings of Bilandžić et al. (11) that was  $2070\text{ mg L}^{-1}$ . The level of iron in cow milk is higher than in the study of Park (25). Soil ingestion by grazing animals may notably influence the iron content of milk (26). Calcium is mandatory for nerve transmission, tooth

**Table 2.** Detection limits and spike recovery of mineral and toxic elements in milk samples for quality control.

<b>Minerals and toxic elements</b>	<b>LOQ</b>	<b>LOD</b>	<b>Recovery (%)</b>
Na (mg L <sup>-1</sup> )	24.0	2.0	101.1
Mg (mg L <sup>-1</sup> )	12.4	1.8	102.6
K (mg L <sup>-1</sup> )	8.2	1.6	101.9
Ca (mg L <sup>-1</sup> )	5.7	2.1	104.5
Zn (mg L <sup>-1</sup> )	10.6	3.4	102.6
Fe (mg L <sup>-1</sup> )	14.2	8.8	104.7
Cu (µg L <sup>-1</sup> )	6.1	1.1	101.6
Co (µg L <sup>-1</sup> )	1.8	0.5	103.8
Mn (µg L <sup>-1</sup> )	11.2	1.9	104.2
Ni (µg L <sup>-1</sup> )	10.9	1.0	106.2
Se (µg L <sup>-1</sup> )	1.5	1.5	101.8
Cr (µg L <sup>-1</sup> )	0.7	0.5	104.2
Ti (µg L <sup>-1</sup> )	1.3	0.1	102.2
As (µg L <sup>-1</sup> )	7.2	0.2	104.6
Cd (µg L <sup>-1</sup> )	8.1	0.7	105.1
Pb (µg L <sup>-1</sup> )	10.2	0.5	101.2
Tl (µg L <sup>-1</sup> )	10	1.5	100.9



**Table 3.** Concentrations of minerals and toxic elements in cow milk samples.

Minerals and toxic elements	Positive sample no	Minimum	Maximum	Mean $\pm$ SD
Na (mg L <sup>-1</sup> )	25	241.5	807.9	643.3 $\pm$ 166.4
Mg (mg L <sup>-1</sup> )	25	67.9	148.3	103.4 $\pm$ 21.1
K (mg L <sup>-1</sup> )	25	1376.6	1708.3	1587.3 $\pm$ 80.4
Ca (mg L <sup>-1</sup> )	25	841.4	1447.9	1157.9 $\pm$ 152.9
Zn (mg L <sup>-1</sup> )	25	0.94	6.44	3.49 $\pm$ 1.41
Fe (mg L <sup>-1</sup> )	25	0.63	5.69	4.33 $\pm$ 1.55
Cu ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	25	54.6	160.8	103.9 $\pm$ 32.1
Co ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	4	13.06	16.04	14.07 $\pm$ 1.34
Mn ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	4	22.26	37.38	29.3 $\pm$ 7.59
Ni ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	25	81.5	618.5	279.1 $\pm$ 144.8
Se ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	25	245.3	1545	975.9 $\pm$ 387.2
Cr ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	11	60	315	182.7 $\pm$ 85.2
Ti ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	25	2430	3998	3272 $\pm$ 413.7
As ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	-	<LOD	<LOD	<LOD
Cd ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	-	<LOD	<LOD	<LOD
Pb ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	-	<LOD	<LOD	<LOD
Tl ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	-	<LOD	<LOD	<LOD

formation, enzyme activity, and blood coagulation (24). The average calcium level in this study was estimated 1157.9 mg L<sup>-1</sup>, which was higher than the study from Mardin, Gaziantep, and Şanlıurfa: 780.72, 1014.12, 766.78 mg L<sup>-1</sup> (9). The levels

of copper, zinc, and iron in cow milk samples were within the range of this literature (3, 4). The low concentrations of copper should be owing to zinc included in milk that steps in with the copper absorption system, describing the presence of a low concentration of this mineral in milk (27). The levels of arsenic, cadmium, lead, thallium in our study are below the detection limits and it is similar to the results of the study of Lante et al. (12). The findings of this study indicated that the studied cow milk samples usually, included an adequate quantity of minerals, a reality that has a major influence on its nutritional quality.

## CONCLUSION

In this study, levels of 17 elements (sodium, magnesium, potassium, calcium, zinc, iron, copper, cobalt, manganese, nickel, selenium, chromium, titanium, arsenic, cadmium, lead, thallium) in cow milk from Kahramanmaraş province of Turkey were assessed where potassium, calcium, and sodium were found the highest in cow milk samples. Further studies are necessary to assess the levels of different elements in plenty of milk samples from various farms in Turkey for public health. Routinely conducting similar studies in different geographical regions in our country will be beneficial for the sustainability of the quality and safety of milk.

## DECLARATIONS

### Ethics Approval

This document does not require an ethics committee approval.

### Conflict of Interest

Authors declare that there is no conflicts of interest for this study.

### Author Contribution

All authors contributed to every step of the article.

### Data Availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## REFERENCES

- Singh M, Yadav P, Garg VK, Sharma A, Singh B, Sharma H. Quantification of minerals and trace elements in raw caprine milk using flame atomic absorption spectrophotometry and flame photometry. *J Food Sci Technol*. 2015; 52(8):5299-304. doi: 10.1007/s13197-014-1538-9.
- Gallenberg LA, Vodcnik MJ. Transfer of persistent chemicals in milk. *Drug Metab Rev*. 1989; 21(2):277-317. doi: 10.3109/03602538909029943.
- Zamberlin Š, Antunac N, Havranek J, Samaržija D. Mineral elements in milk and dairy products. *Mljekarstvo*. 2012; 62(2), 111-25.
- Vahčić N, Hruškar M, Marković K, Banović M, Barić IC. Essential minerals in milk and their daily intake through milk consumption. *Mljekarstvo*. 2010; 60(2), 77-85.
- Cashman KD. Macroelements, Nutritional Significance. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (eds.) *Encyclopedia of Dairy Sciences*, No 3. London: Academic Press; 2002. p. 2051-58.
- Yılmaz E. Sütlerin besinsel düzeylerinin karşılaştırılması (Doctoral dissertation, Adıyaman Üniversitesi). 2017.
- Dinc H, Altun, SK, Paksoy N. Essential and Toxic Elements in Raw Cow Milk Collected from Sanlıurfa, Gaziantep, and Mardin Provinces of Turkey. *Fres. Environ. Bull*. 2019; 28(4 A), 3073-78.
- Rahimi E. Lead and cadmium concentrations in goat, cow, sheep, and buffalo milks from different regions of Iran. *Food Chem*. 2013; 136(2):389-91. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.09.016.
- Imperato M, Adamo P, Naimo D, Arienzo M, Stanzione D, Violante P. Spatial distribution of heavy metals in urban soils of Naples city (Italy). *Environ Pollut*. 2003; 124(2):247-56. doi: 10.1016/s0269-7491(02)00478-5.
- Baize D, Sterckeman T. Of the necessity of knowledge of the natural pedo-geochemical background content in the evaluation of the contamination of soils by trace elements. *Sci Total Environ*. 2001; 264(1-2):127-39. doi: 10.1016/s0048-9697(00)00615-x.
- Bilandžić N, Sedak M, Đokić M, Božić Đ, Vrbić A. Content of macro-and microelements and evaluation of the intake of different dairy products consumed in Croatia. *J Food Compos Anal*. 2015; 40, 143-37. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.003>.
- Lante A, Lomolino G, Cagnin M, Spettoli P. Content and characterisation of minerals in milk and in crescenza and squacquerone Italian fresh cheeses by ICP-OES. *Food Cont*. 2006; 17, 229-33. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.010>
- Campillo N, Vinas P, Lopez-Garcia I, Hernandez-Cordoba M. Direct determination of copper and zinc in cow milk, human milk and infant formula samples using electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. *Talanta*. 1998; 46, 615-622. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(97\)00306-8](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(97)00306-8)
- Krachler M, Rossipal E, Irgolic K. Trace elements in formulas based on cow and soy milk and in Austrian cow milk determined by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Biol Trace Elem Res*. 1998; 65, 53-57.
- Bratakos MS, Lazos ES, Bratakos SM. Chromium content of selected Greek foods. *Sci Total Environ*. 2001; 290, 47-58. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)01057-9](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)01057-9)
- Licata P, Trombetta D, Cristani M, Giofre F, Martino D, Calo M, Naccari F. Levels of "toxic" and "essential" metals in samples of bovine milk from various dairy farms in Calabria, Italy. *Environ Int*. 2004; 30(1), 1-6. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00139-9](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00139-9)
- Temurci H, Güner A. Ankara'da Tüketime Sunulan Süt ve Beyaz Peynirlerde Ağır Metal Kontaminasyonu. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg*. 2006; 1(1-2), 20-28.
- Sımsek O, Gultekin R, Oksuz O, Kurultay S. The effect

of environmental pollution on the heavy metal content of raw milk. *Nahrung-Food*. 2000; 44, 360–371. [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20001001\)44:5<360::AID-FOOD360>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20001001)44:5<360::AID-FOOD360>3.0.CO;2-G)

19. Ayar A, Sert D, Akın N. Konya’da tüketime sunulan süt ve ürünlerinin ağır metal içeriklerinin belirlenmesi. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2007; 21(41), 58-64.

20. Bıgucu E, Kaptan B, Palabıyık İ, Oksuz O. The Effect of Environmental Factors on Heavy Metal and Mineral Compositions of Raw Milk and Water Samples. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*. 2016; 13(04), 61-70.

21. İnci A, Aypak SÜ, Güven G. Aydın ilinde üretilen inek sütlerinde bazı ağır metal düzeylerinin araştırılması. *Gıda*. 2017; 42(3), 229-234.

22. Kondyli E, Katsiari MC, Voutsinas LP. Variations of vitamin and mineral contents in raw goat milk of the indigenous Greek breed during lactation. *Food Chem*. 2007; 100, 226-30. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.038>.

23. Suarez-Luque S, Mato I, Huidobro JF, Simal-Lozano J. Determination of major metal cations in milk by capillary zone electrophoresis. *Int Dairy J*. 2007, 17, 896–901. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.12.004>.

24. Chi X, Zhang G, Yang Y, Hu F. Essential trace and toxic element levels in Tibetan yak’s milk collected from Qinghai, China. *Spect. Lett*. 2016; 49(7), 477-81. <https://doi.org/10.1080/00387010.2014.924530>.

25. Park YW. Comparison of mineral and cholesterol composition of different commercial goat milk products manufactured in USA. *Small Rumin Res*. 2000 Jul 1;37(1-2):115-24. doi: 10.1016/s0921-4488(99)00144-3.

26. Lopez-Alonso, M. Animal feed contamination by toxic metals. In: Fink-Gremmels J (ed) *Animal feed contamination, effects on livestock and food safety*. Woodhead Publishing, Cambridge; 2012. p. 183-201. <https://doi.org/10.1533/9780857093615.2.183>.

27. Doull’s C. *I fondamenti dell’azione delle sostanze tossiche*. 5th ed. Roma: EMSI; 2000.

# Köpek, sığır, keçi ve koyunlarda mavi dil seroprevalansı

Elif Bayram<sup>1</sup>, Semra Okur Gümüşova<sup>1</sup>

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

## Anahtar Kelimeler:

mavidil virus  
seroprevalans  
keçi  
koyun  
köpek  
sığır

## Key Words:

bluetongue virus  
seroprevalance  
goat  
sheep  
dog  
cattle

Geliş Tarihi : 06.04.2021  
Kabul Tarihi : 07.10.2021  
Yayın Tarihi : 31.12.2021  
Makale Kodu : 910665

Sorumlu Yazar:  
SO. GÜMÜŞOVA  
(semragumusova@hotmail.com)

ORCID  
E. BAYRAM : 0000-0003-3190-4486  
SO. GÜMÜŞOVA: 0000-0003-3354-8489

Bu makale Ondokuz Mayıs Üniversitesi  
Bilimsel Araştırma 1904- A-Yüksek  
Lisans Tez Projeleri kapsamında, PYO.  
VET.1904.17.006 kodu ile desteklenmiştir.

## ÖZ

Türkiye’de köpeklerde mavi dil seroprevalansının ilk kez araştırıldığı bu çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi’nde 6 ilden (Ordu, Samsun, Giresun, Artvin, Trabzon ve Sinop) daha önce distemper ve/veya parvovirus aşılması yapılmış köpekler örneklendi. Ayrıca Samsun, Sivas ve Tokat’ dan mavi dil aşılması yapılmamış sürülerden örneklenen sığır, keçi ve koyun kan numuneleri de mavi dil seroprevalansı yönünden incelendi. Çalışma için toplanan tüm serum örneklerinde mavi dil virus antikorlarının varlığı ticari c-ELISA kiti kullanılarak araştırıldı. ELISA testi sonunda köpek ve sığırların kan serumlarında mavi dil enfeksiyonuna karşı seropozitiflik saptanmazken, keçi ve koyun serumlarında ise seroprevalans, %65.2 (Tokat ve Samsun) ve % 8.6 (Sivas) olarak tespit edildi. Çalışma sonunda hem koyun hem de keçilerde seropozitifliğin belirlendiği iller ve çevresinde daha kapsamlı araştırmaların planlanması ve özellikle bu illerdeki sokak köpeklerinde ayrıntılı bir taramanın yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

## Bluetongue seroprevalence in dog, cattle, goat and sheep

## ABSTRACT

The Bluetongue seroprevalence in dogs were investigated in this study for the first time In Turkey. For this aim, blood samples of dog that were vaccinated with distemper and/or parvovirus vaccine were collected in the 19 Mayıs University Veterinary Faculty Animal Hospital. Otherwise bluetongue virus un-vaccinated cattle, goat and sheep blood sera in three province (Samsun, Sivas and Tokat) were added this study. All of the sampled blood sera were tested by commercial c-ELISA kit for investigate the presence of BTV antibody. At the end of the c-ELISA test, bluetongue seropositivity was not detected in dog and bovine sera, but goat and sheep bluetongue seroprevalences were detected 65.2% (Tokat and Samsun) and 8.6% (Sivas). As a result, it was suggested that comprehensive studies in the provinces where seropositivity is determined in both sheep and goats, and it is necessary to carry out detailed study among street dogs in these provinces.

## GİRİŞ

Mavidil virusu (BTV) Reoviridae ailesi, *Orbivirus* cinsinde sınıflandırılan, eklem bacaklılarla bulaşan, evcil ve yabani geviş getirenleri etkileyen ekonomik açıdan önemli bir hastalık etkenidir (29). Enfeksiyondan etkilenen bölgelerdeki duyarlı hayvanlar için toplu aşılamaların gereklilik haline gelmesi, hayvan hareketleri ile ticaretinde önemli kısıtlamaların uygulanmaya başlanması ve hastalık ile artan verim kayıpları virusun neden olduğu ekonomik kayıpların artışının sebebi olarak gösterilmektedir (34). Son yıllarda hızlı yayılma eğiliminde olduğu bildirilen mavidil virusu ile ilgili çalışmalar genellikle sığır, koyun ve keçilerde yapılmış olsa da virusun BTV-8 suşunun Kuzey ve Batı Avrupa’da sığırlarda enfeksiyon oluşturduğunun saptanmasından sonra bu suşun Kuzey Avrupa’ya nasıl taşınmış olabileceği konusuna açıklık getirebilmek için ortaya atılan

teorilerden biri mavidil enfeksiyonunun Afrika gibi endemik bölgelerden evcil köpeklerle taşınmış olabileceği olasılığıdır (11). Köpeklerde mavidil virus varlığının araştırıldığı bir diğer çalışma Amerika’da multivalan (distemper, adenovirus ve parvovirus) modifiye canlı virus aşısı ile aşılanan bir köpekte polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile BTV-11 RNA sının tespit edildiği çalışmadır ve çalışmada saptanan mavidil RNA sının kaynağının aşının hazırlandığı sığır hücresi ya da sığır serumunun olabileceği ileri sürülmüştür (1). Evcil köpeklerde mavidil ile ilgili bir diğer çalışmada ise köpeklerin enfekte et veya et ürünlerini ağız yoluyla almaları sırasında ya da enfekte sivrisineğin ısırması ile enfekte olabilecekleri belirlenmiştir (2). Fas’ta yapılan serolojik çalışmanın sonuçlarına göre ise c-ELISA ile test edilen 187 köpek kan serum örneğinden 40’ı (% 21) mavidil seropozitif bulunmuştur. Araştırmacılar seropozitif hayvanların sadece ticari yemlerle beslendiğini, dışardan enfekte

et almadıklarını dolayısıyla enfeksiyonun enfekte sivrisineğin ısırması ile oluşmuş olacağını ifade etmişlerdir (22). Deneysel bir mavidil çalışmasında ise koyunlardan izole edilen BTV-1 saha suşu ile köpekleri enfekte eden araştırmacılar inkubasyon süresi sonunda köpeklerden aldıkları kanda viral RNA'yı saptayabilmışlerdir (23).

Mavidil enfeksiyonlarının epizootiyolojisinde köpeklerin rolünü gündeme getiren bu çalışmalar konu ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu da bildirmişlerdir.

Türkiye'de ise mavidil enfeksiyonu ile ilgili Ruminantlarla yapılmış birçok çalışma bulunmakla birlikte (3, 4, 8, 31, 15, 16) köpeklerde enfeksiyonun varlığının araştırıldığı çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma Türkiye'de köpeklerde mavidil virus seroprevalansının araştırıldığı ilk çalışmadır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Kan Örnekleri

Karadeniz Bölgesi'ndeki 6 ilden (Samsun, Trabzon, Sinop, Ordu, Giresun ve Artvin) Ondokuz Mayıs Üniversitesi (OMÜ) Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesine daha önce distemper ve/veya parvovirus aşılı ile aşılanmış köpeklerden kan örnekleri silikonlu tüplere alındı. Ayrıca mavidil aşılması yapılmadığı bildirilen sığır (Tokat), keçi (Tokat ve Samsun) ve koyunlardan (Tokat ve Sivas) toplanan kan serumu örnekleri de çalışmaya dahil edildi. Numunelerin toplandığı iller ve hayvan sayıları Tablo 1 de gösterildi.

### Kan serum örneklerinin hazırlanması

Silikonlu tüplere alınan kan örnekleri pıhtılaştıktan sonra 10 dakika 1500 rpm devirde santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve

stok tüplere aktararak test edilinceye kadar -20 °C'de saklandı.

### Kompetatif ELISA (c-ELISA)

Örneklenen köpek, sığır, keçi ve koyunların mavidil enfeksiyonu seroprevalanslarını serotip ayırımı yapmadan belirlemek amacı ile c-ELISA testi ((ID Screen® Bluetongue Competition ELISA kiti) uygulandı. Test, daha önce bildirdiği yöntemle ve üretici firmanın önerileri doğrultusunda yapıldı (13). Test sonunda pleytler 450 nanomikron (nm) filtrede okunup, üretici firmanın talimatındaki formülle hesaplanarak değerlendirildi.

## BULGULAR

Samsun OMÜ Veteriner Fakültesi Kliniklerinden örneklenen 92 adet köpek kan serumu ve Tokat, Samsun ve Sinop'tan örneklenen 92 adet sığır kan serumunda mavidil virus antikoruna rastlanmadı.

Ancak Tokat'dan toplanan 92 adet keçi kan serumunun 60 adedi c-ELISA testi sonunda mavidil enfeksiyonu yönünden seropozitif bulunurken, enfeksiyonun seroprevalansının % 65.2 olduğu hesaplandı. Ayrıca, Tokat, Sivas ve Samsun'dan toplanan 92 adet koyun kan serumundan 8 adedinde de mavidil virus antikoruna varlığı saptandı ve enfeksiyon seroprevalansı % 8.6 olarak belirlendi (Tablo 2).

## TARTIŞMA

Dünyada c-ELISA ile yapılan sığır mavidil virus seroprevalans araştırmalarında, Arnavutluk'ta %18.9, Kazakistan'da %25.4, ABD'de % 1.49, % 0.97 ve % 2.18 gibi değişen oranlarda ve Hindistan'da % 75.49 oranında seropozitiflik bildirilmişlerdir (7, 12, 20, 21).

**Tablo 1.** Numunelerin illere göre dağılımı  
**Table 1.** Distribution of samples by provinces

Hayvan Türü	-ÖRNEKLEMENİN YAPILDIĞI İL / İLÇELER							
	Ordu	Samsun	Giresun	Sivas	Trabzon	Tokat	Sinop	Artvin
Keçi	-	14	-	-	-	78	-	-
Köpek	8	71	5	-	1	-	6	1
Koyun	-	-	-	55	-	37	-	-
Sığır	-	-	-	-	-	92	-	-

**Tablo 2.** Mavi Dil enfeksiyonunun türlere göre seroprevalansı  
**Table 2.** Seroprevalence of Blue Tongue infection by species

Tür	Sayı	Seropozitif Hayvan Sayısı	%
Köpek	92	-	-
Sığır	92	-	-
Keçi	92	60 (Tokat ve Samsun)	65.2
Koyun	92	8 (Sivas)	8.6

Ülkemizde yapılan sığır mavidil çalışmalarında ise, Güney ve Güneydoğu bölgesi ile Ege bölgelerinde %15.5, Gaziantep’de %64.52, Batman’da %75.21, Adıyaman’da %29.3, Diyarbakır’da %63.83, Şanlıurfa’da %66.67, Mardin’de %51.76, Kilis’de %27.54, Siirt’de %43.66 ve Şırnak’da %22.39 oranında seroprevalans bildirilmiştir (9, 25). Ülkemizin Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi’ndeki sığırlarda ise %48.02, %15.5 ve Trakya yöresinde %73.54 oranında seropozitiflik saptanmıştır (18, 31, 32). Karadeniz Bölgesi’nde daha önce yapılan araştırmalarda ise Rize’deki sığırlarda %25 oranında mavidil seropozitifliği bulunmuştur (19). Bu çalışmada ise Tokat’ dan mavidil aşısı olmayan 92 sığır örneklenmiş ve c-ELISA testi sonunda hiçbirinin mavidil antikoru taşımadıkları belirlenmiştir.

Dünya’ da yapılan araştırmalarda keçilerde mavidil seroprevalansının %1.3 ile %68.2 oranında değiştiği ifade edilmiştir (26, 33). Türkiye’deki ise keçilerde Elazığ’ da %7.99, Konya’da %16, Burdur’ da %53.5, Samsun ve çevre ilçelerinde ise %15, %4 ve %6.79 oranında mavidil seroprevalansı bildirilmiştir (6, 8, 14, 16, 24). Bu çalışmada ise Tokat ve Samsun’dan örneklenen toplam 92 keçi serumuna yapılan c-ELISA testi sonunda 60 adedi mavidil yönünden seropozitif bulundu ve incelemenin yapıldığı illerdeki enfeksiyonun seroprevalansı %65.2 olarak hesaplandı. Çalışmada keçilerde en yüksek seropozitiflik %75.64 ile Tokat ilinde belirlendi. Samsun’da ise %7.14 oranında seropozitiflik saptandı. Daha önce Tokat ili ile ilgili mavidil seropozitifliği bildirilmediğinden sonucun il bazında karşılaştırılması yapılamadı ancak Samsun ve çevre ilçelerinde belirlenen seropozitiflikler ile benzer olduğu görüldü (16, 24).

Dünya’ da koyunlarda ELISA ile yapılan mavidil seroprevalans çalışmalarında ise Kazakistan’ da %21.4 ve Hindistan’da %8.25 oranında pozitiflik tespit etdirilmiştir (20, 26). Türkiye’de koyunlarda mavidil enfeksiyonuyla ilgili yapılan çalışmalarda ise seropozitiflik oranlarının %0-%46 arasında saptanmıştır (6, 8, 9, 10, 17, 30). Bu çalışmada ise Tokat ve Sivas’ dan örneklenen 92 koyun kan serumuna uygulanan c-ELISA testi sonunda Sivas’ da 8 (%8.6) koyunun mavidil seropozitif olduğu tespit edildi ve oranın Türkiye’ de daha önce bildirilen oranlarla benzer olduğu görüldü.

Dünyada köpeklerde mavidil enfeksiyonu varlığı araştırmaları 1994 yılında başlamış ve aralıklarla devam etmiştir. Amerika’ da multivalan (distemper, adenovirus ve parvovirus) modifiye canlı virus aşısı ile aşılanan bir köpekte ve Afrika yaban köpeğinde virusun varlığı bildirilmiştir (1, 2). Köpeklerde c-ELISA ile yapılan serolojik çalışmalarda ise Fas’ta %21 oranında ve Amerika’ da %40 oranında mavidil seropozitifliği bildirmişlerdir (13, 22). Ayrıca Amerika’ da yapılan çalışmada araştırmacılar agar jel immunodifüzyon (AGID) testi ile yaptıkları taramada ise c-ELISA ile pozitif bulunan 8 örneğin 3’ünü tespit edebilmişler ve çalışma sonunda c-ELISA’nın köpeklerde mavidil taraması için daha etkili bir test olduğunu ve zayıf pozitiflikleri de tespit edebildiğini ileri sürmüşlerdir (13). Bu çalışmada ise Samsun ve çevre illerdeki köpeklerden alınan 92 kan serumunun tamamı mavidil c-ELISA testi ile tarandı ve test sonunda serumlarda seropozitifliğe rastlanılmadı. Köpeklerde pozitifliğe rastlanmaması örneklemeye yapılan aşıli hayvanlarda aşı kaynaklı bir bulaş olmadığını düşündürdü. Seropozitiflik bildirilen illerden (Tokat ve Sivas) Hayvan Hastanesine

hiç köpek gelmediği için örneklemeye yapılamadı ve bu illerdeki köpeklerde mavidil seroprevalansı belirlenemedi.

## SONUÇ

Sonuç olarak incelenen illerden Tokat ve Samsun’ da keçilerde, Sivas’ da ise koyunlarda pozitifliklerin bulunduğu, bu nedenle de özellikle en yüksek seropozitifliğe sahip olan Tokat ve Sivas illerinin çevresinde konu ile ilgili gerekli tedbirlerin alınabilmesini sağlamak için daha geniş örneklemelerin yapılarak bölgenin taranması ülke hayvancılığı açısından önemlidir.

Yakın zamanda dünya da köpeklerde varlığı serolojik ve virolojik olarak bildirilen ve deneysel çalışmalarda viral nükleik asitin saptandığı araştırmalar ile mavidil virusunun epidemiyolojisinde köpeklerin rolü gündeme gelmeye başlamıştır. Mavidil ile enfekte et veya et ürünlerinin ağız yoluyla alımı, enfekte sivrisineğin ısırması ve aşılamaların gerekçe gösterildiği çalışmalarda köpeklerin mavidil ile enfekte olabilecekleri belirlenmiştir. Bu çalışma ile Türkiye’de köpeklerle mavidil enfeksiyon seroprevalansı ilk kez araştırılmış ve köpek kan serumlarının örneklendiği illerde mavidil seropozitifliği saptanamamıştır. Ancak çalışmamızda seropozitifliğin saptandığı iller olan Tokat, Sivas ve Samsun’ da özellikle sokak köpeklerinde taramaların artırılması ve konu ile ilgili daha fazla bilgi sahibi olunmasının gerekli olduğu düşünülmüştür. Mavidil enfeksiyonu mücadelesinde kontrollü hayvan hareketleri, enfekte hayvanların imhası ve hayvanların vektörle temasının önlenmesi ya da vektör kontrolü enfeksiyon riskini azaltılabilir. Ayrıca yapılacak seroprevalans çalışmaları ile enfekte bölgelerin belirlenmesi ve buralarda vektör mücadelelerinin artırılması, sıvı birikimi olan alanlarda tedbirlerin alınması ile vektöre karşı insektisit kullanımı önemlidir (5, 27, 28). Bu koruma ve kontrol faaliyetlerinin yanısıra mavidil enfeksiyonunun epidemiyolojisinde köpeklerin rolü ile ilgili daha kapsamlı çalışmaların planlanmasının bu hastalıkla mücadelede yeni çözüm yolları sunabileceği düşünülmektedir.

## BEYANNAMELER

### Etik Onayı

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerek Etik Kurulunun 26.10.2016 tarihli toplantısında 2016-27/50 karar sayısı ile etik onayı almıştır.

### Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

### Yazar Katkıları

Fikir, Kavram ve Tasarım: S.G

Veri Toplama ve Analiz: E.B

Makalenin Yazımı: S.G., E.B.

Eleştirel İnceleme: S.G.

### Veri kullanılabilirliği

Bu çalışmanın verileri yazarlara aittir.

### Teşekkür

Bu makale Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma 1904-A-Yüksek Lisans Tez Projeleri kapsamında, PYO.VET.1904.17.006 kodu ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Akita GY, Ianconescu M, MacLachlan NJ, Osburn. BI, Greene RT, et al. Bluetongue disease in dogs associated with contaminated vaccine. *Vet Rec.* 1994;134:283-284.
2. Alexander KA, MacLachlan NJ, Kat PW, House C, O'Brien SJ, Lerche NW, et al.. Evidence of natural bluetongue virus infection among African carnivores. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;51:568-576.
3. Albayrak H, Özcan E. Seroprevalence of some arboviral infections transmitted by blood sucking insects in ruminants and equids in the middle Black Sea region in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2010;16:33-36.
4. Azkur AK, Gazyagcı S, Aslan ME. Serological and Epidemiological Investigation of Bluetongue, Maedi-Visna and Caprine Arthritis-Encephalitis Viruses in Small Ruminant in Kirikkale District in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2011;17:803-808.
5. Breard E, Hamblin C, Hammoum S, Saillau C, Dauphin G, Zientara S. The epidemiology and diagnosis of bluetongue with particular reference to corsica. *Res In Vet Sci.* 2004;77:1-8.
6. Bolat Y. Investigation of antibodies of the bluetongue diseases in sera of cattle and goats in Elazığ. *Doğa Tr J Vet Sci.*1986;10(3):2035-238.
7. Boyer TC, Ward MP, Wallace RL, Singer RS. Regional seroprevalence of bluetongue virus in cattle in Illinois and western Indiana. *Am J Vet Res* 2007;68(11):1212-9.
8. Bulut O, Yavru S, Yapkiç O, Şimşek A, Kale M, Avcı O. Serological investigation of bluetongue virus infection by serum neutralization test and elisa in sheep and goats. *Bull Vet Inst Pulawy.* 2006;50:305-307.
9. Burgu I, Urman HK, Akca Y, Yonguc A, Mellor PS, Hambling C. Serologic survey and vector surveillance for bluetongue in southern Turkey. In, "Bluetongue, African Horse Sickness and Related Orbivirus: Proceeding of the Second International Symposium". Eds, TE Walton, BI Osburn, 1992;168-174.
10. Burgu İ, Öztürk F, Akça Y. Tahirova devlet üretme çiftliği koyunlarında viral enfeksiyonlar üzerine serolojik araştırmalar. *A Ü Vet Fak Derg.* 1984;31:167-179.
11. Darpel KW, Batten CA, Veronesi E, et al. Clinical signs and pathology shown by British sheep and cattle infected with bluetongue virus serotype 8 derived from the 2006 outbreak in northern Europe. *Vet Rec.* 2007;161:253-261.
12. Di Ventura M, Tittarelli M, Semproni G, Bonfini B, Savini G, Conte A and Lika A. Serological Surveillance Of Bluetongue Virus In Cattle, Sheep And Goats In Albania. *Vet Ital.* 2004;40,3,101-104.
13. Dubovi, E.J, Hawkins M., Robert A, Griffin Jr., Johnson D.J., Ostlund E.N. Isolation Of Bluetongue Virus From Canine Abortions. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2013, 25(4):490-492.
14. Ertürk A. Çeşitli serumlarda (koyun, keçi, sığır) mavi dil antikorlarının agar- jel presipitasyon testi ile araştırılması. *Etlık Vet Mikrob Derg.* 1994;7:1-19.
15. Gumusova Okur S, Yazici Z, Albayrak H. Serological investigation of Bluetongue virus in sheep in the middle Black Sea Region. *Vet Hek Mikrob Dern Derg,* 2006;6:9-11.
16. Gumusova-Okur S, Memis YS. Caprine Arthritis Encephalitis and Bluetongue Virus Infections in Maltese, Saanen and Hair Goat Breeds. *PJZ.* 2016;48,5:1567-1569.
17. Gür S. A serological investigation of bluetongue virus (BTV) in cattle, sheep and gazella subgutturosa subgutturosa in southeastern Turkey. *Trop. Anim. Health Prod.* 2008;40,3:217-21.
18. Karaoğlu T., Özgünlük İ., Demir B., Özkul A., Burgu İ., 2007. Seroprevalence of culicoidesborne disease in cattle in European Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi,* 54, 121-125.
19. Kulaç E, Kırmızıgül AH, Yıldırım Y Rize Yöresindeki Sığırlarda Mavi Dil Enfeksiyonunun Seroprevalansı. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.* 2016;11(2):151-158.
20. Lundervold M, Milner-Gulland EJ, O'Callaghan CJ, Hamblin C, Corteyn, A, Macmillan AP. A serological survey of ruminant livestock in Kazakhstan during post-Soviet transitions in farming and disease control. *Acta Vet Scand.* 2004;45:211-224.
21. Maan S, Tiwari A, Chaudhary D, Dalal A, Bansal N, Kumar V, et al. Comprehensive Study on Seroprevalence of Bluetongue Virus in Haryana State of India. *Vet World* 2017;10(12):1464-1470.
22. Oura CAL, El Harrak M. Midge-transmitted bluetongue in domestic dogs. *Epidemiol Infect.* 2011;139:1396-1400.
23. Oura CAL, Sebbar G, Loutfi C, et al. No evidence for replication of a field strain of bluetongue virus serotype 1 in the blood of domestic dogs, *Research in Veterinary Science.* 2014;96,1:217-219.
24. Ozan E, Turan HM, Albayrak H, Cavunt A. Serological determination of pestivirus, bluetongue virus and peste des petits ruminants virus in small ruminants in Samsun province of Turkey *Atatürk Üniv Vet Bil Derg.* 2012;1:27-33.
25. Özgünlük İ. Güneydoğu Anadolu Projesi (GAP) kapsamındaki bölgede sığırlarda mavidil, akabane ve ibaraki enfeksiyonlarının seroepidemiolojisi. *Doktora Tezi,* Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 2003.
26. Ravishankar C, Krishnan-Nair G, Mini M, Jayaprakasan V. Seroprevalence of bluetongue virus antibodies in sheep and goats in Kerala state, India. *Rev Sci Tech Off int Epiz.* 2005;24(3):953-958.
27. Saltık HS, Kale M. Mavidil Virus Hastalığı. *MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.* 2017; 5(1): 32-44.

28. Savini G, MacLachlan J, Sanchez-Vizcaino JM, Zientara S. Vaccines against bluetongue in Europe. *Microbiol Infect Dis.* 2008;31(2-3):101-20.
29. Verwoerd D, Erasmus BJ. In: *Infectious Diseases of Livestock*. 2. Coetzer JAW, Tustin RC, editors. Oxford University Press, Cape Town, South Africa. 2004;1201-1230.
30. Yavru S, Öztürk F, Gürhan İ, Şimşek A, Ünver G, Duman R, Yapkiç O. Koyunlarda Solunum Yolu Viruslarının Serolojik Olarak Araştırılması. *Hayv Arař Derg.* 1999;9(1-2):53-60.
31. Yıldırım Y, Burgu İ, Kuzeydoğu Anadolu bölgesindeki sığırlarda mavidil (B1), IBR, PI-3, EBL ve BVD enfeksiyonlarının seroprevalansı, Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2005;52:113-117.
32. Yıldırım Y, Yılmaz V. Seroprevalence of bluetongue virus 4, 9 and 16 serotypes in cattle in various North-eastern provinces of Turkey. *Revue Med Vet.* 2010;161:8-9,372-375.
33. Yousef MR, Al-Eesa AA, Al-Blawi MH. High seroprevalence of bluetongue virus antibodies in Sheep, Goats, Cattle and Camel in different districts of Saudi Arabia *J Vet World.* 2012;5(7):389-393.
34. Zientara S, MacLachlan NJ, Calistri P, Sanchez-Vizcaino JM, Savini G. Bluetongue vaccination in Europe. *Expert Rev Vaccines.* 2010;9:989-991.



# Measurement of paraoxonase and telomerase enzymes and HDL (high density lipoprotein) values and research of their possible relationships with each other in bloodserum of obese cats

Tuğçe Dağ<sup>1</sup>, Şima Şahinduran<sup>1</sup>

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

## Key Words:

HDL  
obesity  
paraoxonase  
telomerase

Received : 19.04.2021  
Accepted : 13.11.2021  
Published Online : 31.12.2021  
Article Code : 920578

Correspondence:  
Ş ŞAHİNDURAN  
(sahinduran@mehmetakif.edu.tr)

ORCID:  
T DAĞ : 0000-0003-3486-2222  
Ş ŞAHİNDURAN: 0000-0002-7718-2020

## ABSTRACT

Today, obesity is seen as a serious health problem in domestic cats. Paraoxonase1 (PON1) is a negative acute phase protein with anti-inflammatory properties. PON1 is transported by linking to different parts of HDL in the blood and has a protective feature of HDL against oxidation. Telomerase is reverse transcriptase enzyme that synthesizes and protects telomeres. Telomere length becomes shorter due to stress, obesity, and lack of exercise. In this study, paraoxonase1, telomerase enzymes and HDL values in blood serum of obese and non-obese cats were measured and their relationships with each other were evaluated. Body fat ratio in cats with body fat measurement system, those above 30% were evaluated as obese, and those below 30% were evaluated as the control group. Paraoxonase1 ( $p<0.001$ ), telomerase ( $p<0.001$ ) and HDL ( $p<0.008$ ) values showed a statistically significant difference between the both groups, it was found to be lower in the obese group compared to the control group. As a result; paraoxonase1 and telomerase enzymes which are parameters of oxidative stress and are known to decrease in inflammation, were also found to be decreased in obese cats. The fact that HDL values are lower than the control group is an indicator that there are diseases that occur together with obesity.

## INTRODUCTION

Gastrointestinal Recent reports show that obesity is a growing problem in domestic cats, with approximately 25% to 40% of domestic cats being overweight or obese (1,2). Since obesity is associated with some diseases in cats (eg diabetes mellitus, hepatic lipidosis, osteoarthritis, etc.), identifying the population at risk is a very important step. Various risk factors for obesity in cats have been identified in the literature; These are sex, neutering status, middle and old age, living in a single or two-cat house, inactivity indoors, feeding with fresh meat or fish, feeding with a first-class or therapeutic food, free choice or providing food on an ad libitum basis, and It is an underestimation of body weight or body condition by its owners (3). Many traits associated with obesity may be involved in the development of an inflammatory condition, even if the link between them is still not fully understood (4). Paraoxo-

nase is an esterase that has arylesterase as well as aryldialkyl phosphatase activity. It is known that parathion, an organically phosphorous insecticide synthesized in the liver, has the ability to hydrolyzed the active metabolite paraoxon (5). The paraoxonase gene family consists of three enzymes PON1, PON2 and PON3 (6). PON1 has been reported to be a calcium-dependent serum esterase synthesized exclusively in the liver and found in the bloodstream associated with HDL. It has also been reported that PON1 prevents the accumulation of oxidized lipids in LDL (7).

While preventing the oxidation of HDL, it provides protection for PON1 to fulfill its functions at the same time. It is known that HDL inhibits lipid peroxidation in LDL and PON1 enzyme, which it primarily carries in its structure, is effective in this antioxidant effect (6). Paraoxonase type 1 (PON1) has anti-inflammatory properties, and its circulatory

concentration has been reported to be reduced in human obesity subjects (8). In sheep and humans, PON is known to bind to different regions of HDL and is transported on HDL via apolipoprotein A1 (Apo A1). The role of PON in the antioxidant effect of HDL has recently paved the way for important studies to determine its role in the diagnosis and treatment of various diseases (9).

Telomerase is an enzyme that has the ability to synthesize itself by using its own RNA (Ribo Nucleic acid) as a template and has a ribonucleoprotein structure that has the task of extending telomeric DNA by adding hexameric parts [(TTA-GGG) n] to chromosomal ends, balancing and protecting the loss in chromosomal ends. In cancer cases, when the telomerase activity and telomere length of the cell were examined, it was seen that tumor formation and telomerase activity were interrelated in vivo (10). Various studies have been conducted in order to clarify the relationship between telomerase enzyme and immune system. In these studies; Enzyme levels were found to be low in T and B lymphocytes, and the presence of enzyme activity in the tonsils and thymus was reported in more detailed examinations. However, as the age progresses, it has been determined that the immune system weakens with the loss of telomere (11). The aim of this study is to compare the paraoxonase, telomerase enzymes and HDL values in the blood serum of obese and non-obese cats to determine the possible relationship between them.

## MATERIAL and METHODS

**Çalışmaya** This research was carried out on the basis of the permission of Burdur Mehmet Akif Ersoy University Local Animal Ethics Committee dated 18.12.2019 and numbered 593.

Cats of both sexes and different breeds older than 1 year of age constituted the research material. In this study, blood samples were collected from the animals constituting the study group by considering the following criteria.

Blood samples were collected from a total of 25 animals according to the specified criteria. 15 of these samples were collected from obese cats with a body fat ratio of over 30% and non-obese (control) cats with 10% body fat below 30% according to the body fat measurement system. Of the obese

group, 8 were male, 7 were female, and their ages ranged from 1 year to 12 years old. 11 were sterilized, 2 were not sterilized, and 2 were unknown. The control group, on the other hand, consisted of 10 cats, 4 females and 6 males, of ideal weight over 1 year old.

Desired clinical signs

Body Fat Measurement System

$$\text{Percentage Body fat} = \left( \frac{\text{rib cage}}{0.9156} \right) - \text{LIM}$$

The equation used rib cage circumference and the lower hindlimb measurement (in cm).

Rib cage value: The circumference of the rib cage passing over the 9th rib

Leg index value: Distance between patella and calcaneal lump

Ideal weight cats have a body fat ratio of 15-30%,

Those who are considered to be extremely weak, have less than 20% fat,

Those who were overweight, that is obese, were evaluated as cats with 30% and above body fat (12).

Blood samples from all cats were taken from vena Cephalica antebraichii into negative pressure tubes using a disposable sterile syringe. Silicone-based plastic tubes (5 ml) with clot activator were used for serum samples. The collected blood samples were first kept in a portube for 30 minutes, allowing the blood to clot. Then, their serums were removed in a centrifuge device at 4000 rpm for 10 minutes. Serum samples were transferred to eppendorf tubes (1.5 ml) with the help of automatic pipette. The tubes, which were recorded by writing sample numbers on them, were stored at -20 ° C until serological analysis.

Paraoxonase and telomerase enzymes in blood serum were measured by ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) method. Cat Telomerase ELISA Kit and Cat Paraoxonase ELISA Kits (BTLAB, CHINA) were used in the study. In biochemical analysis, HDL values were measured with Gesan Chem 200-1102422 (Italy) autoanalyzer device.

**Table 1.** Paraoxonase, telomerase and HDL values in obese and control groups.

	Group 1 (n=10)	Group 2 (n=15)	P
	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	
Paraoxonase (ng/ml)	15.07±3.44 <sup>a</sup>	9,754±2.05 <sup>b</sup>	0.001
Telomerase (ng/ml)	2.14±1.32 <sup>a</sup>	0.52±0.41 <sup>b</sup>	0.001
HDL(mg/ dl)	135.30±45.01 <sup>a</sup>	85,73 ±29.12 <sup>b</sup>	0.008

There is a statistical difference between those containing different letters (p <0.05).

### Statistical analysis

The findings obtained were evaluated using IBM SPSS 22.0 for Windows package program. Shapiro-Wilk test was used in the compliance of the data to normal distribution. Due to the normal distribution of the data, pairwise group comparisons were determined with the Independent-Samples T-test (Student's t-test).

## RESULTS

In Group 1 (control) and Group 2 (obese), a statistical ( $p < 0.001$ ) difference was found in the comparison of the measurement of the paraoxonase value between the groups. A statistical ( $p < 0.001$ ) difference was found in the comparison of the measurement of telomerase value between groups in Group 1 and Group 2. A statistical ( $p < 0.008$ ) difference was found in the comparison of the measurement of HDL value between groups in Group 1 and Group 2 (Table 1).

## DISCUSSION

Most of the adult domestic cat population is overweight or obese. It is accepted that obesity in cats makes them more susceptible to diseases such as lower urinary tract disease, lameness, hepatic lipidosis, non-allergic skin diseases and diabetes mellitus (13).

Paraoxonase 1 (PON1) is an enzyme that protects HDL from peroxidation and has anti-inflammatory properties as it reduces the production of pro-inflammatory mediators. PON1 is mainly expressed in the liver and is transported within HDL-bound plasma (14).

Tvarijonavičiute et al. (15) evaluated various circulating inflammatory and metabolic biochemical analyzes before and after weight loss in obese cats. No difference was observed in PON-1 activity before and after weight loss, although lower baseline PON-1 activity has been reported to be associated with weight loss program failure.

As a result of the study, it was observed that before weight loss, PON-1 activity, adiponectin concentration, and IGF-1 concentration were lower in cats that could not complete weight loss, while glucose concentration was higher than in cats who lost weight.

In a study conducted in humans, PON1 value was evaluated in the blood serum of obese and severely obese, moderately obese, overweight and normal weight female patients. The PON1 levels of the patients in the obese and severely obese group were found to be significantly different from the values of the control group, overweight and moderately obese patients. In patients with the most severe obesity, PON1 activity was found to be significantly lower than controls and all other groups. It has been reported that individuals with low PON1 activity have a higher risk of developing disease caused by oxidative stress and lipid peroxidation than individuals with high PON1 activity (16). It has been reported that PON1 is inactivated in cases of excessive oxidative stress [6]. According to the results of our study, a statistical difference was found between the serum paraoxonase enzyme values of obese cats

and non-obese cats in the control group, and the paraoxonase values of obese cats were found to be lower than the control group. The result of our study is similar to the study in obese people mentioned above, and it was thought that the reason for the low PON1 level in obese cats may be due to lipid peroxidation, decreased PON1 activity as a result of change in PON1 synthesis, or changes in HDL structure and composition.

Pehlivan (17) evaluated telomerase activity in obese people in his study. He found that telomerase activity was decreased in the obese group between the obesity group and the control group. He reported that the comorbidities brought about by obesity pose a risk for aging.

In a study conducted in cats with chronic kidney failure, low telomerase activity was reported in kidney tissue.

In contrast to kidney tissue, a statistically significant increase in telomerase activity was observed in the liver tissue of cats with chronic renal failure, although all liver samples were histopathologically normal and no cat had elevated liver enzymes or serum biochemical parameters. It has been reported that systemic oxidative stress observed in cats with chronic kidney failure may cause increased liver telomerase levels by modulating antioxidant mechanisms in the liver (18).

According to the results of our study, a statistically significant decrease was found between the serum telomerase enzyme activity values of obese cats and non-obese cats in the control group. This result is similar to the study conducted by Pehlivan [17] on humans, and considering the decrease in telomerase enzyme and low PON1 level may be due to lipid peroxidation, it supports the idea that obesity may increase the risk of tissue aging.

HDL serves to remove cholesterol from peripheral cells and macrophages to the liver. The reverse cholesterol transport process is considered to be antiatherogenic in humans (19,20). It has been reported that HDL is the main lipoprotein class in healthy cats and is the most important carriers from peripheral tissues where cholesterol is broken down and excreted, from the liver (21).

In one study, the effects of long-term obesity and different diets on plasma lipids were examined in 12 lean and 12 obese cats. HDL concentration was observed lower in the obese group and consisted mainly of small size particles. In the obese group, it was found to have higher plasma unesterified fatty acids and triglycerides, as well as VLDLs mainly composed of medium-sized particles (22). The results of the study are similar to the HDL results in our study. In a study investigating lipoprotein, oxidative stress and HDL-PON activity among healthy and obese people; It has been reported that HDL-PON activity is significantly lower in obese individuals compared to the control group. It has been suggested that changes in HDL content reduce the enzyme activity by affecting paraoxonase binding to the HDL surface (23). Another study in humans found that HDL-PON activity decreased in obese patients. It has been reported that the decrease in PON1 activity and the compositional and functional changes of HDL in patients

with different degrees of obesity may contribute to increased oxidation of cells in the artery wall, increased inflammation in the vessel wall, and increased atherosclerosis (24). According to the results of our study, a statistical difference was found between the serum HDL values of obese cats and non-obese cats in the control group. HDL values of obese cats were significantly lower compared to the control group. The results of our study were similar to the studies Ferretti et al. Conducted in obese people in 2005 and 2010. According to Ferretti et al. (24), it has been reported that HDL has less protective effect and may be effective in accelerating cellular oxidative damage and arteriosclerosis in obesity. In addition, low serum HDL levels in obese cats may be caused by HDL carrying cholesterol from tissues to the liver.

## CONCLUSION

In this study, paraoxonase, telomerase enzymes and serum HDL levels were compared between obese and non-obese cats. According to our results, paraoxonase enzyme (ng / ml) was found in the obese group ( $9.754 \pm 2.05$ ) and in the control group ( $15.07 \pm 3.44$ ) ( $p < 0.001$ ). Telomerase enzyme (ng / ml) was found in the obese group ( $0.52 \pm 0.41$ ) and in the control group ( $2.14 \pm 1.32$ ) ( $p < 0.001$ ). Serum HDL values (mg / dl) were found in the obese group ( $85.73 \pm 29.12$ ) and in the control group ( $135.30 \pm 45.01$ ) ( $p < 0.008$ ).

The differences between the two groups in three parameters were found to be statistically significant when compared among themselves. A significant decrease was observed in the obese group compared to the control group in all three parameters. As a result; paraoxonase and telomerase enzymes which are parameters of oxidative stress and are known to decrease in inflammation, were also found to be decreased in obese cats. The fact that HDL values are lower than the control group is an indicator that there are diseases that occur together with obesity.

## DECLARATIONS

### Conflict of Interest

The authors declare that there have no conflict of interests.

### Author Contributions

The design of the study and evaluation of the results were executed by the contribution of T. DAĞ and Ş. ŞAHİNDURAN. All authors also contributed to the preparation of the manuscript.

### Acknowledgments

This study was supported by Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Projects Commission (Project No: 0626-YL-20).

## REFERENCES

1. Wall M, Cave NJ, Vallee E. Owner and cat-related risk factors for feline overweight or obesity. *Front vet Sci.* 2019; 6, 266.
2. Kobayashi M, Okada Y, Ueno H, Mizorogi T, Ohara K,

Kawasumi K, Arai T. Effects of Supplementation with Anti-Inflammatory Compound Extracted from Herbs in Healthy and Obese Cats. *Vet Med Res Rep.* 2020; 11, 39.

3. Corbee RJ. Obesity in show cats. *J Anim Physiol An.* 2014; 98 (6): 1075-1080.

4. Leray V, Freuchet B, Le Bloc'h J, Jeusette I, Torre C. Nguyen P, Effect of citrus polyphenol and curcumin-supplemented diet on inflammatory state in obese cats. *Br J Nutr.* 2011; 106, S198 – S201.

5. Juretic D, Tadijanovic M, Rekić B, Simean-Rudolf V, Reiner E, Baricic M. Serum paraoxonase activities in hemodialyzed uremic patients: cohort study. *Croatian Med J.* 2001; 42, 146-150.

6. Özgün E. İsoproterenol ile deneysel miyokart infarktüsü oluşturulan sıçanlarda melatoninin serum paraoksonaz aktivitesine etkisi. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Edirne/ Türkiye,* 2013.

7. Abdelouahed K, Kamtchueng SO, Ikhlef S, Berrougui H. The role of paraoxonase 1 in regulating HDL functionality during aging. *Can J Physiol Pharmacol.* 2017; 95 (10): 1254-1262.

8. Kotani K, Sakane N, Sano Y, et al. Changes on the physiological lactonase activity of serum paraoxonase 1 by a diet intervention for weight loss in healthy overweight and obese women. *J Clin Biochem Nutr.* 2009; 45, 329–334.

9. Costa LG, Cole TB, Furlong CE. Paraoxonase (PON1) and Detoxication of Nerve Agents. *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agent.* 2015; 1089–1098.

10. Tiryakioğlu A, Özkan M, Kayım S, Bağcı Ö, Çeviker K, Tatar B, Yazkan R, Erdemoğlu E. Kanser Tanı ve Tedavisinde DNA'ya Yönelik Güncel Yaklaşımlar: Telomerez/Tert. *Mühendis Bilim Tasar Derg.* 2016; 4(2): 125-131.

11. Andrews NP, Fujii H, Goronzy JJ, Weyand CM. Telomerase and immunological diseases of aging. *Gerontology.* 2010; 56, 390–403.

12. Hawthorne AJ, Butterwick RF. The feline body mass index  $\nabla$  a simple measure of body fat content in cats. *WALTHAM Foc.* 2000; 10(1): 32–33.

13. Bjornvad CR, Nielsen DH, Armstrong PJ, McEvoy F, Hoelmkjaer KM, Jensen KS, Kristensen AT. Evaluation of a nine-point body condition scoring system in physically inactive pet cats. *AJVR.* 2011; 72 (4): 433-437.

14. Rossi G, Giordano A, Pezzia F, Kjelgaard Hansen M, Paltrinieri S. Serum paraoxonase 1 activity in dogs: preanalytical and analytical factors and correlation with C-reactive protein and alpha $\nabla$ 2 globulin. *Vet Clin Pathol.* 2013; 42(3): 329-341.

15. Tvarijonavičiute A, Ceron JJ, Holden SL, Morris PJ, Biourge V, German AJ. Effects of weight loss in obese cats on biochemical analytes related to inflammation and glucose homeostasis. *Domes Anim Endocrinol.* 2012; 42(3): 129–141.

16. Cervellati C, Bonaccorsi G, Trentini A, Valacchi G, Sanz JM, Squerzanti M, Parladori R. Paraoxonase, arylesterase and lactonase activities of paraoxonase1 (PON1) in obese and severely obese women. *Scand J Clin Lab Inv.* 2018; 78(1-2): 18-24.
17. Pehlivan E. Obez Hastalarda Klotho ve Telomeraz İlişkisinin Değerlendirilmesi. Ege Ünivers. Tıp Fakül. İç Hast. Anabilim Dalı. İzmir/ Türkiye, 2017.
18. Quimby JM, Maranon DG, Battaglia CL, McLeland SM, Brock WT, Bailey SM. Feline chronic kidney disease is associated with shortened telomeres and increased cellular senescence. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013; 305(3): F295- F303.
19. Minamoto T. Lipoprotein Profiling in Dogs and Cats with Gastrointestinal Disease or Hepatic Disease. Doctoral dissertation, Texas A & M University, 2018.
20. Minamoto T, Walzem RL, Hamilton AJ, Hill SL, Payne HR, Lidbury JA, Steiner JM. Altered lipoprotein profiles in cats with hepatic lipodosis. *J Feline Med Surg.* 2019; 21(4): 363-372.
21. Wisselink MA, Koeman JP, Wensing T, De Bruijne J, Willemse T. Hyperlipoproteinaemia associated with atherosclerosis and cutaneous xanthomatosis in a cat. *Vet Q.* 1994; 16(4): 199-202.
22. Jordan E, Kley S, Le NA, Waldron M, Hoenig M. Dyslipidemia in obese cats. *Domest Anim Eddocrinol.* 2008; 35(3): 290-299.
23. Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, Savino S, Liuzzi A, Balzola F, Bicchiega V. Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90 (3):1728-1733.
24. Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Bicchiega V. HDL paraoxonase and membrane lipid peroxidation: a comparison between healthy and obese subjects. *Obesity.* 2010; 18(6): 1079-1084.

# Kızıl Tilki (*Vulpes vulpes*)’de Larynx Kıkırdak’larının ve Trachea’nın Morfolojik Çalışması

Ayşe Haligür<sup>1</sup>, Sema Özkadif<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Çukurova University, Adana/TÜRKİYE

## Anahtar Kelimeler:

morfoloji  
solunum sistemi  
tilki  
yaban hayvanı

## Key Words:

morphology  
respiratory system  
fox  
wild animal

Geliş Tarihi : 29.05.2021  
Kabul Tarihi : 01.10.2021  
Yayın Tarihi : 31.12.2021  
Makale Kodu : 944691

Sorumlu Yazar:  
S. ÖZKADIF  
(semaerten80@gmail.com)

ORCID  
A. HALIGÜR : 0000-0002-3668-4286  
S. ÖZKADIF : 0000-0002-5398-9874

This paper is based on the oral presentation at the International Congress on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies, 15-17 May 2017, Cappadocia- Turkey.

## ÖZ

Bu çalışmada, kızıl tilki (*Vulpes vulpes*)’de trachea ve larynx’in kıkırdaklarının makroanatomik ve morfometrik özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, farklı zamanlarda trafik kazasından toplanan toplam 12 yetişkin kızıl tilki (6 erkek, 6 dişi) kullanıldı. Larynx’in kıkırdakları ve trachea dikkatlice diseke edildi ve morfometrik ölçümler alındı. Bu çalışmanın sonucunda erkek ve dişi larynx ve trachea’ları arasında istatistiki olarak fark olduğu ve değerlerin erkeklerde dişilerden daha fazla olduğu gözlemlendi. Cartilago thyroidea’nın cornu rostrale ve cornu caudale’sinin oldukça belirgin olduğu görüldü. Cartilago cricoidea’nın kavisli bir yapıya sahip olduğu oval bir halka şeklinde olduğu tespit edildi. Cartilago arythenoidea’nın hem sağ hem de sol tarafında, processus muscularis üzerinde geriye doğru bir projeksiyon olduğu gözlemlendi. Cartilago epiglottis’in ucunun sivri olduğu, margines laterales’inin bükülmüş olduğu görüldü. Cartilago trachealis’in uçlarının birbirinden uzak olduğu ve musculus trachealis’in bu uçların altında kaldığı belirlendi. Bu çalışma ile solunum havasının geçtiği yol üzerinde bulunan larynx ve trachea’nın macro anatomik özellikleri ortaya konularak, morfometrik olarak cinsiyetler arasındaki farklar belirtilmiştir. Bu çalışmanın yaban hayvanları ve solunum sistemi üzerinde yapılacak çalışmalara ışık tutacağı öngörülmektedir. Ayrıca teşhis ve tedavi noktasında katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

## Morphological study of trachea and cartilages of the larynx in red fox (*Vulpes vulpes*)

## ABSTRACT

This study was aimed to investigate the macro anatomical and morphometric features of trachea and cartilages of the larynx in the red fox (*Vulpes vulpes*). For this purpose a total of 12 adult red foxes (6 male, 6 female) were used which were collected at different times from traffic accident. Trachea and cartilages of the larynx were dissected carefully and morphometric measurements were taken. As a result of this study, a statistically significant difference was observed between male and female larynx and trachea, and the values were higher in males than females. It was seen that cornu rostrale and cornu caudale of cartilago thyroidea were quite prominent. Cartilago cricoidea was found to be in the form of an oval ring with a curved structure. A backward projection on the processus muscularis was observed on both the right and left sides of the cartilago arythenoidea. It was observed that the tip of the cartilago epiglottis was pointed and its margines laterales were bent. It was determined that the ends of the cartilago trachealis are distant from each other and the musculus trachealis is below these ends. In this study, the macro anatomical features of the larynx and trachea on the way through which the respiratory air passes were revealed and morphometrically the differences between the sexes were specified. It is predicted that this study will shed light on studies on wild animals and the respiratory system. It is also thought that it may contribute to diagnosis and treatment.

## GİRİŞ

Solunum sistemi organlarından olan ve larynx ve trachea’nın anatomik ve morfolojik özelliklerinin bilinmesi, hastalıklarının teşhis ve tedavi açısından oldukça önemlidir (1). Larynx, pharynx ile trachea arasında yer alan kıkırdaksal yapıların ligament, kas ve mukozaya ile birleşmesiyle şekillenmekte ve sesin oluşmasında rol oynamaktadır. Larynx, 3 tanesi tek ve 1 tanesi çift olmak üzere toplam 5 kıkırdak yapısından oluşmaktadır (2, 3). Bunlar; cartilago cricoidea, cartilago epiglottica, cartilago thyroidea tek iken cartilago arythenoidea çift yapıdadır. Larynx’ten sonra gelen trachea’nın da cartilago trachealis adı verilen kıkırdak yapısında olduğu ve şekil olarak oval, yuvarlak

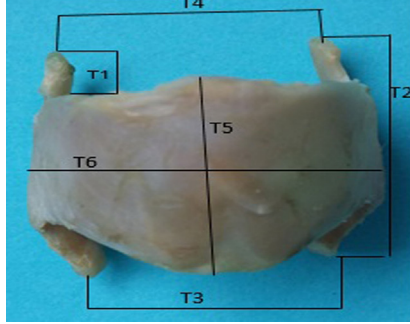
ya da at nalına benzediği ve bunların birleşiminde ligament, kas ve mukozanın rol aldığı bilinmektedir (4).

Larynx ve trachea’nın hem fonksiyonel hem de anatomik çalışmaları birçok hayvan üzerinde yapılmıştır (1, 5-10). Yapılan literatür araştırmalarında tilki’nin larynx ve trachea’sı hakkında herhangi bir morfolojik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada kızıl tilkilerin larynx kıkırdakları ve trachea’sına ait anatomik yapıların belirlenmesi ve morfometrik olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

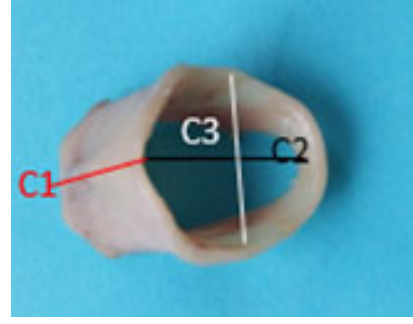
Çalışmada materyal olarak trafik kazasında farklı zamanlar-

da ölü olarak Ceyhan Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı'na getirilen 12 (6 erkek, 6 dişi) yetişkin kızıl tilki (*Vulpes vulpes*) kullanıldı. Baş ve boyun bölgesinin diseksiyonu ile çıkartılan larynx morfolojik olarak incelendi ve kıkırdakları ile trachea'dan digital kumpas (Mitutoyo marka) ile morfometrik ölçümler (Şekil 1-4) (11) alındı.



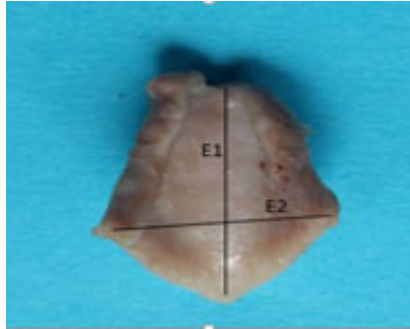
Şekil 1. Cartilago thyroidea'dan alınan ölçüm yerleri.

Figure 1. Measurements taken from cartilago thyroidea.



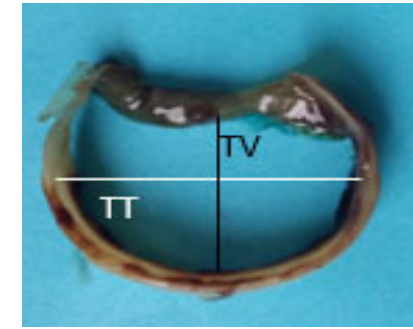
Şekil 2. Cartilago cricoidea'dan alınan ölçüm yerleri.

Figure 2. Measurements taken from cartilago cricoidea.



Şekil 3. Cartilago epiglottis'dan alınan ölçüm yerleri.

Figure 3. Measurements taken from cartilago epiglottis..



Şekil 4. Cartilago trachealis'den alınan ölçüm yerleri.

Figure 4. Measurements taken from cartilago trachealis.

Cartilago thyroidea'dan; cornu rostrale uzunluğu (T1), cornu rostrale ve cornu caudale arası uzunluk (T2), cornu caudale'ler arası uzunluk (T3), Cornu rostrale'ler arası uzunluk (T4), Lamina genişliği (T5), Lamina uzunluğu (T6) alındı. Cartilago cricoidea'dan; cartilago cricoidea'nın uzunluğu (C1), cartilago cricoidea'nın vertical çapı (C2), cartilago cricoidea'nın transversal çapı (C3) alındı. Cartilago epiglottis'den; cartilago epiglottis uzunluğu (E1), cartilago epiglottis genişliği (E2) alınmıştır. Trachea'dan; birincide, ortada ve bifurcatio trachea'da cartilago trachea'nın vertical çapı (TV), cartilago trachea'nın transversal çapı (TT) alındı.

İstatistiksel analizler SPSS 15.0 paket programı ile yapıldı. Bağımsız t testi yapılarak erkek ve dişi tilki larynx kıkırdakları ve trachea'sına ait ölçümlerin ortalama ve standart sapma değerleri verilerek cinsiyetler arasındaki farklar belirtildi. İstatistiksel anlamlılık  $P < 0.05$  olarak kaydedildi. Anatomik terminolojide Nomina Anatomica Veterinaria esas alındı (2017).

## BULGULAR

Larynx, ağız boşluğunun gerisinde, önde dille, üstte pharynx'le ve arkada ise trachea ile komşu olduğu görüldü. Larynx'in tek olarak bulunan kıkırdaklardan; cartilago thyroidea, cartilago epiglottis, cartilago cricoidea ve çift olarak bulunan cartilago arythenoidea'dan oluştuğu görüldü (Şekil 1-3, 5, 6).

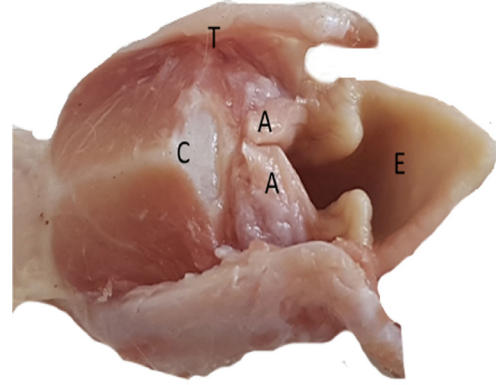
Cartilago thyroidea kalkan şeklinde ve iki lamina'nın birleşmiş olduğu görüldü. Ventral'de prominentia laryngea sığ bir çıkıntı halinde gözlemlendi. Linea obliqua oldukça belirgin bir şekilde lamina'nın üst 1/3'lük kısmında bir kalın bir kabartı şeklinde başlayan vev bir yapıda görüldü. Cornu rostrale uzun ve ince gözlenirken cornu caudale'nin küt bir şekli olduğu ve düz bir seyir gösterdiği belirlendi. Incisura thyroidea caudalis'in sığ bir şekilde olduğu görüldü.

Morfometrik ölçümler sonucunda yapılan istatistiksel analize göre erkek ve dişi tilkilerin cartilago thyroidea'ya ait cornu rostrale uzunluğu, cornu rostrale ve cornu caudale arası uzunluk, cornu caudale'ler arası uzunluk, lamina genişliği ve lamina uzunluğu arasında anlamlı olduğu görülmüştür. Cornu rostrale'ler arası uzunlukta ise cinsiyetler arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır (Tablo 1).

Cartilago cricoidea'nın yüzük şeklinde bir kıkırdak olduğu görüldü. Lamina cartilaginosa cricoidea'nın dış yüzünün orta



**Şekil 5.** Cartilago arythenoidea  
**Figure 5.** Cartilago arythenoidea



**Şekil 6.** Larynx kıkırdaklarının dorsalden görünüşü. T: Cartilago thyroidea, C: Cartilago cricoidea, A: Cartilago arythenoidea, E: Cartilago epiglottis.  
**Figure 6.** Dorsal view of larynx cartilages. T: Cartilago thyroidea, C: Cartilago cricoidea, A: Cartilago arythenoidea, E: Cartilago epiglottis.

**Tablo 1.** Tilki larynx kıkırdakları ve trachea'ya ait morfometrik ölçümler (mm ± SS).

**Table 1.** Morphometric measurements of fox larynx cartilages and trachea (mm ± SD).

Ölçümler	Erkek (n=6)	Dişi (n=6)
Cornu rostrale uzunluğu (*)	44,05± 1,50	40,57± 1,60
Cornu rostrale ve caudale arası uzunluk (*)	8,25± 0,26	6,44± 0,22
Cornu caudale'ler arası uzunluk (*)	48,20± 1,69	44,23± 0,14
Cornu rostrale'ler arası uzunluk	23,80± 2,00	22,20± 0,55
Lamina genişliği (*)	19,74± 0,69	18,35± 0,14
Lamina uzunluğu (*)	53,25± 1,16	51,89± 0,39
Cartilago cricoidea'nın uzunluğu (*)	11,83± 0,74	10,36± 0,08
Cartilago cricoidea'nın vertical çapı (*)	24,79± 1,29	21,31± 0,08
Cartilago cricoidea'nın transversal çapı	15,62± 0,53	15,15± 0,09
Cartilago epiglottis uzunluğu (*)	24,28± 1,45	19,49± 0,11
Cartilago epiglottis genişliği (*)	22,22± 0,80	19,17± 0,09
Trachea uzunluğu(*)	154,16± 0,60	137,28± 0,62
1.Cartilago trachealis'in transversal çapı	11,25± 0,55	11,36± 0,37
1.Cartilago trachealis'in vertical çapı (*)	13,37± 0,38	12,28± 0,23
Orta cartilago trachealis'in transversal çapı (*)	14,42± 0,41	11,73± 0,29
Orta cartilago trachealis'in vertical çapı (*)	9,07± 0,74	9,91± 0,41
Cartilago trachealis'in bifurcatio trachea'da transversal çapı	12,78± 0,41	12,46± 0,55
Cartilago trachealis'in bifurcatio trachea'da vertical çapı	12,01± 0,62	11,38± 0,55

kısımında crista mediana mevcut ve bu yapının cranial parçasında sağ ve sol tarafta m. cricoarythenoideus dorsalis'in yapışması için bulunan çukurluğun derin olduğu görüldü. Ayrıca bu çukurlukların her birinin içinde küçük delikler gözlemlendi. Bu çukurlukların cranial'inde cartilago arythenoidea'nın yapışması için belirgin eklem yüzleri gözlemlendi. İstatistik olarak cinsiyetler arasında cartilago cricoidea'nın uzunluğu ve cartilago

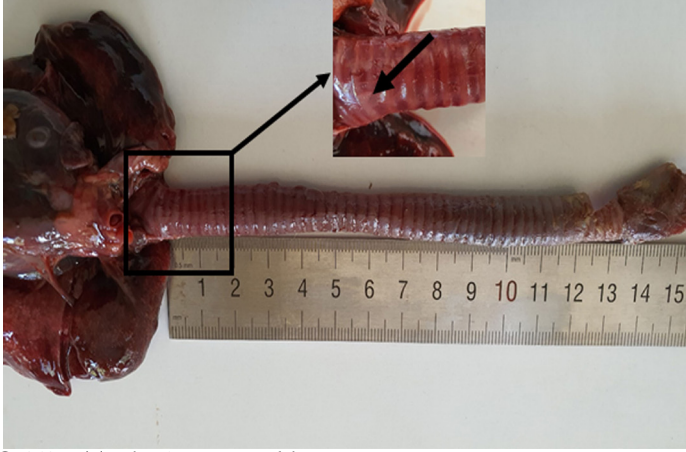
cricoidea'nın vertical çapı arasında farklılık bulunurken, cartilago cricoidea'nın transversal çapı arasında farklılık gözlemlendi (Tablo 1).

Cartilago arythenoidea'nın düzensiz bir şekilde olduğu görüldü. Dorsal kısımda processus corniculatus'un küçük bir çıkıntıdan ibaret olduğu ve ventral'inde ise transversal olarak uzanan processus vocalis'i şekillendirdiği görüldü. Processus



muscularis'in oldukça belirgin bir çıkıntı şeklinde olduğu gözlemlendi ve hatta caudale uzanan ayrı bir çıkıntısı belirlendi.

Cartilago epiglottis'nin apex kısmının sivri olduğu saptandı. Petiolus epiglottica'nın küt bir yapıda olduğu gözlemlendi. Margines lateralis'in kendi üzerinde kıvrıldığı belirlendi. İstatistiksel analiz sonucunda cartilago epiglottis uzunluğu ve genişliği erkek ve dişi tilkiler arasında anlamlı olduğu görüldü (Tablo 1).



Şekil 7. Trachea'nın ventralden görünüşü.

Figure 7. Ventral view of trachea.

Trachea'nın 42-48 adet cartilago trachealis'den oluştuğu görüldü. Trachea'nın iki yerinde cartilago trachealis'in uç kısmının birleşmiş olduğu gözlemlendi (Şekil 7). Erkeklerde uzunluğu ortalama 15,41 cm dişilerde ise ortalama 13,72 cm olarak ölçüldü. Cartilago trachealis'in uç kısımlarının açık olduğu ve musculus trachealis'in bu uçların altına yerleştiği tespit edildi. Trachea'nın dorso-ventral olarak basık olduğu belirlendi (Şekil 4). Yapılan istatistiksel analize göre 1. cartilago trachealis'in vertical çapı, orta cartilago trachealis'nin vertical ve transversal çapı cinsiyetler arasında farklı olduğu tespit edildi (Tablo 1).

## TARTIŞMA

Kızıl tilki larynx'leri üzerinde yapılan araştırma sonucunda literatürde (2-4) belirttiği gibi 3 tek ve 1 çift kıkırdaktan meydana geldiği görüldü. Cartilago throidea'nın incelendiği bir kaplan çalışmasında caudal'de bulunan çentigin oldukça belirgin olduğu, cornu caudale'nin bulunmadığı ve n. laryngeus cranialis'in geçmesi için bir delik bulunduğu bildirilmiştir (6). Ayrıca domuzda yapılan bir çalışmada cornu rostrale'nin bulunmadığı bildirilmiştir (8). İncelenen Kızıl tilki larynx'inde incisura thyroidea caudalis'in sığ, cornu caudalenin oldukça belirgin ve cornu rostrale'nin ventral'inde n. laryngeus cranialis'in geçmesi için sadece çentigin bulunması nedeniyle kaplan (6) ve domuz (8) cartilago throidea'sından oldukça farklı olduğu tespit edildi.

Incisura thyroidea caudalis'in attı (2, 3) derin olması nedeniyle kızıl tilkiden farklı olduğu görülmesine rağmen ceylanda (5) ve ruminantlarda (2,3) bu çentigin sığ olması carnivora olan kızıl tilkide de benzer gözlenmiştir. İncelenen kızıl tilkideki cartilago thyroidea'nın eninin yüksekliğinden daha fazla olan koyun, köpek (13) ve Yeni Zelanda tavşanı'na (11) benzerken deve (14) ve köpekte (15) yüksekliğin daha fazla olması nede-

niyle farklı olduğu görülmüştür.

Cartilago cricoidea'nın kaplarda 6 cm uzunluğunda ve laminanın cranio-caudal uzunluğu 4 cm olduğu ifade edilmiştir (6). Kızıl tilki'de cartilago cricoidea'nın uzunluğu erkekte 11,83 mm iken dişide 10,36 mm olduğu görüldü. Bu yapının boy ile ilişkili olduğunu düşündürdü.

Ceylanda cartilago arytenoidea üzerinde, processus cuneiformis ve cartilago interarytenoidea'nın varlığına rastlanamamıştır (5). Kızıl tilkide cartilago arytenoidea'nın üçgensel yapının oluşmadığı gibi araştırılan diğer hayvanlarda görülmeyen processus muscularis'in caudale uzanan ayrı bir çıkıntısı da olduğu belirlendi.

Ceylanda cartilago epiglottis'te apex'in ventral'e doğru kıvrılmış, petiolus'un ise kalın ve geniş olduğu görülmüştür (5). Kızıl tilkide apex ucunun sivri olduğu hatta yanlardan içe doğru kıvrıldığı ve cartilago epiglottis'in kısa olduğu gözlemlendi.

Trachea'da ise 42-48 cartilago trachealis olduğu ve bazı yerlerde bu halkaların uç kısımlarının birbirleriyle birleştiği tespit edildi. Bu şekilde komşu iki halka arasında birleşmenin olduğu tepeli kirpi (*Hyarix indica*)'de olduğu bildirilmektedir (18). Erkeklerin trachea uzunluğu ortalama 15,41 cm dişilerde ise ortalama 13,72 cm olduğu tespit edildi. Köpekte trachea'nın uzunluğu ortalama 19.5 cm (15), kırmızı Sokoto keçisi (*Capra hircus*)'nde 25,7 cm (19), Arap antilop'unun (*Oryx leucoryx*) (10), ortalama trachea uzunluğu 54.1±0.73 cm olduğu belirtilmiştir. Cartilago trachealis'ler tek tırnaklılarda dorso ventral basık, sığır, koyun ve keçiye yanlardan basık bir şekilde bulunduğu bildirilmektedir (3). Kızıl tilki cartilago trachealis'in kıkırdaksal olarak dorso ventral basık şekilde olduğu, uçlarının ise keçi ve ceylan trachea'sına benzer şekilde ayrı olduğu görüldü. Hatta musculus trachealis'in bu uçların alt kısmına yerleşmesinin Carnivora'dan farklı olduğu tespit edildi.

Yeni Zelanda tavşanının larynx'ini oluşturan kıkırdaklardan; cartilago thyroidea'nın cranial cornular arası uzunluğu, lamina genişliği ve lamina uzunluğu ölçüm değerlerinde cinsiyetler arasında istatistiksel bir farkın bulunduğu bildirilmiştir (11). Ceylanda yapılan bir çalışmada da cartilago thyroidea'nın tavşandaki gibi lamina uzunluğunun, lamina genişliğinden fazla olduğu ifade edilmiştir. Ayrıca erkek ceylan larynx kıkırdaklarının, dişilere göre daha büyük ve geniş olduğu belirtilmiştir (5). Rus gümüş tilkisi (*Vulpes vulpes*) ve Canis lupus ailesine ait türler arasında yapılan sesin takip ettiği yolun boyutları hakkındaki araştırmada; cinsiyetler arasında farklılıkların vücut ölçüleriyle eş değer olarak bulunduğu hatta erkeklerin dişilerden daha büyük değerlere sahip olduğunun bildirilmektedir (16). Yapılan bu çalışma, Yeni Zelanda tavşanı (11), ceylan (5), Rus gümüş tilkisi (*Vulpes vulpes*) ve Canis lupus ailesine ait türleri üzerinde yapılan çalışmalarla uyumlu olarak kızıl tilkide cinsiyetler arasında kıkırdaklar ve boyutları arasında farklılık gözlemlendi. Kızıl tilkide; cornu rostrale'ler arası uzunluk, cartilago cricoidea'nın transversal çapı, 1. cartilago trachealis'in transversal çapı, cartilago trachealis'in bifurcatio trachea'da transversal çapı ve cartilago trachealis'in bifurcatio trachea'da vertical çapı ölçümleri haricinde diğer ölçümlerin cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlıdır.

Evcil domuzun larynx'ini de sexuel dimorphism göstermediği bildirilmiştir (8). İnsanda yapılan bir çalışmada erkeklerde larynx kıkırdaklarının boyutsal olarak büyük olsa da dişiler ile istatistiki karşılaştırmada bir anlam ifade etmediği bildirilmiştir (17). Yapılan bu çalışmada kızıl tilki larynxinin domuz ve insandan farklı olarak sexuel dimorphism bulunduğu tespit edilmiştir.

## SONUÇ

Sonuç olarak, Kızıl tilkide larynx'ini oluşturan cartilago cricoidea, cartilago epiglottis, cinsiyetler arasında istatistiki olarak bir farkın bulunduğu, cartilago thyroidea'nın ise bazı ölçüm değerlerinde farklı olduğu tespit edilmiştir. Erkek kızıl tilkiye ait larynx kıkırdaklarının dişilerden daha büyük olduğu görüldü. Buna ilaveten trachea'nın da erkek ve dişi tilkiler arasında istatistiki olarak anlamlı olduğu tespit edildi. Cartilago arythnoidea'nın literatür bilgilerinden farklı bir yapıda olduğu için morfometrik ölçüm yerleri çok belirgin değildi. Hatta processus muscularis üzerinde caudale uzanan ayrı bir çıkıntı görüldü.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçların veteriner anatomi bilgi birikimine katkı sağlaması ile birlikte, trafik kazalarında ya da diğer kazalarda oluşan yaralanmalarda kızıl tilkiye kliniklerde uygulanabilecek olan laryngoskop için model oluşturulması, teşhis ve tedavi noktasında katkıda bulunabileceği öngörülmektedir.

## BEYANNAMELER

### Etik onayı ve katılma onayı

Çalışma Orman ve Su İşleri Bakanlığı 26.08.2016 tarih ve 27006244-445.01.01-173572 sayılı yazısı ve Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 20.06.2017 tarih ve 2017/6-9 nolu kararı ile izin alınarak gerçekleştirilmiştir.

### Yazar katkıları

Makalenin fikir, kavram ve tasarım ile verilerin toplanması ve analizi AH ve SÖ tarafından gerçekleştirildi. Makale AH tarafından yazıldı, eleştirel inceleme SÖ tarafından yapıldı.

### Çıkar çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

### Veri kullanılabilirliği

Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler makul talep üzerine sorumlu yazardan temin edilebilir.

## KAYNAKLAR

- Hallers EJO, Rakhorsta G, Marresb HAM, Jansenc JA, Van Kootena TG, Schuttea HK, et al. Animal models for tracheal research. *Biomaterials*. 2004;25:1533–1543.
- Getty, R. Sisson and Grossman's the anatomy of the domestic animals. London: W.B. Saunders Company. 1975. p. 1562-1569.
- Dursun N. Veteriner anatomi II. Medisan Yayınevi. 2008. p. 102-116.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Textbook of veteri-

nary anatomy. 4rd ed. (Turkish version). 2018. p. 152-158.

5. Düzler A, Nur IH, Çirli Ş. Ceylanda larynx kıkırdakları ve trachea üzerinde makro-anatomik bir araştırma. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*. 2005;2(1):23-28.

6. Perez W, Lima M, Cunarro B. Larynx anatomy in a tiger (*Panther tigris*, Linnaeus, 1758). *J Anim Vet Adv*. 2006;5(12):1093-1095.

7. Cano I, Perez W. Quantitative anatomy of the trachea of the giraffe (*Giraffa camelopardalis rothschildi*). *Int J Morphol*. 2009;27(3):905-908.

8. Wysocki J, Kielska E, Janiuk I, Charuta A. Analysis of larynx measurements and proportions in young and adult domestic pigs (*Sus scropha domestica*). *Turk J Vet Anim Sci*. 2010;34(4): 339-347.

9. Pinheiro L, Lima AR, Muniz APC, Imbeloni A, Fioreto ET, Fontes RF, et al. Anatomy and morphometric aspects of the trachea of *Saimiri sciureus* Linnaeus, 1758: knowledge for emergency procedures. *An Acad Bras Cien*. 2012;84(4):973-977.

10. Al-Zhgoul MB, Dalad AHS, Abdulkhakeem A, Ismail ZB, Thanain AT. Arabian oryx (*Oryx leucoryx*) trachea: a descriptive and morphometric analysis. *Int J Morphol*. 2013; 31(3):813-818.

11. Özkadif S, Dayan MO, Demiraslan Y, Aykut M, Özgel Ö. Morphometric properties of larynx and trachea in the New Zealand rabbit. *Eurasian J Vet Sci*. 2016;32(4): 208-213.

12. Nomina Anatomica Veterinaria. Prepared by the international committee on veterinary gross anatomical nomenclature and authorized by the general assembly of the world association of veterinary anatomists, The Editorial Committee Hannover, Germany. 2017.

13. Kim MJ, Hunter EJ, Titze IR. Comparison of human, canine, and ovine laryngeal dimensions. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2004; 113(1): 60-68.

14. Saber AS. The cartilages of the larynx of the one-humped camel (*Camelus romedarius*) and sheep (*Ovis aries*). *Anat Histol Embryol*. 1983; 12: 77-84.

15. Dabanoğlu I, Öcal MK, Kara ME. A quantitative study on the trachea of the dog. *Anat Histol Embryol*. 2001;30(1):57-59.

16. Plotsky K, Rendall D, Riede T, Chase K. Radiographic analysis of vocal tract length and its relation to overall body size in two canid species. *J Zool*. 2013; 291: 76–86.

17. Jotz GP, Stefani MA, Filho OPC, Malysz T, Soster PR, Leao HZ. A morphometric study of the larynx. *J Voice*. 2014; 28(6): 668-672.

18. Abbasabadi BM, Moradi HR, Aferi S, Kyllar M. Histomorphology of the lower respiratory tract in the Indian crested porcupine (*Hystrix indica*). *Anat Histol Embryol* 2021; 00: 1-9. DOI: 10.1111/ah.12658

19. Byanet O, Bosha JA, Onoja BO. A quantitative study on the trachea of the red sokoto (maradi) goat (*Capra hircus*). Veterinary Medicine International. 2014. Volume 2014, Article ID 142715, 5 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/142715>

# Estimation of body weight and body condition score in dairy cows by digital image analysis method

Mehmet Kaya<sup>1</sup>, Hüsnü Erbay Bardakçioğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Faculty of Veterinary Medicine, Aydın Adnan Menderes University, Aydın/TURKEY

## Key Words:

body condition score  
body weight  
conventional method  
digital image analysis method  
holstein

Received : 06.07.2021  
Accepted : 07.10.2021  
Published Online : 31.12.2021  
Article Code : 963188

## Correspondence:

M. KAYA  
(mehmet.kaya@adu.edu.tr)

## ORCID

M. KAYA : 0000-0003-2377-4474  
HE. BARDAKÇIOĞLU: 0000-0001-7634-1563

## ABSTRACT

In this study the body weight (BW) and body condition score (BCS) of lactating cows was estimated by using the digital image analysis methods (DIAM). BCS is an important factor to facilitate different practices of management in dairy cattle. A total of 204 Holstein cows live images were taken by remote shutter camera. Six body measurements such as heart girth (HG), wither height (WH), hip height (HH), body length (BL), front hip-width (FHW), and back hip-width (BHW) were used for the assessment of BW and BCS by conventional (CM) and DIAM. The estimation of CBW using HG, FHW, and BL variables was effective ( $R^2 = 0.75$ ). However, all the body measurements were ineffective for body condition score by measurements (MBCS), ( $R^2 = 0.06$ , conventional) and DBCS ( $R^2 = 0.05$ , digital) estimation. The measurements of WH, HG, FHW, BHW, and BL were precise in DBW estimation ( $R^2 = 0.77$ ). No significant differences were found across the assessment methods (CM, DIAM) for body measurements. The intra-class reliability coefficient (ICC) of conventional and digital (MBW, DBW) measurements was “good” and “excellent” between conventional and digital estimations. This study indicates that DIAM is a reliable method for determining DBW and MBW, and can be interchanged effectively with CM.

## INTRODUCTION

The regulation of animal health and profitability of the commercial dairy farms is influenced by various management factors like feed intake, animal productivity, maintenance of body weight (BW), body condition score (BCS), and feeding program (1). The concept of automation has changed the face of dairy farming with innovative equipment's of feeding, milking, and heat detection. To maximize the profitability of dairy farms, BW and BCS is regularly monitored with conventional or automated techniques (2). Innovative technology for automatic detection of animals with poor body health can help to maximize milk yield, minimize veterinary costs, and improve herd management. The conventional methods (CM) of CBW and CBCS are prone to subjective variation and labor intensive for large dairy farms, moreover the observed data might be inconsistent during frequent measurements. Early detection of BCS can significantly reduce risks of developing lameness and various health problems (3). Therefore, monitoring the performance of the dairy animals i.e., body/health condition at key stages of parturition, mating and lactation is important to increase the productivity and profitability according to animal welfare criteria (4). Manual estimation of animal weight is performed by using specific anatomic points using livestock scale and weighing balance is used or BW measurement. The weighing devices are fixed in special area, this not only induces stress to animals but also interferes with normal dairy activities. Automated weighing devices are becoming more practi-

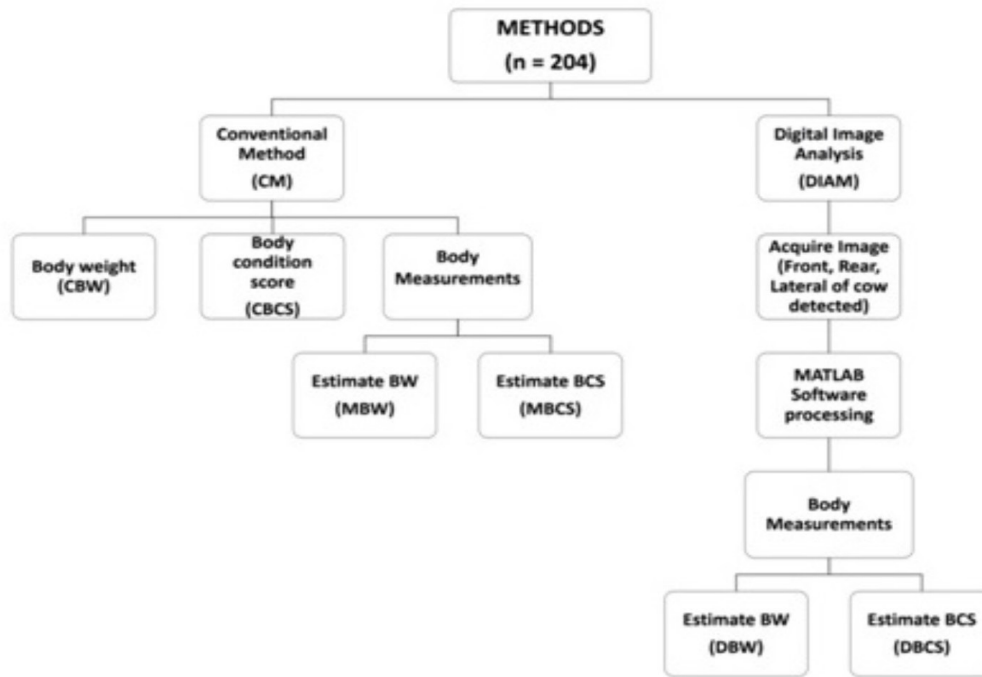
cal, but this technology remains extremely costly (5). Recent studies reported that BW and BCS (digital BW and BCS, DBW and DBCS) can be estimated by using digital image analysis method (DIAM), (6,7). Furthermore, DIAM is not prone to subjective error by individual experts and can be conducted with low cost. Various benefits of this technology include continuous (24/7) monitoring of animals, based on quantitative data, rather than qualitative information, and digital imaging is more reliable than CM (8). Low-cost automatic collection and data analysis of DBW and DBCS for large herds is practically unavailable. Therefore, the aim of this study was to estimate BW and BCS of dairy animals by digital method and predict its reliability by regression model.

## MATERIAL and METHODS

The study was conducted at a private intensive dairy farm in Aydın. In this study 204 Holstein cows were used. Animals with excessive weakness, posture disorder, and lameness, 6> months pregnant, under treatment or in dry period were excluded from the study in order to avoid the measurement errors. Similarly, cow age/parity, lactation stage or any other parameters were also excluded from the statistical method.

### Methods of body measurements

Body measurements of dairy cattle were performed once with two methods, in first step with conventional method (CBW, CBCS) and in the second step digital image analysis method (DBW, DBCS).



**Figure 1.** Represents the stepwise sequence of both procedures (conventional and digital) and the measurements with scale.

The stepwise sequence of both procedures (conventional and digital) and the measurements with scale was shown in Figure 1. Body weight (BW) and body condition score (BCS) were measured at each step. The body parts of the cows were examined by veterinarian according to the prominence of bone protrusion, muscle, and subcutaneous fat accumulation in a studio environment created for the animals in a separate area. The examination was controlled by palpation and inspection for BCS. The cows were kept stable while conducting the imaging procedure and measurements.

Measuring cane and tape were used to take body measurements and body weight (MBW) and body condition score (MBCS) evaluation was performed using California Technique (9).

#### Image Collection and processing

BW and BCS were estimated by using body measurements such as heart girth (HG), wither height (WH), hip height (HH), body length (BL), front hip-width (FHW), back hip-width (BHW), and data was recorded to perform the imaging processing.

Images were taken with digital camera (Nikon D3200) and the remote shutter release system synchronized cameras were utilized in a studio environment created for animals. Digital scales were determined to process the images by software with reference to the BW of animals. The evaluation of BCS and BW by digital imaging method was performed on images of the animals from four different directions (front, back, top, and side). The images were then processed and analyzed in the Digital Image Analysis Program (MATLAB-Image Processing Toolbox).

#### Statistical Analysis

All the data were analyzed by using SPSS® 22.0 (Statistical Package for the Social Sciences 22). In terms of body measurements, groups were determined as conventional and digital image analysis methods and compared by paired-samples t-test. The reliability analysis was performed by finding high correlations between the given measurements and BW and BCS values to evaluate the reliability of the data. The results were interpreted by test-retest reliability analysis and the absolute agreement between conventional and digital image analysis methods was determined separately. The variables (BW, BCS) with high association were considered reliable. Similarly, the level of absolute agreement between the methods, and intra-class correlation coefficient (ICC) was estimated (10). Multiple linear regression analysis was also used to estimate BW and BCS in conventional and digital image analysis methods. The estimation of BW and BCS using regression model was defined as “ $\hat{y} = a + \beta_1 \times x_1 + \beta_2 \times x_2 + \beta_3 \times x_3$ ” where  $\hat{y}$  is the depend variable (BW, BCS) of cow, a is the intercept;  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ , and  $\beta_3$  are regression coefficients corresponding to the co-variables heart girth (HG), wither height (WH), hip height (HH), body length (BL), front hip-width (FHW), and back hip-width (BHW) respectively. “Enter method” was applied to all variables to examine the correlation between independent variables in terms of model fit. Afterwards “Backward, Forward, and Stepwise” methods were applied for the important parameters. Data were presented as the mean  $\pm$  standard error and  $P < 0.05$  was considered as statistically significant (11).

#### RESULTS

BW and BCS of cows were 629.10 kg and 3.05 for CM and for DIAM 628.62 kg and 2.96, respectively. Correlation of

CBW and CBCS ( $r = 0.40$ ) was found significant ( $P < 0.001$ ). In CM the body measurements were utilized effectively for estimation of body weight (MBW) and highest correlation ( $r = 0.71$ ) was found between HH and WH; and lowest correlation ( $r = 0.22$ ) was found between BHW and HH. Similarly, for DIAM showed highest correlation ( $r = 0.86$ ) between HH and WH, and lowest correlation ( $r = 0.31$ ) between BHW and HH ( $P < 0.001$ ) was found.

showed that HG, BL, FHW and BHW (independent variables) have significant effect ( $R^2 = 0.77$ ). But for BCS the parameters like HG and BHW (independent variables) were found to be non-significant ( $R^2 = 0.05$ ).

No significant differences were found for WH, HH, HG, FHW, BHW and BL values of the cows between both methods (Table 2).

**Table 1.** Shows estimation of BW and BCS of dairy cattle by using both methods (CM, DIAM) of body conformation using regression analysis.

Method	Regression equation	R <sup>2</sup>
Conventional	BW (MBW) = $-1016.827 + 5.402 \times HG + 5.273 \times FHW + 1.864 \times BL$	0.75
Conventional	BCS (MBCS) = $1.493 + 0.014 \times HG - 0.054 \times BHW$	0.06
Digital	BW (DBW) = $-1060.360 + 5.100 \times HG + 2.564 \times BL + 3.099 \times FHW + 5.255 \times BHW$	0.77
Digital	BCS (DBCS) = $1.222 + 0.017 \times HG - 0.027 \times FHW$	0.05

**Table 2.** Shows comparison of both methods (CM, DIAM) used to body measurements ( $\bar{x}$  s<sub>e</sub>), (n = 204)

Body measurements	Method		P
	Conventional	Digital	
WH	148.04 ± 0.27	147.88 ± 0.31	0.443
HH	146.52 ± 0.24	146.83 ± 0.30	0.115
FHW	57.31 ± 0.23	57.12 ± 0.22	0.086
BHW	21.84 ± 0.09	21.84 ± 0.08	0.916
BL	160.34 ± 0.45	160.67 ± 0.46	0.236
HG	193.43 ± 0.56	193.26 ± 0.57	0.224

$\bar{x}$ : Mean, s<sub>e</sub>: Standard error

Regression coefficients of independent variables were found to have significance between the studied parameters and are given in Table 1. In CM, the parameters like HG, FHW and BL (independent variables) were significant ( $R^2 = 0.75$ ) for the estimation of body weight; however, for the BCS (dependent) HG and BHW (independent variables) were found to be non-significant ( $R^2 = 0.06$ ). In the DIAM, BW estimation

Table 3 shows the reliability analysis of both methods for BW and BCS; Cronbach's alpha coefficient ( $\alpha$ ) and intra-class correlation coefficient (ICC) were in an absolute agreement ( $P < 0.001$ ) for the WH, HH, HG, FHW, BHW, and BL for CM and DIAM.

**Table 3.** Reliability analysis between methods (CM, DIAM) for body measurements (n = 204)

Body measurements	Reliance range*	$\alpha$	ICC	F	P
WH	0.70 - 0.81	0.86	0.76	7.54	0.000
HH	0.68 - 0.80	0.85	0.75	7.04	0.000
FHW	0.85 - 0.91	0.94	0.89	17.50	0.000
BHW	0.72 - 0.83	0.87	0.78	8.24	0.000
BL	0.76 - 0.86	0.90	0.82	10.11	0.000
HG	0.95 - 0.97	0.98	0.96	61.09	0.000

\*: 95%

**Table 4.** Some descriptive statistics of BW and BCS ( $\bar{x} \pm s_e$ ), (n = 204)

	$\bar{x} \pm s_e$
CBW	629.10 $\pm$ 5.15
MBW	629.21 $\pm$ 4.47
DBW	629.04 $\pm$ 4.53
CBCS	3.05 $\pm$ 0.03
MBCS	3.02 $\pm$ 0.00
DBCS	2.96 $\pm$ 0.00

$\bar{x}$ : Mean,  $s_e$ : Standard error

**Table 5.** Reliability analysis for BW and BCS (n = 204)

	Reliance range *	$\alpha$	ICC	F	P
CBW - MBW	0.82 - 0.89	0.92	0.86	13.28	0.000
CBW - DBW	0.83 - 0.90	0.93	0.87	14.60	0.000
MBW - DBW	0.95 - 0.97	0.98	0.96	54.86	0.000
CBCS - MBCS	-0.02 - 0.24	0.20	0.11	1.25	0.054
CBCS - DBCS	-0.03 - 0.22	0.18	0.09	1.22	0.079
MBCS - DBCS	0.27 - 0.71	0.77	0.55	4.50	0.000

\*: 95%

The mean values estimated by CM or DIAM i.e., MBW, MBCS, DBW, DBCS and the CBW and CBCS were measured by body measurements are shown in Table 4.

Reliability analysis was performed for the measurement compliance between CM and DIAM. The reliability analysis determined that body measurement parameters were significant ( $P < 0.001$ ) for CBW - MBW, CBW - DBW, and CBCS - DBCS (Table 5).

## DISCUSSION

The benefits of regular monitoring of BW in intensive dairy farms are well known to most of the dairy producers. The profitability of dairy enterprise solely depends on health of

animals, and various issues of nutrition especially in early lactation can be controlled easily with body condition scoring (12). In the past few years, producers' interest has therefore grown in various estimation procedures of body conformation. BCS is well known due to its low cost and easy incorporation in dairy management (13). Traditional methods (CBW and CBCS) are simple but demand long hours of commitment from skilled observers. There is likelihood of variation in body measurements also and lack of practicality at big dairy farms. Therefore, such concerns have paved the way for digital/automated system of BCS in dairy animals. Both methods (CM, DIAM) estimated CBW, DBW effectively and further processed for regression analysis to understand the relationship with body measurements. The reliability analysis for MBW showed

that regression parameters HG, FHW and BL were 5.402, 5.273 and 1.864 respectively; and the coefficient of determination ( $R^2$ ) was 0.75. This clearly shows that the body measurements can be used for MBW estimation accurately. Using the DIAM, regression parameter HG, BL, FHW and BHW were found significant ( $R^2 = 0.77$ ) for DBW. BHW added as an extra parameter of body measurement in the DIAM. In this study both methods of body conformation assessment showed non-significant results for MBCS, DBCS ( $R^2 = 0.06$  for CM and  $R^2 = 0.05$  for DIAM). In the literature BCS using the body measurements are reported to be not feasible practically. Taşdemir (14) reported that MBW estimation with body measurements (WH, HH, BL, HW), is possible ( $R^2$  was 0.64) and Kuzuhara et al. (15) found coefficient of determination for MBW ( $R^2 = 0.80$ ) and MBCS ( $R^2 = 0.74$ ) values via observation and estimations from thurls, hook and pin bones of dairy cows. Researchers have identified 23 anatomical points for BCS estimation by regression model (16,17). Heinrichs et al. (18) predicted that heart girth can estimate the MBW, similarly highest  $R^2$  value was determined for the heart girth by (19). However, in several studies, it is reported that the measurement of heart girth might vary according to the BW categories of the animals (20,21,22,23). Therefore, the differences of selected animals in the studies and the measurement accuracy of variables can cause differences between the results.

Hansen et al. (5) acknowledged the accuracy of the results of the digital image analysis method and suggested that DIAM methods were better for estimation of DBW and DBCS than the conventional method in dairy cows. Various studies have reported accurate digital systems to determine composition of body in dairy buffalo (24) and Zebu cattle (25). Negretti et al. (24) reported BW and BCS estimations as  $R^2 = 0.94$  and 0.92, by digital image analysis in dairy cows, which is higher to our study ( $R^2 = 0.77$ ), this difference might be due to the image analysis by MATLAB software. Taşdemir (14) declared that the regression coefficient values for BL and HW were 2.05 and 7.86, in 220 Holstein dairy cows. The regression coefficient determined for BL was similar with the findings of our study. A study was conducted in 229 dairy cows for the estimation of DBW an error value of 11.7% was reported (26). The variation in the results is possible due to selection differences of point, posture and position of animals during imaging process and the lack of program sensitivity. In the current study, regression coefficients of HG and FHW were effective in DBCS estimation and determined to be 0.324 and -0.197. In a study by Kuzuhara et al. (15), DBCS was determined using a three-dimensional camera system and mean value of 3.2 was reported, however in this study lower mean value of 2.96 was found.

The high correlation of digital and conventional body measurements is shows that DIAM can be easily incorporated in the form of digital or android application in mobiles or computers. But still the final output is an estimation of DBW. Unfortunately, the accurate estimation of DBW cannot give information of true energy reserves of cattle. This is the limitation of this study that the scale measurements can help in estimation of BW but much less useful for DBCS. In another study a three-dimensional imaging method was used to find the correlation coefficient of BCS value in 40 Holstein

cows and it was determined to be 0.84 (27). The difference from other studies are possible due to lack of sensitivity of the program in our study and image processing in different digital image analysis methods. Furthermore, the diversity of body parts used for body measurements, age and sex differences of experimental animals have resulted in lower value in our study.

Özkaya et al. (28) found the correlation coefficients between the actual and predicted values of body measurements for BL, WH, HH, and HW were 0.94; 0.95; 0.90 and 0.78. In the reliability analysis between both methods (CM, DIAM), intra-class correlation coefficient for HG was highest in our study. The reference points during heart girth estimation are easily accessible and this might be the reason of high accuracy for HG while measuring the body points. Stajniko et al. (29) reported that prediction of body weight with hip height was more accurate by using thermal image analysis. DIAM to estimate body conformation has advantage of better efficiency, being hygienic and risk free. However, CM instead requires skilled experts who travel between farms and increase the risks of disease transmission. DIAM method has another advantage of providing continuous dataflow for early warnings and management actions specially at bigger dairy farms (4,30). The comparison between CBCS and DBCS useful in a sense to find out the practicality at farm level. Visual BCS assessment for CBCS assessment is easier but using the above mentioned six measurements is complex. Similarly, during the movement of cows from parlor to the barn digital images can be taken on routine basis to figure out DBCS. The procurement of body measurements for DBCS is however time consuming if it is performed manually. Therefore, a program or android application can be developed for estimation of DBCS digitally. However, in this case, Cronbach's alpha coefficient is quite small (0.18, Table 5). The low agreement in this study claims that DIAM cannot reliably replace visual appraisal of BCS. But the CBW can be reliably replaced.

## CONCLUSION

In conclusion DIAM methods can easily replace CM for the calculations of CBW in dairy animals. Both CM and DIAM methods provide fair estimates of CBW or DBW and CBCS, MBCS and between these methods high intra-class correlation coefficients were found. The results of this study suggest that the objective determination of DBW and MBW by DIMA can be estimated adequately. Furthermore, explorative studies for DBCS using camera technology are suggested for future.

## DECLARATIONS

### Ethics Approval

The Animal Care and Practice, Committee of Aydın Adnan Menderes University approved all procedures involved in this experimental study (64583101/2014/115-08-2014).

### Conflict of Interest

The authors declared that there are no conflicts of interest.

### Author Contribution

Idea, concept and design: MK, HEB

Data collection and analysis: MK, HEB, MTM

Drafting of the manuscript: MK



Critical review: MK, HEB

#### Data Availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

#### Acknowledgements

The research was summarized from a PhD thesis of the same name. The authors wish to gratefully acknowledge Aydın Adnan Menderes University (Aydın, Turkey) for financial supporting (Project No: VTF-15040) the present study. They are also grateful to Mustafa Tayfun MAVİOĞLU, Department of Electronic Technology, Vocational School, Aydın Adnan Menderes University, Turkey for the coding/algorithm and Sanan RAZA, Department of Reproduction & Artificial Insemination, Faculty of Veterinary Medicine, Aydın Adnan Menderes University, Turkey for revising the language of the manuscript.

#### REFERENCES

1. Sarı M, Çerçi İH, Deniz S, Şahin K, Seven PT, Şahin N, Çiftçi M, Bolat D, Önel AG, Azman MA, Güler T, Marsh MA, Nursoy H, Bingöl NT. Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları. 1st ed., Malatya: 2008:178-207.
2. Frost AR, Schofield CP, Beulah SA, Mottram TT, Lines JA, Wathes CM. A review of livestock monitoring and the need for integrated systems. *Computers and electronics in agriculture*. 1997 May 1;17(2):139-59.
3. Green LE, Huxley JN, Banks C, Green MJ. Temporal associations between low body condition, lameness and milk yield in a UK dairy herd. *Preventive Vet Med*. 2014 Jan 1;113(1):63-71.
4. Janssen SJ, Porter CH, Moore AD, Athanasiadis IN, Foster I, Jones JW, Antle JM. Towards a new generation of agricultural system data, models and knowledge products: Information and communication technology. *Agricultural Syst*. 2017;155:200-212.
5. Hansen MF, Smith ML, Smith LN, Jabbar KA, Forbes D. Automated monitoring of dairy cow body condition, mobility and weight using a single 3D video capture device. *Computers in industry*. 2018 Jun 1;98:14-22.
6. Spoliansky R, Edan Y, Parmet Y, Halachmi I. Development of automatic body condition scoring using a low-cost 3-dimensional Kinect camera. *J. Dairy Sci*. 2016 Sep 1;99(9):7714-25.
7. Bozkurt Y, Mikail N, Ulusar UD, Aktas H, Dogan C. Prediction Of Bodyweight Of Holstein And Brown-Swiss Male Cattle By Using Digital Images. *Scientific Papers: Series D, Animal Science-The International Session of Scientific Communications of the Faculty of Animal Science*. 2017 Jan 1;60.
8. Song X, Bokkers EA, van der Tol PP, Koerkamp PG, Van Mourik S. Automated body weight prediction of dairy cows using 3-dimensional vision. *J. Dairy Sci*. 2018 May 1;101(5):4448-59.
9. Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci*. 1989;72(1):68-78.
10. Spor AR. Sağlık ve Eğitim Bilimlerinden Örneklerle Uygulamalı İstatistik ve Geçerlilik-Güvenirlilik.(4. Baskı). Ankara. Detay Yayıncılık. 2016:513-557.
11. Özdamar L, Ertem MA. Models, solutions and enabling technologies in humanitarian logistics. *European Journal of Operational Research*. 2015 Jul 1;244(1):55-65.
12. Wangchuk K, Wangdi J, Mindu M. Comparison and reliability of techniques to estimate live cattle body weight. *J. appl. ani. res*. 2018 Jan 1;46(1):349-52.
13. Kristensen E, Dueholm L, Vink D, Andersen JE, Jakobsen EB, Illum-Nielsen S, Petersen FA, Enevoldsen C. Within-and across-person uniformity of body condition scoring in Danish Holstein cattle. *J. Dairy Sci*. 2006 Sep 1;89(9):3721-8.
14. Taşdemir Ş. Dijital görüntü analiz yöntemi ile siyah alaca ineklerde vücut ölçülerinin belirlenmesi ve canlı ağırlığının tahmin edilmesi (Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü). 2010. Turkey.
15. Kuzuhara Y, Kawamura K, Yoshitoshi R, Tamaki T, Sugai S, Ikegami M, Kurokawa Y, Obitsu T, Okita M, Sugino T, Yasuda T. A preliminary study for predicting body weight and milk properties in lactating Holstein cows using a three-dimensional camera system. *Computers and Electronics in Agriculture*. 2015 Feb 1;111:186-93.
16. Bewley JM, Peacock AM, Lewis O, Boyce RE, Roberts DJ, Coffey MP, Kenyon SJ, Schutz MM. Potential for estimation of body condition scores in dairy cattle from digital images. *J. Dairy Sci*. 2008 Sep 1;91(9):3439-53.
17. Azzaro G, Caccamo M, Ferguson JD, Battiato S, Fari-nella GM, Guarnera GC, Puglisi G, Petriglieri R, Licitra G. Objective estimation of body condition score by modeling cow body shape from digital images. *J. Dairy Sci*. 2011 Apr 1;94(4):2126-37.
18. Heinrichs AJ, Rogers GW, Cooper JB. Predicting body weight and wither height in Holstein heifers using body measurements. *J. Dairy Sci*. 1992 Dec 1;75(12):3576-81.
19. Enevoldsen C, Kristensen T. Estimation of body weight from body size measurements and body condition scores in dairy cows. *J. Dairy Sci*. 1997 Sep 1;80(9):1988-95.
20. Gunawan A, Jakaria J. Application of linear body measurements for predicting weaning and yearling weight of Bali cattle. *Animal Prod*. 2010;12(3).
21. Rashid MM, Hoque MA, Huque KS, Talukder MA, Bhuiyan AF. Morphometric characterization of Brahman crossbred cattle and prediction of live weight using linear body measurements. *Asian J. Med. Biol. Res*. 2015;1(3):569-77.
22. Heinrichs AJ, Heinrichs BS, Jones CM, Erickson PS, Kalscheur KF, Nennich TD, Heins BJ, Cardoso FC. Verifying Holstein heifer heart girth to body weight prediction equations. *Journal of dairy science*. 2017 Oct 1;100(10):8451-4.
23. Tebug SF, Missohou A, Sourokou Sabi S, Juga J, Poole EJ, Tapio M, Marshall K. Using body measurements to estimate

te live weight of dairy cattle in low-input systems in Senegal. *J. Appl. Ani. Res.* 2018 Jan 1;46(1):87-93.

24. Negretti P, Bianconi G, Bartocci S, Terramoccia S, Verna M. Determination of live weight and body condition score in lactating Mediterranean buffalo by Visual Image Analysis. *Livestock Science.* 2008 Jan 1;113(1):1-7.

25. Arias, N.A., Molina, M.L. and Gualdron, O. Estimate of the weight in bovine livestock using digital image processing and neural network. In 5th Iberoamerican Meeting on Optics and 8th Latin American Meeting on Optics, Lasers, and Their Applications. International Society for Optics and Photonics. 2004 October;5622:224-228.

26. Seo KW, Kim HT, Lee DW, Yoon YC, Choi DY. Image processing algorithm for weight estimation of dairy cattle. *Journal of Biosystems Engineering.* 2011;36(1):48-57.

27. Anglart D. Automatic estimation of body weight and body condition score in dairy cows using 3D imaging technique. 2014.

28. Özkaya S. Besi sığırlarında sayısal görüntü analizi ile canlı ağırlık ve karkas performansının tahmin edilmesi ve tahmin modelleri ile karşılaştırılması (Master dissertation, Süleyman Demirel Üniversitesi). 2006. Turkey.

29. Stajanko D, Brus M, Hočevan M. Estimation of bull live weight through thermographically measured body dimensions. *Computers and Electronics in Agriculture.* 2008 May 1;61(2):233-40.

30. Kashiha MA, Bahr C, Ott S, Moons CP, Niewold TA, Tuytens F, Berckmans D. Automatic monitoring of pig locomotion using image analysis. *Livestock Science.* 2014 Jan 1;159:141-8.

# Investigation of the effect of linoleic acid on vascularization in experimentally induce zoledronic acid-related osteonecrosis in rats

Ziya Yurtal<sup>1</sup>, Gözde Serindere<sup>2</sup>, Ceren Aktuna Belgin<sup>2</sup>, Lutfi Takcı<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Surgery, Faculty of Veterinary Medicine, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay/TURKEY

<sup>2</sup>Department of Dentomaxillofacial Radiology, Faculty of Dentistry, Hatay Mustafa Kemal University, Hatay/TURKEY

<sup>3</sup>Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Sivas Cumhuriyet University, Sivas/TURKEY

## Key Words:

bisphosphonate  
conjugated linoleic acid  
osteonecrosis  
rat  
SEM

Received : 12.07.2021  
Accepted : 01.12.2021  
Published Online : 31.12.2021  
Article Code : 970180

## Correspondence:

Z YURTAL  
(ziyayurtal@gmail.com)

## ORCID

Z. YURTAL : 0000-0001-6080-1860  
G. SERİNDERE : 0000-0001-7439-3554  
C. AKTUNA BELGIN: 0000-0001-7780-3395  
L. TAKCI : 0000-0002-8865-8186

## ABSTRACT

Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw is an increasingly common pathological condition whose pathophysiology is not fully understood and can be difficult to manage. The unique biological effects of conjugated linoleic acid include angiogenic, anticarcinogenic, antiatherosclerotic, antioxidative, immunomodulatory, and antibacterial effects. The aim of this study is to compare the osteonecrosis areas created by tooth extraction with the control group using scanning electron microscopy after the administration of zoledronic acid, conjugated linoleic acid, and a combination of both in the rat jaw. A total of 50 Wistar Albino male rats weighing 400-450 grams were used. The groups were randomly divided into 5 groups: the control group, the sham group, the group that received zoledronic acid, the groups that received conjugated linoleic acid with zoledronic acid (100 mg/kg and 200 mg/kg), and the study lasted a total of 10 weeks. Regardless of the use of zoledronic acid, it was observed by scanning electron microscopy that vascularization was impaired in all groups with tooth extraction. Neovascularization did not occur in the groups where conjugated linoleic acid was applied, regardless of the dose. It was concluded that scanning electron microscopy analysis and corrosion casts technique can be considered as an alternative method in such studies due to its accessibility and low cost in observing dental vascularization. However, no definite conclusion could be reached about the neovascularization efficiency of conjugated linoleic acid within the period evaluated after tooth extraction.

## INTRODUCTION

Bisphosphonates are antiresorptive drugs (1). It has been used for over 40 years to treat different diseases with increased bone resorption, such as osteolytic bone metastases, Paget's disease, hypercalcemia, primary and secondary hyperparathyroidism, and osteoporosis (2). Numerous studies have confirmed the relationship of bisphosphonates to decrease the incidence of osteoporosis-related fractures by increasing bone mineral density (3,4).

It has been reported that the incidence of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) ranges from 1% to 10% in patients receiving intravenous bisphosphonate therapy (5,6). It has been reported that BRONJ is more prevalent in the mandible (70%) than in the maxilla (30%) (7). Trauma to the bone, which occurs especially after tooth extraction, has been reported to be a triggering factor and is found in most cases (7-10).

Due to the antiangiogenic effect of bisphosphonates, impairment in jaw bone vascularization may be observed (11,12). As another reason, it has been reported that there may be direct toxicity of bisphosphonates for epithelial cells with reduced microcirculation of the gum (13).

Conjugated linoleic acid (CLA) is a mixture of conjugated

positional and geometric isomers of linoleic acid (cis-9, cis-12 octadecadienoic acid). CLA has 18 carbon atoms. It contains two double bonds and these double bonds are listed as different isomers from different cis-trans configurations at the 9th and 10th, 11th and 12th or 11th and 13th positions in the carbon chain (14). The proteins, including oleic acid, cholesterol, and linoleic acid, vascular endothelial growth factor (VEGF), angiopoietin, angiotensin, and erythropoietin, are natural molecules required for the initial stage of angiogenesis in vascular maturation (15).

The aim of this study was to investigate the effects of CLA on vascularization in ZA-associated osteonecrosis of the rat jaw using scanning electron microscopy (SEM).

## MATERIAL and METHODS

This study was approved by the Local Ethics Committee for Animal Care of the Hatay Mustafa Kemal University (10/09/2019- decision number: 2019/ 07-2). Fifty Wistar Albino male rats weighing 400-450 grams were used in the study. The rats were housed at a room temperature of 22 ± 2 °C, 12 hours a night, 12 hours a day. Before starting the experiments, the animals were adapted to the environment for 2 weeks, food, water and ad libitum were given.

Rats were divided into 5 groups:

1st group- control group: The rats in the control group were not treated and housed under the same conditions as the other experimental groups.

2nd group- sham group: ZA and CLA were not given to the rats in the sham group. Only the right molar teeth were extracted at the 4th week and were sacrificed in the 10th week.

3rd group- ZA group: Rats in this group were intraperitoneally (16) injected ZA (Ronidro 5 mg/100 ml, and Pharmaceuticals, Turkey) at a dose of 100 µg / kg once a week for 8 weeks (17). The right molar teeth were extracted in the 4th week and were sacrificed at the 10th week.

4th group- ZA + CLA group (100 mg/kg): Rats in this group were intraperitoneally injected ZA at a dose of 100 µg/kg once a week for 8 weeks, CLA (Linoleic acid 99%, CAS RN: 60-33-3, Acros Organics, Sweden) was administered by oral gavage at a dose of 100 mg/kg every day (18). Extraction of the right molar teeth was performed at the 4th week and sacrificed at the 10th week.

5th group- ZA + CLA group (200 mg/kg): Rats in this group were intraperitoneally injected ZA at a dose of 100 µg/kg once a week for 8 weeks, while CLA was administered daily at a dose of 200 mg/kg via oral gavage. The right molar teeth were extracted at the 4th week and were sacrificed at the 10th week.

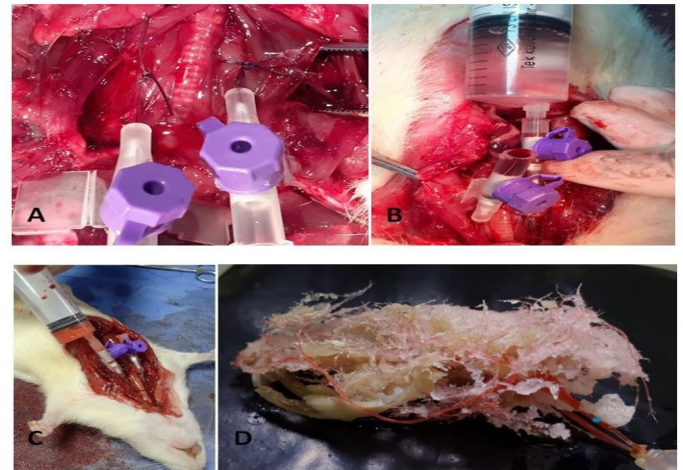
Experimental animals in tooth extraction applications, xylazine HCl (10 mg / kg) (Alfazine 2%, Egevet, Turkey), ketamine HCl (50 mg / kg) (Alfamine, 10% Egevet, Turkey) were performed with combinations. Extraction was performed on the right mandibular molar teeth by using a molar luxation and a molar extractor.

In this study, the corrosion casts technique was used to evaluate the vascularization of the mandible in sacrificed rats. Phosphate Buffer Salin (PBS) solution was given to clean the blood through a 26 Gauge purple catheter placed in the right common carotid artery and left common carotid artery of the rats dissected using appropriate methods (Figure 1A). After formaldehyde solution was given for fixation of the vessels (Figure 1B), a mixture of methylmethacrylate prepared in a certain amount was manually injected into the vein under constant pressure (120 mmHg) and at an appropriate perfusion rate (Figure 1C). After the methylmethacrylate injection, the mandibles were kept in hot water at 45-55 ° C for 16-24 hours to completely polymerize. After polymerization, it was kept in a 50 ° C stove for 2-3 days in repeated potassium hydroxide (KOH) solutions to dissolve the tissue around the vessels.

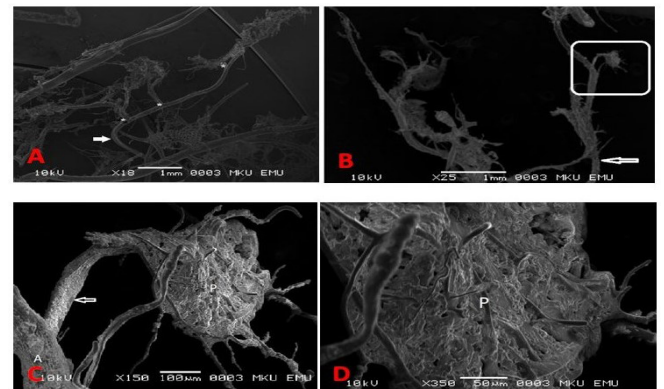
## RESULTS

During the study, no complications occurred during the administration of oral gavage and intraperitoneal injection. It was noted that in the rats in groups 2, 3, 4 and 5, where tooth extraction was applied, bleeding occurred during tooth extraction, especially during the extraction of caudal molar teeth. This showed that bleeding control during tooth extraction is important. Following tooth extraction, a total of 3 rats, 1 rat in group 2 and 2 rats in group 4 died from

anesthesia. When the casts obtained from the control group were examined by SEM, it was observed that the inferior alveolar artery followed a suitable course for the curvature of the corpus mandible after entering the foramen mandible. During the course, branches separated from this vein for each tooth were detected (Figure 2A). This main branch gave lateral branches to the surrounding tissues before entering the pulp from the tooth root (Figure 2B). The vein caused a ball-like reticulation for vascularization of the dental pulp after entering the tooth root (Figure 2C-D).



**Figure 1.** A. Inserting and fixing catheters to the a. carotis communis. B. Fixation of the vessel with formaldehyde solution. C. Administration of methylmethacrylate prepared by manual pressure to a. carotis communis. D. Image of a rat head in the corrosion casts stage. Blue asterisk: a. carotis communis



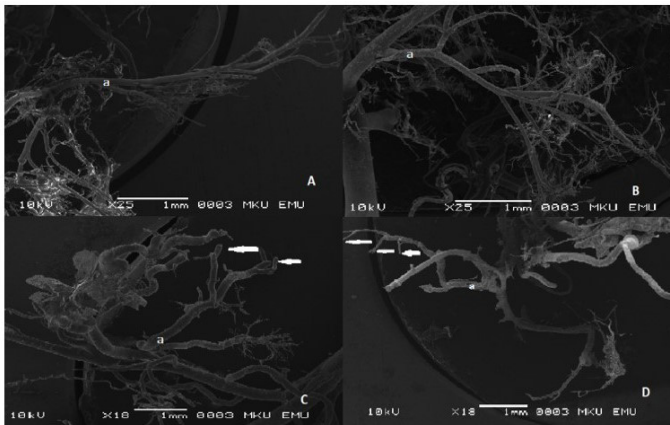
**Figure 2.** A. Control group, the course of the a. alveolaris inferior after it enters the foramen mandible. Arrow: a. alveolaris inferior. Asterixes: Branches given by a. alveolaris inferior to the tooth roots and surrounding tissues. B. Control group, Arrow: A. alveolaris inferior, Rectangular box: branch of a. alveolaris inferior to the root of the tooth. C. Control group, ball-like vein reticulation in the pulp, A. alveolaris inferior (White A), ball-like reticulation in the pulp (P). Arrow: Branch from the a. alveolaris inferior to the tooth root. D. Control group, high magnification view of ball-like reticulation in the pulp. P: Ball-like reticulation.

Pulpal vascularization was not observed in the SEM images obtained in the other four groups except the control group, as the vascularization of the pulp was impaired due to tooth extraction. Branches given by the inferior alveolar artery to the

surrounding tissues were determined. The branches that gave to the roots of the teeth ended blindly (Figure 3A).

Ball-like reticulation on the pulp was not seen in the groups that had a tooth extraction. Similar results in the sham group and the other groups in which medication was applied (Figure 3B), showed that tooth extraction impaired vascularization. Vascularization was impaired in all groups that underwent tooth extraction independent of ZA use.

There was no difference in vascularization between the ZA group (3rd group) (Figure 3B-C-D) and the other groups (4th and 5th groups) where different doses of CLA were applied with ZA (Figure 3C-D).



**Figure 3.** A. A. alveolaris inferior (a) image obtained from Group 2 and whose branches end up blindly to the tooth roots. B. A. alveolaris inferior (a) image obtained from Group 3 and whose branches end in the tooth roots blindly. C. A. alveolaris inferior and blind terminated vessel terminations (arrows) in Group 5. D. A. alveolaris inferior and blind terminated vessel terminations (arrows) in Group 4.

## DISCUSSION

ZA is the bisphosphonate with the highest potential for osteonecrosis (10,000 times higher than etidronate) in the group of amino-bisphosphonates (19). Therefore, it is one of the most commonly used bisphosphonates in animal experimental models, which is more frequently associated with the development of osteonecrosis (20).

The main theories of bisphosphonate-related osteonecrosis are on the suppression of bone remodeling, leading to reduced bone repair in trauma cases such as tooth extraction, mediated by osteoclast damage. It has been reported that one of the possible factors in the pathogenesis of bisphosphonate-related osteonecrosis is vascularization disorders resulting from the antiangiogenic effects of bisphosphonates (11,12,17). In our study, it is in agreement with the results of other studies in the literature (17,20). Vascularization was impaired in the bisphosphonate applied groups in rats.

Based on the study of Kün-Darbois et al. (17), high doses of ZA were used in this study (100 µg / kg per week for 8 weeks). This dose is equivalent to that used in the clinical treatment of myeloma in humans. (12). It is known that high dose use and long-term treatment significantly increase the

chance of developing bisphosphonate-related osteonecrosis lesions (21). Based on the study of Camacho-Alonso et al. (16), the intraperitoneal injection method was used in the present study (16). However, Camacho-Alonso et al. (16) investigated the bone mineral composition upon fracture resistance based on energy-dispersive X-ray spectrometry. In the present study, SEM and corrosion casts technique was used to observe the effect of CLA on vascularization.

In BRONJ, the mandible is affected twice as often as the maxilla and is caused by dental surgical procedures in 60% of cases (7,22). Therefore, in our study, tooth extraction in the mandible was preferred as a procedure that would lead to the development of bisphosphonates.

Imaging methods such as Magnetic Resonance Imaging (MRI) and Micro-Computed Tomography (Micro-CT) have been used to reveal the changes in the vascularization of the mandible caused by the use of bisphosphonates (17). The corrosion casts technique is also used in many organs and tissues, which is based on creating a copy and analyzing it with SEM to reveal vascularization in three dimensions (23).

In a study conducted in guinea pigs, vascularization of the mandible was demonstrated by SEM using the corrosion caste technique (24). In addition, there are some studies in dentistry where SEM and corrosion cast techniques are used to analyze the vascularization of the enamel organ developing in the molar teeth of rats, the vascularization of the periodontal ligament and tongue dorsum in rats, and the vascularization of the submandibular, sublingual and lymph nodes in rats (25,26). In this study, SEM and corrosion cast techniques were preferred because of their ease of accessibility and low cost compared to other imaging methods.

In SEM analysis, vascularization was impaired in all groups with tooth extraction independent of ZA using, and this showed that osteonecrosis may occur in the extraction of healthy teeth with continued vascularization, independent of the use of ZA. The fact that bisphosphonate-associated osteonecrosis occurs only in the jaws and protects the long bones and an axial skeleton is an important unanswered question. The teeth, oral mucosa, periodontal tissues, muscles, tongue, salivary glands, and alveolar bone that make up the orofacial complex must interact to perform functions such as chewing, speaking, and swallowing (27). The maxilla and mandible are separated by a mucosa from the external environment (28) where bacterial infections such as caries and periodontal disease are common (29). Altered bone remodeling, inhibition of angiogenesis, microtrauma, and bacterial infection have been hypothesized as the cause of vascularization disorder (10). Therefore, in our study, these theories were evaluated as possible causes of vascularization disorder in all tooth extraction groups, regardless of ZA use.

Samson et al. (15) reported that proteins such as oleic acid, cholesterol and linoleic acid, VEGF, angiopoietin, angiotensin, and erythropoietin are natural molecules that constitute the initial stage of angiogenesis in vascular maturation. In another study conducted by Samson et al. (30) in chick embryo, it was reported that new vessel formation accelerated where specific lipids were increased, including chorioallantoic membrane

analysis of the chick embryo, oleic acid, cholesterol, linoleic acid, and doxahexaenoic acid-lysophosphatidylcholine.

Omega-6 fatty acid metabolites support angiogenesis by increasing growth factor expression (31). Based on this, in our study, we aimed to evaluate the effectiveness of CLA in order to provide neovascularization in necrosis areas caused by bisphosphonate. However, neovascularization did not occur in the groups where CLA was applied, regardless of the dose.

We think that the absence of neovascularization may be due to some reasons. One of them is that although many studies were analyzed in the literature regarding the time required for neovascularization, the 10-week period may not be sufficient for neovascularization. In the study of Wang et al. (32), osteochondral vascularity in mandibular rat condyles was evaluated histologically at the end of the 20th and 24th weeks according to the age of the rats. However, in the study of Widyastuti et al. (33), it was reported that fibroblast growth factor (FGF-2) and VEGF increased and angiogenesis started on the 7th day following tooth extraction. Luthfi et al. (34) reported that capillary vascularization occurred in the first week. Rowe et al. (35) reported that mandibular distraction osteogenesis was associated with intense vascular response in the early stages. Another point is that the amount of CLA doses may not be sufficient to see its effectiveness. Since there is no literature information about this subject, we believe that using different dose rates in future studies will guide the authors in evaluating the efficiency of CLA.

To the best of our knowledge, this study is the first study in the literature evaluating the efficacy of CLA in eliminating BRONJ. Therefore, we think that the result of this study will be a guide for future studies, while the absence of previous studies about this subject, can be shown as a limitation of this study. In the corrosion casts technique, the inability to control the steps in the preparation stages of the samples, the high risk of artifact formation and the sensitivity to user errors can be considered as the disadvantages of the technique. The main advantages of this technique compared to other imaging methods are that it requires less cost, can show a lot of detail and is easy to access. There are few studies in the literature evaluating dental pathological vascularization. It has been observed that this method can also be an alternative method for imaging pathological vascularization.

## CONCLUSION

Neovascularization did not occur in the groups where CLA was applied, regardless of the dose. Using ZA and CLA for a longer time, giving different doses, using different imaging methods, conducting molecular studies with imaging methods, may be useful for future studies.

## DECLARATIONS

### Ethics Approval

This study was approved by the Local Ethics Committee for Animal Care of the Hatay Mustafa Kemal University (10/09/2019- decision number: 2019/ 07-2).

### Conflict of Interest

The authors declare that they have no competing interests.

## Author Contribution

Idea, concept and design: ZY, GS, CAB, LT

Data collection and analysis: ZY, LT

Drafting of the manuscript: ZY, GS

Critical review: ZY, GS, CAB, LT

## Data Availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## Acknowledgement

The authors would like to thank undergraduate students Yusuf Bal and Özlem Güzey for their support during the feeding of the rats. This study was supported by Hatay Mustafa Kemal University Scientific Research Projects (BAP) (Project No: 19.M.058).

## REFERENCES

1. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest.* 1996;97:2692-6.
2. Lewiecki EM. Safety of long-term bisphosphonate therapy for the management of osteoporosis. *Drugs.* 2011;71:791-814.
3. Harrington JT, Ste-Marie LG, Brandi ML, Civitelli R, Fardellone P, Grauer A, et al. Risedronate rapidly reduces the risk for nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int.* 2004;74:129-35.
4. Pols HA, Felsenberg D, Hanley DA, Stepán J, Muñoz-Torres M, Wilkin TJ, et al. Multinational, placebo-controlled, randomized trial of the effects of alendronate on bone density and fracture risk in postmenopausal women with low bone mass: results of the FOSIT study. Fosamax International Trial Study Group. *Osteoporos Int.* 1999;9(5):461-8.
5. Vahtsevanos K, Kyrgidis A, Verrou E, Katodritou E, Triaridis S, Andreadis CG, et al. Longitudinal cohort study of risk factors in cancer patients of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *J Clin Oncol.* 2009;27(32):5356-62.
6. Walter C, Al-Nawas B, Frickhofen N, GammH, Beck J, Reinsch L, et al. Prevalence of bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaws in multiple myeloma patients. *Head Face Med.* 2010;6:11.
7. Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. Narrative [corrected] review: bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Ann Intern Med.* 2006;144:753-61.
8. Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, Landesberg R, Marx RE, Mehrotra B; Task Force on Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaws, American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw - 2009 update. *Aust Endod J.* 2009;35(3):119-30.
9. Marx RE, Cillo JE Jr, Ulloa JJ. Oral bisphosphonate-induced osteonecrosis: risk factors, prediction of risk using serum CTX testing, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65:2397-410.

10. Marx RE, Sawatari Y, Fortin M, Broumand V. Bisphosphonate-induced exposed bone (osteonecrosis/osteopetrosis) of the jaws: risk factors, recognition, prevention, and treatment. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63:1567–75.
11. Petcu EB, Ivanovski S, Wright RG, Slevin M, Miroiu RI, Brinzaniuc K. Bisphosphonate-related osteonecrosis of jaw (BRONJ): an anti-angiogenic side-effect? *Diagn Pathol.* 2012;7:78.
12. Sharma D, Ivanovski S, Slevin M, Hamlet S, Pop TS, Brinzaniuc K, et al. Bisphosphonate related osteonecrosis of jaw (BRONJ): diagnostic criteria and possible pathogenic mechanisms of an unexpected antiangiogenic side effect. *Vasc Cell.* 2013;5(1):1.
13. Rasmusson L, Abtahi J. Bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw: an update on pathophysiology, risk factors, and treatment. *Int J Dent.* 2014;471035.
14. Ercoşkun H, Uğuz Ş, Kıralan M. Conjugated linoleic acid. *Gıda Mühendisliği Dergisi* 2005;(19):42-6.
15. Samson FP, Patrick AT, Fabunmi TE, Yahaya MF, Madu J, He W, et al. Oleic Acid, Cholesterol, and Linoleic Acid as Angiogenesis Initiators. *ACS Omega.* 2020;5:20575– 85.
16. Camacho-Alonso F, López-Jornet P, Vicente-Hernández A. Short-term effect of zoledronic acid upon fracture resistance of the mandibular condyle and femoral head in an animal model. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18:421-6.
17. Kün-Darbois J-D, Libouban H, Mabilieu G, Pascaretti-Grizon F, Chappard D. Bone Mineralization and Vascularization in Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw: An Experimental Study in the Rat. *Clin Oral Investig.* 2018;22(9):2997-3006.
18. Geddes RI, Hayashi K, Bongers Q, Wehber M, Anderson IM, Jansen AD, et al. Conjugated Linoleic Acid Administration Induces Amnesia in Male Sprague Dawley Rats and Exacerbates Recovery from Functional Deficits Induced by a Controlled Cortical Impact Injury. *PLoS One.* 2017;12(1):e0169494.
19. Dodson TB. Intravenous bisphosphonate therapy and bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009;67(5):44–52.
20. Barba-Recreo P, Del Castillo Pardo de Vera JL, García-Arranz M, Yébenes L, Burgueño M. Zoledronic acid - related osteonecrosis of the jaws. Experimental model with dental extractions in rats. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014;42(6):744-50.
21. Hoff AO, Toth BB, Altundag K, Johnson MM, Warneke CL, Hu M, et al. Frequency and risk factors associated with osteonecrosis of the jaw in cancer patients treated with intravenous bisphosphonates. *J Bone Miner Res.* 2008;23(6):826-36.
22. Ficarra G, Beninati F. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws: the point of view of the oral pathologist. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2007;4:53-7.
23. Lametschwandtner A, Lametschwandtner U, Weiger T. Scanning electron microscopy of vascular corrosion casts--technique and applications: updated review. *Scanning Microsc.* 1990;4(4):889-940; discussion 941.
24. Aharinejad S, Franz P, Firbas W, Fakhari M. Mandibular and molar vascularization in guinea pigs. Scanning electron microscopic study of corrosion casts. *Anat Rec.* 1990;228(4):471-7.
25. Yoshida S, Ohshima H, Kobayashi S. Vascularization of the enamel organ in developing molar teeth of rats – scanning electron microscope study of corrosion casts. *Okajimas Folia Anat Jpn.* 1989;66:99–112.
26. Tsukada H, Ishikawa H, Nakamura S, Yoshida S. Developmental changes of the vasculature in the periodontal ligament of rat molars: a scanning electron microscopic study of microcorrosion casts. *J Periodontal Res.* 2000;35:201–7.
27. Aghaloo TL, Kang B, Sung EC, Shoff M, Ronconi M, Gotcher JE, et al. Periodontal disease and bisphosphonates induce osteonecrosis of the jaws in the rat. *J Bone Miner Res.* 2011;26:1871–82.
28. Chung WO, Dommisch H, Yin L, Dale BA. Expression of defensins in gingiva and their role in periodontal health and disease. *Curr Pharm Des.* 2007;13:3073–83.
29. Slade GD, Beck JD. Plausibility of periodontal disease estimates from NHANES III. *J Public Health Dent.* 1999;59:67–72.
30. Samson FP, Fabunmi TE, Patrick AT, Jee D, Gutsaeva DR, Jahng WJ. Fatty Acid Composition and Stoichiometry Determine the Angiogenesis Microenvironment. *ACS Omega* 2021. <https://dx.doi.org/10.1021/acsomega.1c00196>
31. Kang JX, Liu A. The role of the tissue omega-6/omega-3 fatty acid ratio in regulating tumor angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev.* 2013;32:201–10.
32. Wang QY, Dai J, Kuang B, Zhang J, Yu SB, Duan YZ, Wang MQ. Osteochondral angiogenesis in rat mandibular condyles with osteoarthritis-like changes. *Arch Oral Biol.* 2012;57(6):620-9.
33. Widyastuti, Rubianto M, Soetjipto. Induction of Angiogenesis Process in Mandible Using Anadara granosa Shell Graft (Experimental Laboratory Study on Rattus norvegicus). In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing 2018;217:012033.
34. Luthfi M, Juliastuti WS, Risky YA, Wijayanti EH, Rachmawati AE, Asyhari NPO. Expression of fibroblast cells after extraction of wistar rat teeth after topical application of okra fruit (*Abelmoschus esculentus*) gel. *Infect Dis Rep.* 2020;12(1):8726.
35. Rowe NM, Mehara BJ, Luchs JS, Dudziak ME, Steinbrech DS, Illei PB, et al. Angiogenesis during mandibular distraction osteogenesis. *Ann Plast Surg.* 1999;42:470–5.

# Kedilerde feline coronavirus (FCoV) enfeksiyonunun kalsiyum metabolizması üzerindeki etkisinin araştırılması

Hasan Barış Cengiz<sup>1</sup>, Halil İbrahim Gökce<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yaşam Veteriner Kliniği, Antalya, TÜRKİYE

<sup>2</sup>İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur, TÜRKİYE

## Anahtar Kelimeler:

biyokimya  
feline infeksiyöz peritonitis (FIP)  
kedi

## Key Words:

biochemistry  
cat  
feline infectious peritonitis (FIP).

Geliş Tarihi : 13.07.2021  
Kabul Tarihi : 23.11.2021  
Yayın Tarihi : 31.12.2021  
Makale Kodu : 970374

## Sorumlu Yazar:

Hİ GÖKCE  
(higokce@mehmetakif.edu.tr)

## ORCID

HB. CENGİZ: 0000-0003-2128-6688  
Hİ. GÖKCE : 0000-0002-4458-0671

Bu araştırma MAKÜ Bilimsel Araştırma projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0540-YL-18 proje numarası ile desteklenmiştir.

## ÖZ

Çalışmada feline coronavirus (FCoV) ile enfekte kedilerde enfeksiyonun kan kalsiyum seviyesi ve Ca metabolizmasını düzenleyen parametreler üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada FIP pozitif, feline immunodeficiency virüs (FIV) ve feline leucoma virüs (FeLV) negatif kuru (n=10) ve yaş form (n=10) kriterlerini taşıyan 20 adet FİP'li kedi kullanılmıştır. Ayrıca 10 adet FİP, FIV, FeLV negatif sağlıklı kedi çalışmaya kontrol grubu olarak dahil edilmiştir. Tüm kedilerin serum örnekleri toplanarak bu örneklerde kedi spesifik ELISA test kitleri kullanılarak paratiroid hormon (PTH), paratiroid hormon benzeri protein (PTHrP), kalsitonin ve vitamin D3 (Vit D3) düzeyleri belirlendi. Ayrıca tüm serum örneklerinde otomatik biyokimya cihazı kullanılarak kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve Fosfor (P) ölçümleri yapıldı. Yapılan analizler sonucunda FİP'li kedilerin PTH (p<0,01), PTHrP (p<0,001) ve P (p<0,01) düzeyleri kontrol grubu kedilerin değerlerine göre önemli düzeyde yüksek olduğu belirlendi. Bununla birlikte FİP'li kedilerin kalsitonin ve vitamin D3, Ca seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte iki grup arasında istatistiksel olarak herhangi bir farkın olmadığı anlaşıldı.

## Investigation of the effects of feline coronavirus (FCoV) infection on calcium metabolism in cats

## ABSTRACT

The aims of the study were to determine the effects of feline coronavirus (FCoV) infection on blood Ca levels and Ca metabolism regulatory parameters in cats. In the study, twenty cats with clinical symptoms of feline infectious peritonitis (FIP) and positive to FCoV were used. They were negative to feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leucoma virus (FeLV). These cats were divided into two groups equally as dry (n=10) and wet form (n=10) of FIP. Ten cats clinically healthy and negative for all test were also used as control group. Serum samples were collected from all the cats and they were used to analyse parathyroid hormone (PTH), parathyroid hormone-related protein (PTHrP), calcitonin and vitamin D3 (Vit D3), using feline specific ELISA test kits. Furthermore, Calcium (Ca), magnesium, (Mg) and phosphorus (P) levels were also measured in these serum samples. In the study, PTH (p<0,01), PTHrP (p<0,001) and P (p<0,01) levels were significantly higher in cats with FIP than those of control group. Additionally, calcitonin, vitamin D3 and Ca levels were found to be high in cats with FIP compared to those of control cats, but there were no statistically significance between these groups.

## GİRİŞ

Coronavirus, hayvanlarda ve insanlarda hafiften şiddetli hastalık tablosuna kadar değişen çok sayıda solunum, gastro-intestinal ve çeşitli sistemik enfeksiyonlara neden olmaktadır (1-8). Virüsün mutasyon yeteneği oldukça yüksek olup zaman zaman mutasyona uğrayarak son derece bulaşıcı ve öldürücü enfeksiyonlara neden olur (9). Hayvanlar taşıyıcı olabilmekte ve hem diğer hayvanlara hem de mutasyona uğrayan Coronavirusleri MERS (Middle East Respiratory Syndrome), SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome) ve coronavirus disease-19 (Covid-19)'da olduğu gibi insanlara bulaştırabilmektedir (1,5,9). 2003 yılında uzak doğuda ortaya çıkan önemli bir zoonoz olan SARS (10) ve 2012 yılında Suudi Arabistan'da ortaya çıkan MERS (11) enfeksiyonları çok sayıda insanı etkilemiştir. Daha sonra 2019 yılı aralık ayında Çin'in Wuhan kentinde görülen ciddi akut solunum sendromu coronavirus-2 (Covid-19) ise milyonlarca insanı etkilemiş ve ölümüne yol açmıştır (12,9).

Günümüzde Coronavirüslerin mutasyonu sonucu oluşan Covid-19'un pangolin veya yarasalarca insanlara bulaştırıldığından şüphe edilmekte olup hala tüm dünyada pandemi şeklinde devam etmektedir.

Coronavirüsler kedilerde ise solunum ve sindirim sistemini etkileyen hastalıklara neden olmaktadır. Kedilerde feline enteric coronavirus (FECoV) genellikle hafif gastroenteritise neden olurken, FECoV'un mutasyonu sonucu oluştuğu düşünülen feline infeksiyöz peritonitis virüsü (FİPV) ise oldukça bulaşıcı ve tedavisi olmayan feline infeksiyöz peritonitis'e (FİP) neden olmaktadır (1,8,13,14). FİPV tarafından oluşturulan FİP enfeksiyonları immun sistemi zayıf çok yaşlı veya genç kedilerde daha sık enfeksiyona neden olmakta olup bu hayvanlarda yaş veya kuru form şeklinde bir hastalık tablosu gelişmektedir. Kedilerde yaş formda karın veya göğüs boşluğunda sıvı birikimi ile karakterize pleuritis ve peritonitise neden olmaktadır. Kuru formda ise kedilerde çok sayıda organda granülatöz



veya piyogranülatöz oluşumlar görülmektedir (1,8,14,15).

Kalsiyum (Ca) plazmada proteine bağlı, iyonize (serbest) ve organik asitlere bağlı olarak bulunur. Kalsiyumun yaklaşık %99'u kemiklerde bulunur ve ihtiyaç halinde plazmaya serbest bırakılır. Kalsiyumun kanda denge halinde tutulması bağırsaklar, böbrekler ve kemikler tarafından sağlanır ve bu dengeyi paratiroid hormonu (PTH), 1,25 dihidroksivitamin D3 (Vitamin D3) ve kalsitonin hormonları düzenler (16). Hayvanlarda kan Ca seviyeleri birçok faktörden etkilenmekte olup hastalık durumlarında kanda artış veya azalışlar olur. Kedilerde hiperkalsemi nadir olarak görülmesine rağmen klinik açıdan önemli bir elektrolit bozukluğudur (17,18,19). Hayvanlarda hiperkalsemi normalde primer hiperparatiroidizm (PHPT) veya malignitenin neden olduğu yaygın bir hastalıktır. Vitamin D intoksikasyonlarında, sistemik mikoz gibi granülatöz hastalıklarda, akut veya kronik böbrek yetmezliğinde, osteomyelitte, hiperalbuminemide, hipoadrenokortikozimde ve tümörle ilişkili durumlarda şekillenmektedir (17,20). Savary ve ark.'nın kedilerde 2000 yılında yaptıkları retrospektif bir çalışmada, hiperkalseminin en önemli nedenleri arasında ürolitiazis, renal ve tümöral hastalıkların olduğu belirlenmiştir (18). Hiperkalsemi kedilerde birçok hastalık durumunda ortaya çıkmakla birlikte özellikle tümörlü kedilerin 1/3'ünde tespit edilmiş ve diagnostik öneminin olabileceği vurgulanmıştır (17). Hipokalseminin temel nedenleri arasında ise PTH eksikliği (kalıtsal veya edinilmiş hipoparatiroidizm), D vitamini eksikliği (Diyet yetersizliği veya malabsorpsiyon, yetersiz güneş ışığı ve yetersiz metabolizma, karaciğer ve böbrek hastalığı), artmış kalsiyum kompleksi (akut pankreatit, tümör lizis sendromu) yer almaktadır (16,21).

Paratiroid hormon(PTH), kan kalsiyum(Ca) ve fosfat( $PO_4^{-3}$ ) düzeyini kontrol altında tutan bir hormon olup paratiroid bezinden salgılanır. Bu hormonun genel eylemi, plazma kalsiyum düzeylerini arttırmak ve fosfat düzeylerini düşürmektir. Kanda Ca düzeyi düştüğünde paratiroid bezi tarafından salgılanır, kemiklerden kana Ca verilmesini, D3 vitamini aracılığı ile bağırsaklarda Ca emilimini artırır ve böbreklerden Ca geri emilimini uyarır. PTH böbreklerde 1,25 dihidroksi D vitamini üretimini artırırken böbreklerden fosfat'ın geri emilimini azaltır (22). Kronik Mg eksikliği PTH salgılanmasını baskılar. Düşük kalsitriol seviyesi PTH sentezini engeller. Yapılan bir çalışmada kan kalsiyum seviyesi yüksek olan sarkoidozlu bazı hastalarda parathyroid hormone-related peptide (PTHrP) tespit edilmiş olup bu protein kan PTH seviyesinden bağımsız olarak ve PTH gibi uyarım sağlayarak kan Ca seviyesini yükselttiği ileri sürülmüştür (23).

PTHrP'nin ekspresyonu, ilgili dokudan bağımsız olarak infeksiyöz granülatöz immün yanıtın bir parçası olduğu varsayılmaktadır. Granülatöz enfeksiyonlarda yüksek miktarda PTHrP üretiminin hiperkalsemiye neden olduğu ifade edilmektedir (23,24). PTHrP, hemen hemen tüm dokular tarafından düşük konsantrasyonlarda üretilmekte olup bunun fizyolojik rolü tam olarak anlaşılamamıştır. PTHrP üretimi en sık meme, akciğer (skuamoz), baş ve boyun (skuamoz), böbrek, mesane, serviks, rahim ve yumurtalık karsinomlarında görülmektedir. Tümör dokularında ektopik 1-alfa hidroksilaz aktivitesi PTH hareketini taklit eden humoral faktörlerin salgılanma-

sı, genellikle paratiroid hormonu ile ilişkili peptid'in (PTHrP) primer tümör tarafından salgılanmasıyla ilişkilendirilmektedir (23,24). PTHrP kanser durumunda kan Ca seviyesini yükselterek hiperkalsemiye neden olmaktadır (25).

D vitamini bağırsaklardan Ca emilimini, böbreklerden Ca geri emilimini ve PTH'nin kemiklerden Ca mobilizasyonunu artırması ile birlikte kan Ca seviyesinin dengede tutulmasına katkıda bulunur (26,27). Yapılan çalışmalarda D vitamini 1,25-dihidroksivitamin D'nin (1,25 (OH) 2D) aktif metabolitinin aşırı üretilmesi sarkoidoz ve diğer granülatöz hastalıklarda tanımlanmıştır. 1,25 (OH) 2D'nin dolaşımdaki yüksek konsantrasyonları muhtemelen artmış kemik rezorpsiyonuna bağlı artmış bağırsak emilimine neden olarak ve hiperkalsemi ve/veya hiperkalsiüriye neden olmaktadır. 1,25 (OH) 2D'nin bu anormal üretimi, sarkoidozda olağanüstü olmayan, ancak tüberkülozda nadiren görülen granülatöz süreçlerin genel bir fenomeni gibi gözükmektedir. Bununla birlikte, bu anormallikler granülatöz süreçlerde patognomonik olarak kabul edilmemektedir, çünkü lenfoma gibi diğer hastalıklarda da tarif edilmiştir (26,27). Langerhans hücreli granülatöz hiperkalsemi ile ilişkili olarak 1,25-dihidroksi vitamin D artışı görülmüştür (28).

Kalsitonin hormonu kanda Ca seviyesi yükseldiğinde tiroid bezinden salgılanır. Temel fonksiyonu ise kemiklere Ca ve fosfatın bağlanmasını artırarak kan Ca seviyesini düşürmek ve ayrıca kemiklerin yıkımını engelleyerek kana Ca ve fosfatın salınımını azaltmaktır. Gastrointestinal sistemde Ca emilimi ile ilgili etkisi yoktur. Böbreklerde Ca ve fosfatın tubuler geri emilimini azaltarak klirensi artırıcı etki gösterir (29).

Yapılan bu çalışmada, FİP'li kedilerde granülatöz lezyonların Ca metabolizması üzerine etkileri araştırılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Hayvanlar

Yapılan çalışmada, kedi sahipleri tarafından solunum problemi, nörolojik belirtiler, ishal, kilo kaybı, halsizlik, göğüs ve karın boşluğunda efüzyon oluşumu gibi şikâyetlerle Antalya'da yer alan Yaşam Veteriner Kliniği'ne getirilen kediler kullanılmıştır. Kediler kliniğe getirildiğinde rutin klinik muayeneleri yapılmış, kalp frekansı, solunum sayısı, rektal ısı, solunum tipi, akciğer oskültasyon bulguları, sinirsel bulgular ve karın veya göğüs boşluğunda sıvı birikimi varlığı kayıt altına alınmıştır. Peritoneal sıvının karakteri rivalta deneyi uygulanarak belirlenmiştir.

Bu kedilere FCoV antijen ve atikor testleri (Bionote, Kore), feline leukemia virus (FeLV) ve feline immunodeficiency virus (FIV) antikor testleri (Bionote, Kore) önerilen prosedürlerine uygun olarak uygulandı. Çalışmada sadece belirtilen klinik belirtileri gösteren ve FCoV antijen veya antikor pozitif, farklı ırk, yaş ve cinsiyette 20 kedi kullanılmıştır. Bunlara ek olarak uygulanan tüm testlerde negatif olan ve klinik olarak sağlıklı 10 kedi kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmada ayrıca ölen kedilere nekropsi uygulanarak makroskopik bulguları belirlenmiştir. Nekropsi sonucunda karın veya göğüs boşluğunda proteinden zengin altın sarısı sıvı

bulunan ve Rivalta testi pozitif kediler yaş form FİP'li (n=5) ve nörolojik belirti gösteren, FCoV testi sonucu pozitif olan ve makroskobik pyogranülatöz oluşumlar görülenlerin ise (n=10) ise kuru form FİP'li olduğu kabul edilmiştir. Bunlara ek olarak yaşamaya devam eden (n=5), solunum güçlüğü, göğüs veya karın boşluğunda sıvı birikimi olan ve rivalta testi pozitif olan kediler de yaş form FİP olarak kabul edilmiş ve çalışmaya dahil edilmiştir. Kuru form ile yaş form arasında analiz edilen parametrelerde olası farklılıkları ortaya çıkarabilmek için KF (n=10) ve YF (n=10) FİP'li kedilerden iki grup oluşturulmuştur.

#### *Laboratuvar Analizleri*

#### *Biyokimyasal Analizler*

Tüm kedilerden antikoagülsüz kan örnekleri 4°C'de 5000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi ve elde edilen serum örnekleri çiftli örnekler halinde kullanılmaya kadar -80 °C'de bekletildi. Daha sonra toplanan serum örneklerinde bulunan PTH (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, ÇİN), PTHrP (SunRed, Shanghai, ÇİN), kalsitonin (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, ÇİN) ve Vit D3 (Bioassay Technology Laboratory, Shanghai, ÇİN) düzeyleri kedi spesifik ELISA test kitleri kullanılarak üretici firmanın önerdiği prosedürlere uygun olarak belirlendi.

Örneklerin optikal dansiteleri (OD) ELISA okuyucusunda (MR-96A, Minray, ÇİN) 450 nm dalga boyunda okundu. Standart solüsyonlar 2 kat sulandırılarak olacak şekilde 1/128 katsayısına kadar sulandırıldı ve elde edilen OD değerleri ile Excel programında standart curve grafiği çizildi. Bu grafikte curve fit doğrusu çizilip y eksenini için formül oluşturuldu. Her bir parametre için ayrı ayrı elde edilen bu formüllerle test edilen serumlardaki PTH, PTHrP, kalsitonin ve Vit D3 değerlerinin hesaplanmasında kullanıldı. Ayrıca toplanan serum örneklerinde kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve fosfor (P) ölçümleri otomatik biyokimya cihazı ile ölçüldü (Abbott Architect Ci8200 Biyokimya cihazı, ABD).

#### *İstatistiksel Analizler*

Çalışmada FİP'li kedilere ait veriler ile sağlıklı kedilere ait veriler arasındaki istatistiksel farklılıklar bağımsız t testi ile analiz edildi. Ayrıca yaş form FİP'li kedilerin parametreleri ile kuru form FİP'li ve kontrol grubundaki kedilerin parametreleri arasındaki farklılıklar One Way Anova (posthoc Duncan) ile analiz edildi. Yapılan analizlerde p<0,05 olması, karşılaştırılan gruplar arasında istatistik olarak önemli farklılıkların bulunduğunu göstermektedir. Çalışmada analizler için SPSS 21.0 for Windows® paket programı kullanıldı.

Bu çalışmada FİP'li kedilerdeki artış veya azalıştaki sayısal değişimleri saptamak için, enfekte kedilerin her verisi için ortalama değerine, kontrol grubundaki kedilerin ilgili analizlerinden elde edilen ortalamaların 2 standart sapması eklenerek FİP'li kediler için kesim noktası (cut-off) belirlendi. Belirlenen kesim noktaları altında veya üzerinde olan kedilerin verileri incelenen o veri için düşük veya yüksek olarak kabul edildi (30-31).

## **BULGULAR**

### *Biyokimyasal bulgular*

Yapılan çalışmada FİP'li kedilerin PTH (p<0,01), PTHrP (p<0,001) ve P (p<0,001) seviyeleri sağlıklı hayvanların verilerine göre önemli düzeyde yükselmiş olduğu belirlendi. Kesim noktaları dikkate alındığında FİP'li kedilerin %25'inde PTHrP düzeylerinde artışlar belirlenmiştir. PTH, kalsitonin ve D3 vitaminiindeki artışları ise sadece birer kedide belirlenmiştir. Bununla birlikte FİP'li kedilerin kalsitonin ve vitamin D3, Ca seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte iki grup arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark belirlenmemiştir (Tablo 1.). Yaş ve kuru formda yer alan FİP'li kedilerden elde edilen verilerde ise bu iki grup arasında herhangi bir istatistiksel fark belirlenmemiştir (Tablo 2.).

## **TARTIŞMA**

Bu Feline İnfeksiyöz Peritonitis, kedilerde her yaşta görülen ve koronavirüslerin oluşturduğu bir enfeksiyon olup genellikle genç veya yaşlı ve immün sistemi baskılanmış kedilerde daha yaygın görülmektedir (1,8). Aslında virüs, sağlıklı ve enfekte iyileşmiş kedilerin büyük bir bölümünde mevcut olup, bu kediler koronavirüs için enfeksiyon kaynağı olma rolü üstlenmektedir (1,8). Koronavirüslerin mutasyona uğraması ile hafif, kendiliğinden iyileşen FECoV enfeksiyonu kedilerde son derece bulaşıcı ve öldürücü FİP enfeksiyonuna dönüşebilmektedir (1,8,13). Bununla birlikte FECoV ile FİP'nun ayırımının yapılmasındaki güçlük nedeniyle FİP'in teşhisi son derece güçtür. Ayrıca FİP enfeksiyonu, tedavisinin çok güç olması ve aşılama-yaların yeterince koruma sağlayamaması nedeniyle kediler için hala önemli bir ölüm nedeni ve çözülmesi gereken bir problemdir (1,13,14). Dolayısıyla FİP ile ilgili olarak teşhis, tedavi ve patogeneze yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

FİP enfeksiyonu pleuritis veya peritonitisin geliştiği yaş/ıslak form veya granülatöz/pyogranülatöz lezyonların geliştiği kuru form olarak meydana gelmektedir. (1,8).

Birçok hastalık durumunda kalsiyum (Ca) metabolizmasının etkilendiği ve hastalıklara bağlı olarak kan Ca düzeylerinin arttığı veya düştüğü belirlenmiştir. Hiperkalseminin en yaygın nedenleri hiperparatiroidizm ve malignitedir ki bu iki durumun olguların yaklaşık %90'ından sorumlu olduğu bildirilmektedir (32). Yapılan çalışmalarda özellikle tümöral veya granülatöz oluşumlarda, kanser olgularında kan Ca seviyesinin önemli düzeyde arttığı ve bu artışın diagnostik önemini olduğu vurgulanmaktadır (23,24,27,33,34). Bilindiği gibi FİP'in kuru formu karaciğer, böbrek ve diğer birçok organda granülatöz veya pyogranülatöz lezyonlara neden olmakta (1,8) ve bu lezyonların kan Ca seviyesini etkileyip etkilemediği ise bilinmemektedir. Yapılan bu çalışmada ise FİP'li kedilerin Ca seviyesi yüksek olmakla birlikte bu artış kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bunun nedeni ise muhtemelen hastalık süreç ve şiddetine bağlı olarak bazı hayvanlarda artış belirlenirken bazı hayvanlarda ise Ca değerlerinin normal sınırlarda saptanmış olmasıdır. Ayrıca kuru formda granülatöz veya pyogranülatöz lezyonların görüldüğü FİP olgularında Ca artışının olup olmadığı araştırılmış ve yaş formdaki kediler ile kuru formdaki kedilerin Ca seviyeleri arasında istatistiksel

**Tablo 1.** FİP pozitif ve sağlıklı kedilerin kalsiyum metabolizması bulguları (Ortalama  $\pm$  standard sapma).  
**Table 1.** Findings of calcium metabolism in control and FIP positive cats.

Parametre	Kontrol (n=10)	FİP (n=20)	En düşük-En yüksek	p değeri
PTH (ng/L)	21.35 $\pm$ 5.77	27.10 $\pm$ 5.39	14.27-32.84	0.01
PTHrP (pg/ml)	110.53 $\pm$ 32.31	159.89 $\pm$ 33.35	110.49-203.29	0.001
Kalsitonin(ng/L)	179.47 $\pm$ 46.58	203.32 $\pm$ 34.26	142.63-297.29	0.173
Vit. D3 (ng/L)	36.32 $\pm$ 15.57	47.84 $\pm$ 13.06	27.27-72.53	0.062
Ca (mg/dl)	9.60 $\pm$ 0.45	9.94 $\pm$ 0.98	9.1-12.1	0.199
Mg (mg/dl)	2.38 $\pm$ 0.17	2.25 $\pm$ 0.24	1.83-2.78	0.121
P (mg/dl)	4.53 $\pm$ 0.54	5.28 $\pm$ 0.78	3.9-6.9	0.001

PTH: Paratriod hormon, PTHrP: Paratriod hormon benzeri protein, Vit D3: 1.25-dihidroksi vitamin D3, Ca: kalsiyum, Mg: magnezyum, P: fosfor.

**Tablo 2.** Sağlıklı, yaş ve kuru form FİP'li kedilerin kalsiyum metabolizması bulguları.  
**Table 2.** Findings of calcium metabolism in control and FIP positive cats.

Parametre	Kontrol (n=10)	Kuru Form (n=10)	Yaş form (n=10)
PTH (ng/L)	21.35 $\pm$ 5.77 <sup>a</sup>	26.86 $\pm$ 4.24 <sup>b</sup>	27.34 $\pm$ 6.58 <sup>b</sup>
PTHrP (pg/ml)	110.53 $\pm$ 32.31 <sup>a</sup>	163.1 $\pm$ 19.06 <sup>b</sup>	156.68 $\pm$ 27.27 <sup>b</sup>
Kalsitonin (ng/L)	179.47 $\pm$ 46.58 <sup>a</sup>	210.95 $\pm$ 37.42 <sup>a</sup>	195.68 $\pm$ 30.80 <sup>a</sup>
D3 (ng/L)	36.32 $\pm$ 15.57 <sup>a</sup>	49.90 $\pm$ 10.44 <sup>b</sup>	45.79 $\pm$ 15.54 <sup>ab</sup>
Ca (mg/dl)	9.60 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	10.24 $\pm$ 1.12 <sup>a</sup>	9.59 $\pm$ 0.76 <sup>a</sup>
Mg (mg/dl)	2.38 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	2.26 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>	2.25 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>
P (mg/dl)	4.53 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>	5.13 $\pm$ 0.50 <sup>ab</sup>	5.44 $\pm$ 1.00 <sup>b</sup>

PTH: Paratiroid hormon, PTHrP: Paratiroid hormon benzeri protein, Vit D3: 1.25-dihidroksi vitamin D3, Ca: kalsiyum, Mg: magnezyum, P: fosfor.

Gruplar arasındaki istatistiksel anlam derecesi harflerle belirtilmiştir. Aynı satırda farklı harf bulunması gruplar arasında istatistiksel olarak fark olduğunu ( $p < 0,05$ ) göstermektedir.

olarak bir fark bulunmamıştır.

Yapılan çalışmalarda granüloamatöz enfeksiyonlarda yüksek miktarda PTHrP üretiminin hiperkalsemiye neden olduğu ifade edilmektedir (23,24). Yapılan bir çalışmada ise kan kalsiyum seviyesi yüksek olan sarkoidozlu bazı hastalarda PTHrP tespit edilmiş olup bu proteinin kan PTH seviyesinden bağımsız olarak ve PTH gibi uyarım sağlayarak kan Ca seviyesini yükselttiği ileri sürülmüştür (23). Yaptığımız bu çalışmada ise FİP'li kedilerin PTH ( $p < 0,01$ ) ve PTHrP seviyelerinin sağlıklı kedilerin verilerine göre önemli düzeyde artmış olduğu belirlendi. FİP'li kedilerde PTH ve PTHrP ( $p < 0,01$ ) düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte bu artışların FİP'li kedilerin Ca seviyelerinde istatistiksel düzeyde artışlara neden olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte FİP'li kedilerin tamamında PTH ve PTHrP düzeylerinde artışlar saptanamamış olup bunda enfeksiyonun şiddeti ve sürecinin etkili olduğu düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda D vitamini 1,25-dihidroksivitamin D'nin aktif metabolitinin aşırı üretilmesi sarkoidoz ve diğer granüloamatöz hastalıklarda tanımlanmıştır. Kalsitonin hormonu kanda Ca seviyesi yükseldiğinde tiroid bezinden salgılanır (29). Yapılan mevcut çalışmada FİP'li kedilerin kalsitonin ve D3 vitamini düzeyleri kontrol grubunda yer alan sağlıklı kedilerin değerlerine yakın bulunmuş ve istatistiksel bir farklılık be-

lirlenememiştir. Bu sonuçlar aynı zamanda FİP'li kedilerde Ca seviyesinin önemli düzeyde değişmediğini de desteklemektedir.

Kemik kanseri, osteoporozis, böbrek hastalıkları, tiroid hastalıkları ve P'un diyetle aşırı alınması sonucunda hiperfosfotemi şekillenebileceği ifade edilmektedir (35). Fosfor seviyesi PTH ve D vitamini tarafından kontrol edilir ve kandaki seviyesi diyetle alınan, bağırsaklardan emilen ve böbreklerden atılan miktarına bağlı olarak değişir. Kronik böbrek yetmezliklerinde kandaki fosfor seviyesi yükselir (35). FİP'li kedilerde yapılan çalışmalarda böbreklerde glomerular filtrasyonun bozulduğu rapor edilmiştir (1,8). Ayrıca bu parametrelerde hayvanların bir kısmında yükseliş olması FİP'li kedilerde ortalamayı düşürmekte ve istatistiksel olarak farklılığın oluşmamasına neden olmaktadır. Dolayısı ile FİP'li kedilerdeki P düzeyindeki artış daha önceki çalışmalarda rapor edilmiş olan glomerular filtrasyonun bozulmasından kaynaklanmış olabilir (1,8).

## SONUÇ

Sonuç olarak, Sonuç olarak; FİP'li kedilerde PTH, PTHrP ve P düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunurken Ca, Mg, kalsitonin ve D3 vitamini düzeyleri ise kontrol grubuna benzer bulunmuştur. Bu parametreler dikkate alındığında yaş form ile kuru form FİP'li kediler arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır. Dolayısı FİP'li kedilerde kan Ca seviyesi

granülatöz oluşumlardan etkilenmediğini ifade edebiliriz. FİP'li kedilerde, PTH ve PTHrP düzeyindeki artışa rağmen kan Ca seviyesi önemli düzeyde artmamış olup Ca'un diagnostik amaçlı kullanımı sınırlıdır. Bununla birlikte, Ca seviyeleri ve Ca metabolizması ile ilgili çalışmaların daha çok sayıda FİP'li kedide yapılarak elde edilen sonuçların desteklenmesi yararlı olacaktır.

## BEYANNAMELER

### Etik Onayı

Yapılan bu çalışma MAKÜ, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izni alınarak ve hayvan sahiplerine onam formu imzalatılarak gerçekleştirilmiştir (Etik Kurul no: 2018/393).

### Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

### Yazar Katkıları

Tüm yazarlar makalenin her aşamasına katkıda bulunmuştur.

### Veri kullanılabilirliği

Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler makul talep üzerine sorumlu yazardan temin edilebilir.

### Teşekkür

Gerçekleştirilen bu araştırma MAKÜ Bilimsel Araştırma projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0540-YL-18 proje numarası ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1- Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T et al. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 2009;11(7):594-604.

2- Al Muhairi S, Al Hosani F, Eltahir YM, Al Mulla M, Yusof MF, Serhan WS et al. Epidemiological investigation of Middle East respiratory syndrome coronavirus in dromedary camel farms linked with human infection in Abu Dhabi Emirate, United Arab Emirates. *Virus Genes* 2016;52: 848–854.

3- Decaro N, Buonavoglia C. Canine Coronavirus: Not Only an Enteric Pathogen *Vet Clin Small Anim* 2011;41:1121–1132.

4- Dhama K, Pawaiya KRVS, Chakraborty S, Tiwari R, Saminathan M, Verma AK. Coronavirus Infection in Equines: A Review *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2014;9(3):164-176.

5- Fehr AR, Perlman S. Coronavirusviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Methods Mol Biol.*2015;1282:1–23.

6- Licitra BN, Duhamel GE, Whittaker GR. Canine Enteric Coronavirusviruses: Emerging Viral Pathogens with Distinct Recombinant Spike Proteins. *VirusViruses*, 2014;6:3363-3376.

7- Oma VS, Trávén M, Alenius S, Myrmel M, Stokstad M. Bovine coronavirus in naturally and experimentally exposed calves; viral shedding and the potential for transmission. *Virology*. 2016;13:100.

8- Pedersen NC. An update on feline infectious peritonitis:

virology and immunopathogenesis. *Vet J.* 2014a;201(2):123-32.

9- Wang D, Hu B, Hu C. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* Published online February 07, 2020.

10- Simmons G, Reeves JD, Rennekamp AJ, Amberg SM, Piefer AJ, Bates P. Characterization of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus (SARS-CoV) spike glycoprotein-mediated viral entry. *Proc Natl Acad Sci.* 2004; 101(12):4240-5.

11- Lim YX, Ng Ling Y, Tam JP, Liu DX. Human Coronaviruses: A Review of Virus–Host Interactions. *Diseases*, 2016; 4(26):1-28.

12- Ren YR, Golding A, Sorbello A, Ji P, Chen J, Saluja B et al. A Comprehensive Updated Review on SARS-CoV-2 and COVID-19. *The Journal of Clinical Pharmacology* 2020;60(8):954-975.

13- Li C, Liu Q, Kong F, Guo D, Zhai J, Su M, Sun D (2018) Circulation and genetic diversity of Feline coronavirus type I and II from clinically healthy and FİP-suspected cats in China. *Transbound Emeg Dis* 2019;66(2):763-775.

14- Pedersen NC (2014b): An update on feline infectious peritonitis: diagnostics and therapeutics. *Vet J.* 2014;201(2):133-41.

15- Cengiz HB, Gökce Hİ. Feline infeksiyöz peritonitisi kedilerde bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırılması. *MAE Vet Fak Derg*, 2019;4(2):51-56.

16- Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;1:S23-30.

17- Finora K. Common paraneoplastic syndromes. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 2003; 18 (2):123-126.

18- Savary KC, Price GS, Vaden SL. Hypercalcemia in cats: a retrospective study of 71 cases (1991-1997). *J Vet Int Med* 2000;14:184-189.

19- Vasilopoulos RJ, Mackin A. Humoral hypercalcemia of malignancy: diagnosis and treatment. *Compendium*, 2003;25(2):129-136.

20- Schenck PA, Chew DJ. Hypercalcemia: A quick reference. *Vet Clin Small Anim Prac* 2008;38:449-453.

21- Drücke TB. Lanthanum carbonate as a first-line phosphate binder: the «cons».2017;20(4):329-32.

22- Azpiazu D, Gonzalo S, González-Parra E, Egidio J, Villa-Bellosta R. Role of pyrophosphate in vascular calcification in chronic kidney disease. *Nefrologia*, 2018;38(3):250-257.

23- Van Raalte DH, Beishuizen C, Stradmeijer MD, Houtenbos I, ten Kate RW. Malignant cutaneous lesions. *BMJ Case Rep.* 2015;28 July, 1-2.

24- Fierer J, Burton DW, Haghighi P, Deftos LJ. Hypercalcemia in disseminated coccidioidomycosis: expression

of parathyroid hormone-related peptide is characteristic of granulomatous inflammation Clin Infect Dis. 2012; 55(7):61-66.

25- Donovan PJ, Achong N, Griffin K, Galligan J, Pretorius CJ, McLeod DS. PTHrP-mediated hypercalcemia: causes and survival in 138 patients. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(5):2024-9.

26- Fuss M, Pepersack T, Gillet C, Karmali R, Corvilain J. Rheumatol Calcium and vitamin D metabolism in granulomatous diseases. Clin Rheumatol. 1992;11(1):28-36.

27- Soofi A, Malik, Khan J, Muzaffar S. Severe hypercalcemia in tuberculosis. J Pak Med Assoc. 2004;54(4):213-5.

28- Al-Ali H, Yabis AA, Issa E, Salem Z, Tawil A, Khoury N, Fuleihan Gel-H. Hypercalcemia in Langerhans cell granulomatosis with elevated 1,25 dihydroxyvitamin D (calcitriol) level. Bone 2002;30(1):331-4.

29- Allen E, Bhimji SS. Anatomy, Head and Neck, Thyroid. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017;Jun-.2017.

30- Rastawicki W, Paradowska-Stankiewicz I, Stefanoff P, Zasada AA. Reliability of the cut-off value in the routine serodiagnosis of pertussis performed by the commercial ELISA assays. Med Dosw Mikrobiol 2011;63:73-80.

31- Sharma MK, Jain S. Leadership Management: Principles, Models and Theories, Global Journal of Management and Business studies. Research India Publications, India. 2013;pp. 309-318.

32- Baran D'I, Aronin N. Disorders of mineral metabolism. In: Irwin RS, Rippe JM, eds. Irwin and Rippe's Intensive Care Medicine. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins:2008;1287-93.

33- Hajmomenian H. Hypercalcemia Associated with Diffuse Large B Cell Lymphoma. Proceedings of UCLA Healthcare, 2016;20:1-2.

34- Sharma OP. Hypercalcaemia in granulomatous disorders: a clinical review. Curr Opin Pulm Med. 2000;6(5):442-447.

35- Brooks W. Calcium Phosphorus Balance in Dogs and Cats <https://veterinarypartner.vin.com/default.aspx?pid.> 2007.

# Calicivirus ile enfekte kedilerde adenzin deaminaz 1, paraoksonaz 1, C-reaktif protein ve serum amiloid A düzeylerinin araştırılması

Seda Sarıkaya<sup>1</sup>, Halil İbrahim Gökçe<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Palm Veteriner Kliniği, Antalya, TÜRKİYE

<sup>2</sup>İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur, TÜRKİYE

## Anahtar Kelimeler:

adenozin deaminaz 1 (ADA-1)  
akut faz yanıt  
calicivirus  
kedi

## Key Words:

acute phase response,  
adenosine deaminase 1 (ADA-1)  
calicivirus  
cat

Geliş Tarihi : 14.07.2021  
Kabul Tarihi : 11.10.2021  
Yayın Tarihi : 31.12.2021  
Makale Kodu : 971635

Sorumlu Yazar:

Hİ GÖKCE  
(higokce@mehmetakif.edu.tr)

ORCID

S. SARIKAYA: 0000-0003-2128-6688  
Hİ. GÖKCE : 0000-0002-4458-0671

Bu araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0577-YL-19 proje numarası ile desteklenmiştir.

## ÖZ

Bu çalışma ile feline calicivirus (FCV) ile enfekte kedilerde hücrel immün yanıtın, oksidatif stresin ve yarısal sürecin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada FCV ile enfekte 20 adet kedi ve 10 adet klinik olarak sağlıklı olmak üzere toplam 30 kedi kullanılmıştır. Çalışmada tüm kedilerden toplanan serum örneklerinde kedi spesifik ELISA test kitleri kullanılarak adenzin deaminaz 1 (ADA-1), paraoksonaz 1 (PON-1), C-reaktif protein (CRP) ve serum amiloid A (SAA) düzeyleri belirlenmiştir. Sonuç olarak, FCV ile enfekte kedilerin serum ADA-1, SAA ve CRP düzeyleri kontrol grubunkilerden istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Ayrıca enfekte kedilerin PON-1 düzeyleri ise kontrol grubundan önemli düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,001$ ). Yapılan bu çalışmada, ADA-1 ile PON-1 arasında yüksek düzeyde anlamlı negatif korelasyon ( $r = -0,73$ ;  $p < 0,001$ ) saptanırken diğer parametreler arasında ise orta düzeyde korelasyonlar belirlenmiştir. Sonuç olarak, elde edilen veriler FCV ile enfekte kedilerde ADA-1 düzeyindeki artış aktive olmuş hücrel yanıtı, PON-1 düzeyindeki düşüş oksidatif stresin geliştiğini göstermektedir. Ayrıca SAA ve CRP düzeylerindeki artışlar ise bu kedilerde akut faz yanıtın geliştiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma, FCV ile enfekte kedilerde ADA-1'in hücrel immün yanıtın durumunun belirlenmesinde, PON-1'in oksidatif stresin belirlenmesinde yararlı biyomarkırlar olabilir. Bunlara ek olarak SAA ve CRP'nin gelişen yangıya bağlı akut faz yanıtın belirlenmesinde kullanılabilir.

## Investigations of adenosine deaminase 1, paraoxonase 1, C-reactive protein and serum amyloid A levels in cats infected with calicivirus

## ABSTRACT

The aims of this study were determination of cellular immune responses, oxidative stress, and inflammatory responses in cats infected with FCV. In the study, 20 cats infected with FCV and 10 clinically healthy cats were used. In the study, adenosine deaminase 1 (ADA-1), paraoxonase 1 (PON-1), C reactive protein (CRP) and serum amyloid A (SAA) levels were determined in collected serum samples of all the cats, using cat-specific ELISA test kits. In the present study, serum concentrations of ADA-1, SAA and CRP were significantly higher than those of control group ( $p < 0,001$ ). Whereas PON-1 concentrations were found to be significantly low compared to that of control group. Furthermore, high negative correlations were obtained between ADA-1 and PON-1 ( $r = -0,73$ ;  $p < 0,001$ ), while moderate correlations were obtained between other parameters. In this study, elevated serum ADA-1 levels indicate activated cellular immune responses and decreased PON-1 levels indicate oxidative stress. Furthermore, increased SAA and CRP levels determine the development of acute phase responses in cats infected with FCV. In conclusion, ADA-1 and PON-1 can be useful biomarkers for detecting activated cellular immune responses and oxidative stress in cats infected with FCV, respectively. Furthermore, SAA and CRP can be used to detect acute phase responses in infected cats with FCV.

## GİRİŞ

Calicivirus yoğun olarak yavru ve genç kedilerde hafif veya orta şiddette üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır (1,2). Daha ender olmakla birlikte kedilerde yüksek derecede virulent sistemik feline calicivirus (VS-FCV) suşları ile çok şiddetli ve öldürücü sistemik enfeksiyonlarda gelişebilmektedir. (3,4). Yapılan çalışmalarda kedilerin üst solunum yolu enfeksiyonlarının %80'i feline calicivirus virus (FCV) ve Feline Herpes Virus-1 (FHV-1) veya ikisi tarafından oluşturulduğu saptanmıştır. Bununla birlikte ağızda stomatit, ülser ve gingivitisle seyreden olguların büyük bir çoğunluğunun ise FCV tarafından oluşturulduğu anlaşılmıştır (1,5). Özellikle im-

mün sistemi baskılanmış, stres altında yaşayan, iyi beslenemeyen, kalabalık ve hijyenik olmayan ortamlarda barındırılan yavru ve genç kediler risk altındadır (2). Hastalığı atlatan kediler ya aralıklarla ya da taşıyıcı olarak ömür boyu virus saçmaktadır (6,7). FCV yüksek derecede genetik ve antijenik çeşitliliğe sahip olduğundan virusun çok sayıda biyotipi mevcuttur. Ayrıca FCV yüksek düzeyde ve hızlı mutasyon yeteneğine sahiptir (8). Bu özelliklerinden dolayı kedilerde aşılarda farklı biyotiplere karşı yeterli korunma sağlayamamaktadır (9).

Adenzin deaminaz-1 (ADA-1) yoğun olarak lenfositlerde ve monositlerden üretilir ve özellikle hücrel immün yanıtın bir göstergesidir. ADA lenfositlerin başkalaşımı, çoğalması ve

olgunlaşması için son derece önemlidir (10-12). ADA yoğun olarak T lenfositlerde bulunduğundan şiddetli hastalık tablolarında ADA-1 artışı T lenfosit aktivasyonunun veya hücrel immün yanıtın bir markırı olarak kabul edilir (11,13). ADA yetersizliğinde ise hem B hem de T lenfositlerin sayıları düşer ve fonksiyonları aksar. Bu nedenle ADA yetersizliği immün yetmezlikle sonuçlanır ve buna bağlı organizmada oportunistik fungal, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar daha kolay gelişir (13).

Paraoksonase yoğun olarak karaciğerden, daha az oranda da diğer dokulardan sentezlenen bir enzim olup hem antioksidan bir madde hem de bir negatif akut faz proteindir. Oksidatif stresin belirlenmesinde antioksidan olarak ve yangının belirlenmesinde de negatif akut faz protein olarak kullanılmaktadır (14-18).

C-reaktif protein (CRP) ve serum amyloid A (SAA) pozitif akut faz proteinler (AFP) olup akut faz yanıtı (AFY) bir cevap olarak karaciğerden üretilirler. Kandaki konsantrasyonları yangıya sebep olan enfeksiyon, travma cerrahi müdahale ve hatta stress durumlarında hızla artar. Bu akut faz proteinleri yangının tanısında, şiddetinin belirlenmesinde, bakteriyel ve viral hastalıkların ayırımında ve tedavinin takibinde kullanılmaktadır (19-21)

Bu güne kadar calicivirus ile enfekte kedilerde hastalığın patogenezini aydınlatacak oksidatif stres parametresi olan PON-1 ve hücrel immün yanıtın durumunu gösteren ADA-1 ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada ise calicivirus ile doğal enfekte kedilerde hem ADA-1 hem de PON-1 ölçülerek bu enzimlerin diagnostik önemi ortaya konulmuş ve bunların hastalığın patogenezindeki rolü araştırılmıştır. Ayrıca çalışmada doğal enfekte kedilerde CRP ve SAA gibi akut faz proteinleri de belirlenerek akut faz yanıtın durumu ve bunların diagnostik önemleri değerlendirilmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Hayvan Materyali

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Küçük Hayvan Kliniği'ne ve Antalya merkezde bulunan serbest veteriner kliniklerine getirilen sahipli kediler sahiplerinden onam formu imzalatılarak çalışmaya dahil edilmiştir. Klinik olarak calicivirus enfeksiyon şüphesi gösteren ve ateş, hışırtı, burun ve göz akıntısı, konjunktivitis, oral stomatitis ve ülserler, kronik gingivitis, dilde ülserasyon gibi belirtiler gösteren kediler çalışmaya dahil edilmiştir (1,2,5). FCV şüphesi taşıyan kedilerden lezyonun olduğu bölgeye öncelik verilmek şartı ile ağız ve burundan svaplar alındı ve teşhis şansını artırmak için bu svaplar birleştirildi (2,22). Bu örnekler prosedürlerine uygun olarak kedi spesifik antijen hızlı test kitleri ile FCV (Genbody, Chungcheongnam-do, KORE) ve felin herpesvirus-1 (FHV-1) (Asan Pharm. Co. Ltd., Seoul, KORE) için test edildi. Testler sonucunda FHV-1 pozitif olanlar çalışmadan çıkarılarak sadece FCV yönünden pozitif olan 20 kedi çalışmaya dahil edildi. Ayrıca 10 adet klinik olarak sağlıklı ve testlerde FCV ve FHV-1 yönünden negatif olan kediler çalışmaya kontrol grubu olarak eklendi. 21 gün içinde FCV ile aşılınmış ve 8 haftalık küçük kediler yanlış pozitifliğe neden olacağı için çalışmaya dahil edilmemiştir (6,22).

### Laboratuvar Analizleri

Belirtilen klinik belirtilere sahip FCV ile enfekte şüphesi olan ve sağlıklı kedilerin kan örnekleri klinikte jelli pıhtı aktivatörlü tüplere alınarak elde edilen serum örnekleri PON-1, ADA-1, CRP ve SAA ölçümleri yapılmaya kadar -80°C'de saklandı.

Serum örneklerinde CRP (SunRed Shanghai, ÇİN), PON-1 (SunRed, Shanghai, ÇİN), ADA-1 (SunRed, Shanghai, ÇİN) ve SAA (SunRed, Shanghai, ÇİN) düzeyleri kedi spesifik ELISA test kitleri ile üretici firmanın önerdiği prosedüre uygun olarak ölçüldü. Oluşan optik dansiteler (OD) ELISA mikroploka okuyucu ile 450nm dalga boyunda okundu (MR-96A, Minray, China). Her bir parametre için standart stok solüsyonları her defasında 2 katı olacak şekilde 1/256 sulandırma katsayısına kadar sulandırılarak OD değerleri ELISA okuyucuda okundu. Elde edilen OD değerleri ile regresyon analizi yapılarak standart eğri grafiği oluşturuldu ve buradan elde edilen formüllerle her bir parametrenin serum konsantrasyonları hesaplandı. Testlerin duyarlılığı testin prosedüründe sırası ile ADA-1, PON-1, SAA ve CRP için 0.075ng/ml, 1,682ng/ml, 2,174ng/ml ve 0.12mg/L olarak verilmiştir.

### İstatistiksel Analiz

Kolmogorov Smirnov testi verilerin normal dağılım gösterip göstermediğinin belirlenmesinde kullanıldı ve normal dağılım gösterdiği saptanan parametrelerden calicivirus ile enfekte kedilere ait parametreler ile kontrol grubuna ait parametreler arasındaki istatistiksel farklılıklar bağımsız t test ile analiz edildi. Ayrıca calicivirus ile enfekte kedilerden elde edilen veriler arasındaki korelasyon Pearson's correlation coefficient (r) analizi ile belirlendi. Çalışmada bütün parametreler ortalama ve standart sapma (Ort±SD) olarak verildi. İstatistiksel analizlerde anlam derecesi p<0,05 olarak kabul edildi. İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS 21.0 for Windows® paket programı kullanıldı.



Şekil 1. Calicivirus pozitif bir kedide dilde ve farenkste ülseratif lezyonlar.

Figure 1. Ulcerative tongue lesions of a calicivirus-positive cat



Şekil 2. Calicivirus pozitif bir kedide dilde ve farenkste ülseratif lezyonlar.

Figure 2. Ulcerative lesions of the tongue and pharynx in calicivirus-positive cat.

## BULGULAR

### Klinik Bulgular

FCV pozitif olan kedilerde durgunluk, iştahsızlık, göz ve burun akıntısı, oral gingivitis ve stomatitis ile birlikte ağız mukozası ve özellikle dilde yaygın ülseratif lezyonlar belirlenmiştir

(Şekil 1, Şekil 2).

### Biyobelirteçlerin Analiz Sonuçları

Calicivirus ile enfekte kedilerin serum ADA-1 ( $p<0,001$ ), SAA ( $p<0,001$ ) ve CRP ( $p<0,001$ ) düzeylerinin kontrol grubunda bulunan kedilerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşın calicivirus ile enfekte kedilerin serum PON-1 ( $p<0,001$ ) düzeylerinin ise sağlıklı kedilere göre anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 1). Yapılan Pearson korrelasyon analizlerinde ADA-1 ile SAA ( $r=0,60$ ,  $p<0,01$ ) arasında, ADA-1 ile CRP ( $r=0,57$ ,  $p<0,05$ ) arasında ve SAA ile CRP arasında ( $r=0,57$ ,  $p<0,05$ ) orta düzeyde anlamlı pozitif korrelasyonlar belirlenmiştir. Ayrıca PON-1 ile ADA-1 ( $r=-0,73$ ,  $p<0,001$ ) arasında yüksek düzeyde anlamlı negatif korrelasyon saptanırken, PON-1 ile SAA ( $r=-0,52$ ,  $p<0,05$ ) ve CRP ( $r=-0,50$ ,  $p<0,05$ ) arasında ise orta düzeyde negatif korrelasyonlar belirlenmiştir (Tablo 2).

**Tablo 1.** Serum adenozin deaminaz-1 (ADA-1), paraoksonaz-1 (PON-1), C reaktif protein (CRP) ve serum Amiloid A (SAA) değerleri (Ortalama  $\pm$  Standart sapma).

**Table 1.** Serum concentrations of adenosin deaminase-1 (ADA-1), paraoxonase-1, C reactive protein (CRP) and serum amyloid A (SAA).

Parametre	Kontrol (n=10)	Enfekte (n=20)	En düşük-En yüksek (Enfekte)	p değeri
ADA-1 (ng/ml)	2,50 $\pm$ 0,04	3,62 $\pm$ 0,15	3,34-3,93	0,001
PON-1 (ng/ml)	6,72 $\pm$ 1,65	3,54 $\pm$ 0,84	2,04-5,42	0,001
SAA (ng/ml)	9,71 $\pm$ 3,14	17,23 $\pm$ 4,55	10,78-29,1	0,001
CRP mg/L	2,97 $\pm$ 0,49	4,41 $\pm$ 0,63	3,78-5,94	0,001

ADA-1: Adenozin deaminaz 1; PON-1: Paraoksonaz; SAA: Serum Amiloid A; CRP: C reaktif protein.

**Tablo 2.** Calicivirus ile enfekte kedilerden (n=20) elde edilen parametreler arasındaki korelasyon ( $r$ ) değerleri.

**Table 2.** Correlations ( $r$ ) between the parameters of cats infected with calicivirus.

Parameters	ADA-1	PON-1	SAA	CRP (mg/L)
ADA-1 (ng/ml)	1	-0,73***	0,6**	0,57*
PON-1 (ng/ml)		1	-0,52*	-0,50*
SAA (ng/ml)			1	0,57*

ADA-1: Adenozin deaminaz 1, PON-1: Paraoksonaz, SAA; Serum amyloid A, CRP: C reaktif protein, Parametreler arasındaki korelasyonun anlam derecesi sembollerle belirtilmiştir.

\*:  $p<0,05$ , \*\*:  $p<0,01$ , \*\*\*:  $p<0,001$ .

## TARTIŞMA

Kedilerde genellikle üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan FCV daha çok kalabalık halde barındırılan genç ve yavru kedileri etkilemektedir (1,2). Bununla birlikte daha ender görülen ancak çok daha öldürücü seyreden sistemik FCV enfeksiyonları da belirlenmiştir (3,4). Kedilerde bu virusun çok sayıda biyotipi mevcut olduğundan kedilerde bir veya birden fazla farklı biyotipler tarafından enfeksiyon oluşturulabilmektedir (4,8). Üretilen aşılardan birkaç suşu içermesi ve suşlar arasında korunmanın yeterli olmaması nedeniyle aşılama yeterince kal-

maktadır (9). Enfeksiyonu atlatan ve hatta klinik olarak sağlıklı görünen kedilerin birçoğu taşıyıcı olmakta ve kalabalık halde tutulan kediler arasında enfeksiyonun yayılmasında büyük rol oynamaktadır. (6,7). Calicivirus enfeksiyonları herpesvirus enfeksiyonları ile birlikte özellikle çok sayıda kedinin bir arada tutulduğu barınak, yetiştirme alanları ve petshoplarda önemli bir problem olarak hala önemini korumaktadır (6,7).

Adenozin deaminaz yoğun olarak lenfositlerde bulunmakta olup immünolojik sistemin olgunlaşması ve özellikle lenfositlerin çoğalma ve değişimlerinde rol oynayan önemli bir enzimdir (10,11). ADA yoğun olarak T lenfositlerde bulunduğu şiddetli hastalık tablolarında ADA-1 artışı T lenfosit aktivasyonunun veya hücrel immün yanıtın bir markırı olarak kabul edilir (12,23,24). ADA yetersizliğinde ise hem B hem de T lenfositlerin sayıları düşer ve fonksiyonları aksar.

Bu nedenle ADA yetersizliği immün yetmezlikle sonuçlanır ve buna bağlı organizmada oportunistik fungal, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar daha kolay gelişir (11,13). Kanda seviyesinin yükselmesi hücrel immünitenin aktive olduğuna azalması ise immün yetmezliğe bir işaret olarak kabul edilmektedir (10-13). Yapılan çalışmalarda birçok hastalıkta ADA-1 seviyesinin yükseldiği ve bunun diagnostik önemi olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda ADA-1 seviyesindeki artışın hem insanlarda hem de hayvanlarda T-lenfosit aktivasyonunu ve yangıyı gösteren önemli bir markır olduğu ortaya konulmuştur (23,25-27).



Tüberkülozlu insanlarda yapılan çalışmalarda ADA-1 seviyesi oldukça yüksek bulunmuş ve ADA-1 tüberkülozun teşhisinde önemli bir markır olarak önerilmiştir (24). Yapılan başka bir çalışmada ise serum ADA-1 seviyesi ile karaciğerde hücresel yıkımlanma arasında pozitif bir korelasyon belirlenmiş ve ADA-1'in karaciğer hasarının belirlenmesinde yararlı bir markır olduğu ileri sürülmüştür (25). Kedilerde yapılan çalışmalarda serum ADA seviyesinin FIV enfeksiyonunda ve feline infeksiyöz peritonitiste (FIP) önemli düzeyde arttığı ortaya konulmuştur. Bu artışlar T-lenfosit veya hücrel immünite aktivasyonuna ve gelişen yangıya bağlanmıştır (26). Ayrıca yapılan çalışmalarda serum ADA-1 ile CRP düzeyleri arasında anlamlı korelasyonlar belirlenmiştir (28,29). Yapılan mevcut bu çalışmada FCV ile enfekte ve ağızlarında ve özellikle dillerinde lezyon bulunan kedilerde serum ADA-1 düzeyleri sağlıklı kedilerinkine göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ( $p<0,001$ ). Bu yükseliş yapılan birçok çalışmada ortaya konulduğu gibi FCV ile enfekte kedilerde yangısal sürecin geliştiğini ve T-lenfosit spesifik hücrel immün yanıtın aktive olduğunu göstermektedir (10,12,13,25-27). Ayrıca yapılan bu çalışmada FCV ile enfekte kedilerin serum ADA-1 seviyeleri ile SAA ( $r=0,6$ ;  $p<0,01$ ) ve CRP ( $r=0,57$ ;  $p<0,05$ ) arasında orta düzeyde pozitif korelasyon PON-1 ( $r=-0,73$ ;  $p<0,001$ ) ile ise yüksek düzeyde anlamlı negatif korelasyonlar belirlenmiştir. Belirlenen korelasyonlar dikkate alındığında özellikle ADA-1 ile PON-1 arasında belirlenen yüksek düzeyde anlamlı negatif korelasyonun bu parametrelerin FCV ile enfekte kedilerde gelişen yangının ve aktive hücrel immünitenin belirlenmesinde yararlı olacağı ortaya çıkmaktadır.

Paraoksonaz multifonksiyonel bir enzim olup oksidatif yıkımlanma ve lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu, reaktif moleküllerin detoksifikasyonu, ilaçların biyoaktivasyonu, stresin modülasyonu ve hücrelerin çoğalması ve apoptozisinin regüle edilmesinde rol oynar. PON-1 enzim aktivitesi oksidatif stres şartları tarafından regüle edilir. PON-1'in aynı zamanda high dancy lipoprotein (HDL)'nin antioksidatif ve antiinflamatör özelliklerini regüle ettiği belirtilmektedir (14,16,18). PON-1'in en önemli özelliği antioksidan bir enzim olması ve lipid peroksidatifleri ve hidrojen peroksidleri hidrolize ederek HDL ve low dancy lipoprotein (LDL)'yi oksidasyondan korumasıdır (14,16). Yapılan çalışmalar PON-1'in sadece antioksidan olmadığı aynı zamanda antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu ve karaciğerden sentezlenen önemli bir negatif akut faz protein olduğunu da ortaya koymuştur (14,30,31). Yapılan çalışmalarda birçok hastalıkta Serum PON-1 seviyesinin yangı ve oksidatif strese bağlı olarak düştüğü ortaya konulmuştur (17,30-32). Feline infectious peritonitis (FIP)'li kedilerde yapılan çalışmalarda enfekte kedilerde PON-1 düzeyinin sağlıklı kedilerden anlamlı düzeyde düşük olduğu saptanmıştır. Yapılan bu çalışmalarda PON-1'in FIP'li kedilerin FIP'li olmayanların ayırımında bir biyomarkır olarak kullanılabilirliği ileri sürülmüş olup PON-1'deki düşüş gelişen oksidatif stres ve akut faz yanıtına bağlanmıştır (17). Ayrıca yapılan çalışmalarda PON-1 düzeyi ile CRP arasında anlamlı negatif korelasyonlar belirlenmiş olup PON-1 ve CRP arasındaki korelasyonun sepsisin ve tedavinin takibinde yararlı markırlar olacağı ileri sürülmüştür (30,33). Sonuç olarak yapılan çalışmalarda PON-1'in akut faz yanıtın belirlenmesinde negatif APP olarak ve antioksidan olarak oksidatif stresin belirlenmesinde bir diagnostik biyomarkır olarak

kullanılabileceği rapor edilmiştir (14,15,17,31,32). Yaptığımız bu çalışmamızda elde ettiğimiz veriler FCV ile enfekte kedilerin serum PON-1 düzeylerinin sağlıklı kedilerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğunu ortaya koymuştur ( $p<0,001$ ). Ayrıca çalışmada FCV ile enfekte kedilerin serum PON-1 düzeyi ile ADA-1 arasında ( $r=-0,73$ ;  $p<0,001$ ) yüksek düzeyde, PON-1 ile SAA ( $r=-0,52$ ;  $p<0,05$ ) ve CRP ( $r=-0,5$ ;  $p<0,05$ ) arasında ise orta düzeyde negatif korelasyon belirlenmiştir. Çalışmada FCV ile enfekte kedilerde belirlenen PON-1 düzeyindeki düşüş enfekte kedilerde oksidatif stresin geliştiğini ve ayrıca akut faz yanıtına bağlı olarak negatif akut faz protein (APP) olan PON-1 sentezinin düştüğünü ortaya koymaktadır. Ayrıca yapılan korrelasyon analizleri özellikle ADA-1 ve PON-1'in FCV ile enfekte kedilerde yangısal sürecin ve oksidatif stresin belirlenmesinde yararlı biyomarkırlar olabileceğini ortaya koymaktadır.

CRP ve SAA yangı sırasında gelişen AFY cevap olarak karaciğerden sentezlenen pozitif AFP'lerdendir. Sağlıklı hayvanlarda oldukça düşük düzeyde bulunurken yangı sırasında kandaki konsantrasyonları hızla yükselmektedir. Ancak akut faz proteinlerin diagnostik önemi hayvan türlerine göre değişmekte olup kediler için CRP orta düzeyde, SAA ise yüksek düzeyde diagnostik öneme sahiptir (20,21). Yapılan çalışmalarda bu akut faz proteinlerin yangıya bağlı olarak birçok hastalıkta yükseldiği ortaya konulmuştur (19,34). Aynı zamanda CRP'nin bakteriyel enfeksiyonların viral enfeksiyonlardan ayırımında da kullanılabildiğini ortaya koymaktadır (19). Ayrıca yapılan çalışmalar CRP'nin sadece yangının akut markır olmadığı aynı zamanda önemli bir yangı düzenleyici protein olduğunu göstermiştir. Dolayısı ile CRP enfeksiyonlarda konakçı savunma sistemi için kilit rol oynayan bir proteindir (21). Yapılan çalışmalarda hastalık sırasında serum CRP ve SAA artışı ile hastalığın ciddiyeti ve tedaviye cevabı arasında mükemmel bir korelasyonu olduğu belirlenmiştir (35). Bu nedenle SAA ve CRP yangısal olayların şiddetinin belirlenmesinde, yangısal hastalıkları yangısal olmayan hastalıklardan ayırmada, hastalık süreci ve tedavi başarısının izlenmesinde yararlı olduğu rapor edilmiştir (19,20,34,35). Yaptığımız mevcut bu çalışmada FCV ile enfekte kedilerin serum SAA ( $p<0,001$ ) ve CRP ( $p<0,001$ ) düzeyleri sağlıklı kedilere göre önemli düzeyde yüksek bulunmuş olup bu yükselişin muhtemel nedeni ise gelişen AFY sonucu artan AFP sentezleri olduğu düşünülmektedir. Ayrıca SAA ile ADA-1 ( $r=0,6$ ;  $P<0,01$ ) arasında ve SAA ile CRP ( $r=0,057$ ;  $p<0,01$ ) arasında orta düzeyde anlamlı pozitif korrelasyon belirlenmiş olup bu korelasyon SAA ve CRP'nin yangının belirlenmesinde yararlı olabileceğini göstermektedir.

## SONUÇ

Sonuç olarak yapılan bu çalışma ile ilk defa FCV ile enfekte kedilerde serum ADA-1, SAA ve CRP düzeylerinin arttığı buna karşın PON-1 seviyesinin ise düştüğü ortaya konulmuştur. FCV ile enfekte kedilerde serum ADA-1 düzeylerindeki artış bu kedilerde hücrel immün yanıtın aktive olduğunu ortaya koymaktadır. FCV ile enfekte kedilerin serum PON-1 düzeylerinin sağlıklı kedilerden daha düşük olması enfekte kedilerde oksidatif stresin geliştiğini göstermektedir. Antioksidan bir enzim olan PON-1 seviyesindeki düşüş enfekte kedilerde antioksidan kapasitenin düştüğünün bir

işareti olarak yorumlanabilir. Ayrıca FCV ile enfekte kedilerde pozitif akut faz proteinleri olan SAA ve CRP düzeylerinde önemli artışlar belirlenmiş olup bu artışlar enfekte kedilerde yangıya bağlı AFY'nin geliştiğini ve karaciğerden AFP'lerin sentezinin uyarıldığını göstermektedir. Çalışmada elde edilen sonuçlar FCV ile enfekte kedilerde yangının belirlenmesinde ADA-1, SAA ve CRP, hücrel immün yanıtın durumunun belirlenmesinde ADA-1 ve oksidatif stresin belirlenmesinde ise PON-1 ölçümlerinin yararlı olacağı ve bu parametrelerin FCV ile enfekte kedilerde faydalı biyomarkırlar olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

## BEYANNAMELER

### Etik Onayı

Bu çalışma hayvan sahiplerine onam formu imzalatılarak ve Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izni alınarak yapılmıştır (Etik Kurul no: 2019/498).

### Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

### Yazar Katkıları

Tüm yazarlar makalenin her aşamasına katkıda bulunmuştur.

### Veri kullanılabilirliği

Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler makul talep üzerine sorumlu yazardan temin edilebilir.

### Teşekkür

Bu araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0577-YL-19 proje numarası ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Berger A, Willi B, Meli ML, Boretti FS, Hartnack S, Dreyfus A et al. Feline Calicivirus and other respiratory pathogens in cats with Feline Calicivirus related symptoms and in clinically healthy cats in Switzerland. *Vet Res* 2015;11:1-12.
- Radford AD, Addie D, Belák S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T et al. Feline Calicivirus infection. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 2009;11(7):556-64.
- Coyne KP, Jones BRD, Kipar A, Chantrey J, Porter CJ, Barber PJ et al. Lethal outbreak of a disease associated with feline Calicivirus infection in cats. *Vet Record*, 2006a;158:544-550.
- Reynolds BS, Poulet H, Pingret JL, Jas D, Brunet S, Lemeter C et al. A nosocomial outbreak of feline Calicivirus associated virulent systemic disease in France. *J Feline Med Surg* 2009;11(8):633-644.
- Dowers KL, Hawley JR, Brewer MM, Morris AK, Radecki SV, Lappin MR. Association of Bartonella species, feline Calicivirus, and feline herpesvirus 1 infection with gingivostomatitis in cats. *J Feline Med Surg*, 2010;12(4):314-321.
- Coyne KP, Dawson S, Radford AD, Cripps PJ, Porter CJ, McCracken CM et al. Long term analysis of feline Calicivirus prevalence and viral shedding patterns in naturally infected

colonies of domestic cats. *Vet Microbiol* 2006b;118(1-2):12-25.

7- Coyne KP, Gaskell RM, Dawson S, Porter CJ, Radford AD. Evolutionary mechanisms of persistence and diversification of a Calicivirus within endemically infected natural host populations. *J Virology*, 2007;81(4):1961-1971.

8- Foley J, Hurley K, Pesavento PA, Poland A, Pedersen NC. Virulent systemic feline Calicivirus infection: local cytokine modulation and contribution of viral mutants. *J Feline Med Surg* 2006;8:55-61.

9- Poulet H, Jas D, Lemeter C, Coupier C, Brunet S. Efficacy of a bivalent inactivated non-adjuvanted feline calicivirus vaccine: Relation between in vitro cross-neutralization and heterologous protection in vivo. *Vaccine* 2008;26:3647-3654.

10- Antonioli L, Colucci R, La Motta C, Tuccori M, Awwad O, Da Settimo F, Blandizzi C, Fornai M. Adenosine deaminase in the modulation of immune system and its potential as a novel target for treatment of inflammatory disorders. *Current Drug Targets*, 2012;13:842-862.

11- Brigida I, Sauer A, Ferrua F, Gianelli S, Scaramuzza S, Pistoia V et al. B-cell development and functions and therapeutic options in adenosine deaminase-deficient patients. *J. Allergy and Clin Immunol*, 2014;133:799-806.

12- Climent N, Martinez-Navio JM, Gil C, Garcia F, Rovia C, Hurtado C et al. Adenosine deaminase enhances T-cell response elicited by dendritic cells loaded with inactivated HIV. *Immunol and Cell Biology* 2009; 87:634-639.

13- Flinn AM, Gennery A. Adenosine deaminase deficiency: a review. *Orphanet J Rare Dis* 2018;13:1-7.

14- Ceron JJ, Tecles F, Tvarijonaviciute A. Serum paraoxonase 1 (PON1) measurement: an update. *BMC Vet Res* 2014;10:1-11.

15- Kulka M. A review of paraoxonase 1 properties and diagnostic applications. *Polish J Vet Sci* 2016;19:225-232.

16- Litvinov D, Mahini H, Garelnabi M. Antioxidant and Anti-Inflammatory Role of Paraoxonase 1: Implication in Arteriosclerosis Diseases. *North Am J Med&Sci* 2012;4(11):523-532.

17- Meazzi S, Ferriani R, Paltrinieri S, Giordano A. Preliminary data about Paraoxonase-1 (PON-1) as a maker for Feline Infectious Peritonitis (FIP). *Int J Health, Anim Sci & Food Safety*, 2018;5(1):1-5.

18- Shunmoogam N, Naidoo P, Chilton R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. *Vascular Health and Risk Management*, 2018;14:137-143.

19- Chiu IM, Huang LC, Chen IL, Tang KS, Huang YH. Diagnostic values of C-reactive protein and complete blood cell to identify invasive bacterial infection in young febrile infants. *Pediatrics and Neonatology* 2019;60:197-200.

- 20- Gökce Hİ ve Bozukluhan K. Çiftlik Hayvanlarında Önemli Akut Faz Proteinleri ve Bunların Veteriner Hekimlikte Alanındaki kullanımı. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* 2009;1(1):1-14.
- 21- Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of inflammation and infection. *Frontiers in Immunology*, 2018;9:1-11.
- 22- Schulz C, Hartmann K, Mueller RS, Helps C, Schulz BS. Sampling sites for detection of feline herpesvirus-1, feline Calicivirus and Chlamydia felis in cats with feline upper respiratory tract disease, *J Feline Med Surg* 2015;17(12):1012-9.
- 23- Akhtardanesh B, Ghalekhani, N, Abshenas J, Nematollahi H, Sharifi H. Serum adenosine deaminase as a diagnostic marker of chronic infectious disease in dogs. *Vet Res* 2013;17:592-595.
- 24- Baba K, Hoosen AA, Langeland N, Dyrhol-Riise AM. Adenosine Deaminase Activity Is a Sensitive Marker for the Diagnosis of Tuberculous Pleuritis in Patients with Very Low CD4 Counts. *PLOSone*, 2018;13:1-5.
- 25- Ellah MRABD, Nishimori K, Goryo M, Okada K, Yasuda J. Serum adenosine deaminase activity in bovine liver diseases, *J Vet Med Sci*, 2004;66(11):1421-1422.
- 26- Kahraman MA, Gökce HI. Investigations of Adenosine Deaminase and C-reactive Protein in Cats with Feline Infectious Peritonitis. *MAE J Health Sci Inst.*, 2020; 8,98-107.
- 27- Rodrigues DSLF, Oliveira, MEF, Teixeira PPM, Cavalcante IJM, Vale MR). Adenosine deaminase activity as a biochemical marker of inflammatory response in goats infected by caprine arthritis–encephalitis virus. *Small Rum Res* 2012;108(1–3):120-126.
- 28- Çırak KA, Tekgül S, Bilaçeroğlu S, Kömürcü B, Uçar MA, Yalnız E. Diagnostic values of pleural fluid, and serum C-reactive protein, Adenosine deaminase, and Lactate dehydrogenase levels and pleural fluid/serum ratios in the differentiation of malignant from benign pleural effusions. *İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi*, 2012;2:75-82.
- 29- Kim JW, Yang IA, Oh AE, Rhyhoo YG, Jang YH . C reactive protein, sialic acid and adenosine deaminase levels in serum and pleural fluid from patients with pleural effusion. *The Korean J Int Med* 1988;3:122-127.
- 30- Novak F, Vavrova L, Kodydkova J, Novak F Sr, Hynkova M, Zak A et al. Decreased paraoxonase activity in critically ill patients with sepsis. *Clin Exp Med* 2010;10:21–25.
- 31- Scavone D, Sgorbini M, Borges AS, Oliveira-Filho JP, Vitale V, Paltrinieri S. Serial measurements of Paraoxonase-1 (PON-1) activity in horses with experimentally induced endotoxemia. *BMC Vet Res* 2020;16:1-7.
- 32- Farid AS, Kazuyuki Honkawa K, Fath EM, Nonaka N, Horii Y. Serum paraoxonase-1 as biomarker for improved diagnosis of fatty liver in dairy cows. *BMC Vet Res*, 2013;9:1-11.
- 33- Rossi G, Giordano A, Pezzia F, Kjelgaard-Hansen M, Paltrin S. Serum paraoxonase 1 activity in dogs: Preanalytical and analytical factors and correlation with C-reactive protein and alpha-2-globulin. *Vet Clin Pathol*, 2013;42:329-341.
- 34- Ruiz-Gonzalez A, Bielsa S, Falguera M, Porcel JM. The Diagnostic Value of Serum C-Reactive Protein for Identifying Pneumonia in Hospitalized Patients with Acute Respiratory Symptoms. *J Biomarkers*, 2016;2016:1-5.
- 35- Kodama J, Miyagi Y, Seki N, Tokumo K, Yoshinouchi M, Kobashi Y et al. Serum C-reactive protein as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian cancer. *European Journal of . Obstetrics&Gynecology* 1999;82:107.

## Mevsim dışında östrus senkronizasyonu uygulanmış kilis çebiçlerinde eCG uygulama zamanının fertilitte üzerindeki etkileri

Mehmet Ferit Özmen<sup>1</sup>, Halit Deniz Şireli<sup>2</sup>, Ümüt Cirit<sup>3</sup>, Elif Merve Çınar<sup>1</sup>, Erkan SAY<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır/TÜRKİYE

<sup>2</sup>Zootekni Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Dicle Üniversitesi, Diyarbakır/TÜRKİYE

<sup>3</sup>Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Çukurova Üniversitesi, Adana/TÜRKİYE

<sup>4</sup>Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Adana/TÜRKİYE

### Anahtar Kelimeler:

eCG  
gebelik oranı  
Kilis Keçisi  
östrus senkronizasyonu  
yavru sayısı

### Key Words:

eCG  
estrus synchronization  
Kilis Goat  
number of offspring  
pregnancy rate

Geliş Tarihi : 02.08.2021

Kabul Tarihi : 27.09.2021

Yayın Tarihi : 31.12.2021

Makale Kodu : 977775

Sorumlu Yazar:

MF. ÖZMEN

(ferit-ozmen@hotmail.com)

ORCID

ÖZMEN MF : 0000-0002-5531-220X

ŞİRELİ HD : 0000-0002-0711-0750

CİRİT Ü : 0000-0002-0187-2615

ÇINAR EM : 0000-0003-0684-7213

SAY E : 0000-0003-0131-5912

### ÖZ

Bu çalışmada, östrus senkronizasyonu uygulanan genç kilis keçilerinde (çebiç) iki farklı zamanda eCG (500 IU) uygulamasının östrus ve gebelik oranları ile yavru sayıları üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Daha önce hiç çiftleşmemiş olan 13-15 aylık 23 çebiçe, üreme sezonu dışında 11 gün süre ile progesteron emdirilmiş süngerler (20 mg flugestone acetate) ve sünger uzaklaştırılmasından 2 gün önce PGF2 $\alpha$  (125 mcg cloprostenol) uygulandı. eCG; 1. gruptaki çebiçlere (n:11, -48. saat grubu) sünger uzaklaştırılmasından 2 gün önce uygulanırken, 2. gruptaki çebiçlere (n:12, 0. saat grubu) sünger uzaklaştırma gününde uygulandı. Tekelerin atlmasına izin veren çebiçler östrusta kabul edildi ve çiftleştirildi. Her iki gruptaki tüm çebiçler östrus gösterdi. Birinci (-48. saat) grubun gebelik (oğlaklama) oranı (sırasıyla %54,6 ve %25,0, P>0,05) ve toplam yavru sayısı (sırasıyla 7 ve 3, P>0,05) ikinci (0. saat) gruptan sayısal olarak daha yüksek bulundu, ancak gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulundu. Çalışmada; gebelik oranı ve toplam yavru sayısındaki sayısal artışın ekonomik değerleri göz önüne alındığında, Kilis çebiçlerinde üreme mevsimi dışında eCG'nin sünger uzaklaştırılma zamanından ziyade, sünger çıkarılmasından 48 saat önce uygulanmasının daha faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır.

### Effects of eCG application time on fertility in off-season estrus synchronized Kilis goat kids

### ABSTRACT

In the study, the effects of eCG (500 IU) administration at two different times on estrus and pregnancy rates and the number of offspring were investigated in estrus-synchronized goat kids. Twenty three kilis goat kids 13-15 months old that had never mated before were treated out of the breeding season with a progesterone sponge (20 mg flugestone acetate) for 11 days and PGF2 $\alpha$  (125 mcg cloprostenol) two days before sponge removal. While eCG was applied to kids in group 1 (n:11, hour -48 group) two days before sponge removal, it was applied to kids in group 2 (n:12, hour 0 group) on the day of sponge removal. Goat kids that allowed the bucks to jump were considered estrus and mated. All kids in both groups showed estrus. The pregnancy (kidding) rate (54.6% vs. 25.0%, respectively, P>0.05) and total number of offspring (7 vs. 3, respectively, P>0.05) of the 1. (hour -48) group were found numerically higher than the 2. (hour 0) group, but the differences between the groups were not statistically significant. Considering the economic values of numerical increase in the pregnancy rate and the total number of offspring, it was concluded that it may be more beneficial to apply eCG 48 hours before the sponge removal rather than at the time of sponge withdrawal out of the breeding season in Kilis goat kids.

### GİRİŞ

Kilis keçileri ülkemizde özellikle Kilis, Gaziantep, Adana, Adıyaman, Mersin ve Hatay civarında yoğun olarak yetiştirilmektedir. Kıl keçilerine göre süt ve döl verimi yüksek olmasının yanında kıl keçisi yetiştirilen alanlarda ekstansif ya da yarı entansif şartlarda da yetiştirilebilmektedir (1). Artan gıda talebi dikkate alındığında bu özellikleri kilis keçisi yetiştiriciliğinin daha yaygın bir şekilde yapılmasını cazip hale getirmektedir.

Keçiler cinsel erginliğe (pubertaya) 5-10 aylık yaşlarda, damızlıkta kullanılma yaşına (yetiştirme olgunluğuna) ise 9-15 aylık yaşlarda erişirler (2). Keçiler mevsime bağlı poliöstrik hayvanlardır. Keçilerde seksüel siklus ortalama 21 gün olup proöstrus ( 2 gün), östrus (1-2 gün), metöstrus (2-3 gün) ve

diöstrus (14-15 gün) aşamalarından oluşmaktadır. Seksüel dinlenme dönemi olan anöstrus dönemi günlerin uzamaya başladığı kış sonundan yaz ortalarına kadar sürebilir (3). Yetiştirme olgunluğuna erişmiş olsalar bile kızgınlık mevsiminde olmayan dişiler doğal olarak çiftleşemez ve gebe kalmaz bu durum ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Kızgınlıkların uyarılması, doğum zamanının kontrol edilebilmesi, gebeliklerin bir araya toplanabilmesi ya da birden çok yavru alınabilmesi amaçlarıyla östrus senkronizasyonu ve süperovulasyon programları uygulanabilmektedir (4, 5, 6). Bu amaçla progesteron emdirilmiş sünger veya vagina içi araçlar (CIDR) ile eCG, hCG hormonları kullanılarak senkronizasyon programları uygulanabilmektedir (7). Geleneksel olarak siklusun luteal dönemini kontrol etmek amaçlı 10-16 gün süre ile progesteron ve tü-

revleri uygulanması ile tasarlanan senkronizasyon programları, şimdilerde modifiye edilerek progesterona maruz kalınan süre kısaltılmaktadır (8, 9). Bu hormonlar corpus luteumu taklit eder ve hipofizin ön lobuna negatif geri bildirim yaparak seksüel siklusu başlatan gonadotropik hormonların salınımını engeller. Hormon kaynağı vücuttan uzaklaştırılınca bu engel ortadan kalkarak siklusun başlaması için gereken hormonlar (FSH, LH) dolaşıma karışır ve akabinde kızgınlık ve ovulasyon gelişir (10, 11). Gebe kısarak serum gonadotropini (eCG), süperovulasyon uygulamalarında çokça kullanılan, kısaraklarda gebeliğin 40 ile 130. günlerinde fetal trofoblast hücrelerinden elde edilen bir glikoproteindir (12, 13). Çalışmalar eCG'nin hem FSH hem de LH hormonlarının aktivitesini gösterebildiğini ortaya koymuştur (14).

eCG yüksek sialik asit içermekte (15) ve hipofiz kaynaklı diğer hormonlar ile kıyaslandığında daha uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir. eCG, maliyetinin düşük olması ve aynı amaçla kullanılan fakat genellikle domuzdan elde edilen FSH'nin bazı ülkelere ithalatının yasak olması sebebiyle daha rahat bulunabilmesi gibi avantajlara da sahiptir (16).

Sunulan çalışmada, yetiştirme olgunluğuna erişmiş, daha önce çiftleşmemiş Kilis çebicilerinde üreme mevsimi dışında kızgınlık oluşturmak amacıyla kullanılan intravaginal sünger uygulaması ile beraber 500 IU eCG'nin sünger çıkarılmasından 48 saat önce (-48. saat) ve sünger çıkarma gününde (0. saat) uygulanmasının kızgınlık oluşumu, tekli gebelik ve ikiz gebelik üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma üreme mevsimi dışında mart ayı başlangıcında Diyarbakır İlinde bir hayvancılık işletmesinde bulunan yaşları 13-15 aylık olan ve daha önce hiç çiftleşmemiş 23 adet Ki-

tüm çebicilere 11 gün boyunca intravaginal progesteron içeren sünger (20 mg flugeston asetat, Chronogest CR, MSD) yerleştirildi, sünger uzaklaştırılmasından 2 gün önce PGF2 $\alpha$  (125 mcg, Estrumate, MSD) intramusküler uygulandı. Keçiler daha sonra 2 gruba ayrıldı. 1. gruba (n:11) 9. gün PGF2 $\alpha$  uygulaması ile beraber yani -48. saatte 500 IU eCG (Chrono-Gest / PMSG, MSD) intramusküler uygulandı. 2. gruba (n: 12) sünger çıkarımıyla beraber yani 0. saatte, 500 IU eCG (Chrono-Gest / PMSG, MSD) intramusküler uygulandı. Sünger uzaklaştırılmasından sonra 6 saat aralıklarla fertil tekeler aracılığıyla östrus tespiti yapıldı. Östrusta olduğu belirlenen çebiciler 5 adet teke ile bir teke en fazla 5 adet çebic ile çiftleşecek şekilde elde sıfat yöntemiyle çiftleştirildi. Tüm çebiciler çiftleştirildikten sonra erkekler sürüden uzaklaştırılıp ayrı bir bölmeye alındı.

Gebelik süresi bitiminde doğum yapan keçiler gebe kabul edildi ve kuzu sayıları kayıt altına alındı.

### İstatistiksel Analiz

Gebelik oranlarının gruplar arasındaki karşılaştırılmasında Chi-square analiz yöntemi kullanıldı

## BULGULAR

Her bir çalışma grubu için östrus senkronizasyonu sonrası arama tekeleri vasıtasıyla kızgınlığı tespit edilen ve çiftleşen çebic sayıları, gebe olan çebic sayıları, ikiz gebelik sayısı ve doğan oğlak sayıları Tablo 1 de verilmiştir. Programa alınan tüm çebicler kızgınlık göstermiş ve çiftleşmiştir. 1. grupta gebe çebic sayısı 6 iken 2. grupta 3 çebic gebe kalmıştır. 1. grupta bir çebic ikiz doğum yapmış, 2. grupta ikiz doğum meydana gelmemiştir. 1. gruptaki gebe çebicler 7 oğlak; 2. gruptaki gebe çebicler 3 oğlak doğurmuştur. Değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

**Tablo 1.** Kızgınlık gösteren çebic sayısı, gebe çebic sayısı, ikiz gebelik sayısı ve oğlak sayısı.

eCG uygulama zamanı	Gruptaki çebic sayısı	Kızgınlık gösteren/ çiftleşen çebic sayısı	Gebe çebic sayısı	İkiz gebelik sayısı	Oğlak sayısı	P değeri
1. Grup (48.saat grubu)	11	11 (%100)	6 (%54.6)	1 (%9)	7	Ös
2. Grup (0. saat grubu)	12	12 (%100)	3 (%25)	0	3	

lis çebici üzerinde yürütüldü. Ağırlıkları 20-25 kg, kondisyon puanı 2.5- 3 olan çebicler gündüz merada otlatılmış ve akşam 400 gr kesif yem verilmiştir. Östrus senkronizasyonu amacıyla

## TARTIŞMA

Mevsim dışında östrus oluşturmak için progesteron içeren

vaginal sünger ve eCG uygulaması içeren protokoller yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak progesteron uygulamaları ile birlikte kullanılacak olan eCG'nin dozu ve uygulama zamanı konusunda farklı uygulamalar bulunmaktadır. Yayınlanmış çalışmalar incelendiğinde keçilerde kullanılan eCG dozunun 200 IU ile 1000 IU arasında; uygulama zamanının da progesteron kaynağı uzaklaştırılmasından 48 saat önce ile uzaklaştırılma anı (0. saat) arasındaki zaman aralığı olduğu görülmektedir (8, 17-22).

Çalışmamızda, yetiştirme olgunluğuna erişmiş kilis çebicilerinde üreme mevsimi dışında östrus senkronizasyonu amacıyla 11 gün süreyle intravaginal sünger uygulanmış daha sonra hayvanlar iki gruba ayrılmıştır. Birinci gruba 9. gün (-48. saat) ikinci gruba 11. gün yani sünger çıkarım anında (0. saat) 500 IU eCG uygulanmıştır. Çebicilerin kızgınlığa gelme, gebe kalma ve ikiz doğum yapma oranları karşılaştırılmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm çebiciler kızgınlık göstermiş ve çiftleşmiştir. Birinci gruptaki çebicilerde gebe çebic sayısı 6 iken ikinci grupta 3 çebic gebe kalmıştır. Birinci grupta 1 çebic ikiz doğurmuş ikinci grupta ikiz doğum geçekleşmemiştir. Oğlak sayısı birinci grupta 7 iken ikinci grupta 3 adet oğlak doğmuştur. Sonuçlar arasındaki farklar muhtemelen gruplardaki hayvan sayısı azlığından dolayı istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

Sarıbay ve ark. (2008) (23), Chao ve ark. (2008) (24) ve Kılboz ve Karaca (2010) (8) üreme sezonu dışında keçilere uyguladıkları senkronizasyon çalışmalarında tüm hayvanların kızgınlık gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da gruplardaki tüm hayvanlar kızgınlık göstermiştir. Armstrong ve ark. (1982) (17) anöstrus dönemindeki keçilere süngerin uzaklaştırılmasından 48 saat önce ve sünger çıkarılmasıyla beraber, 400 IU ve 1000 IU eCG uyguladıkları çalışmalarında en yüksek kızgınlık görülme oranının hem 48 saat önce hemde sünger çıkarılmasıyla beraber 1000 IU uygulanan gruplardan benzer olarak % 78 oranında alındığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda benzer zamanlarda uygulanan 500 IU eCG sonucunda iki grubumuzda da %100 kızgınlık görülerek daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Sonuçlar arasındaki farklar çalışmada kullanılan keçilerin ırkına, bakım ve besleme koşullarına kullanılan eCG miktarları arasındaki farklılıktan kaynaklı olabilir.

Gül ve arkadaşları (2020)(22), Kilis keçilerinde çift PGF2 $\alpha$  kullanılarak yapılan östrus senkronizasyon programında son uygulamadan 24, 18, 12, 6 saat önce ve 0. saatlerde uygulanan 500 IU eCG sonucunda en yüksek tekli doğum oranını -18 saat grubunda (%66,7), en yüksek ikiz doğum oranının -12 saat grubunda (%53,8) görüldüğünü bildirmişlerdir. Çalışmamızda -48. saat grubunda hem tekli doğum hem ikiz doğum oranları 0. saat grubundan daha yüksek bulunmuştur. Uygulama dönemleri ve kullanılan yöntemlerin farklı olduğu her iki çalışmada da 0. saat öncesi yapılan eCG uygulamalarında 0. saatte yapılan uygulamalardan daha iyi sonuçlar alınmıştır. Kulaksız ve ark. (2013)(25), üreme mevsiminde en az bir doğum yapmış Ankara keçilerinde yaptıkları çalışmalarında 11 gün süre ile intravaginal progesteron, 9. gün 400 IU eCG ve PGF2 $\alpha$  uyguladıkları çalışma grubunda gebelik oranını % 81.8, ikizlik oranını %27.3 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda 9. gün 500 IU eCG uygulanan grubumuzun sonuçları incelendiğinde gebelik oranı %54.6, ikizlik oranı %9'dur. Çalışma sonuçları arasındaki

farklar çalışmada kullanılan keçilerinin yaşları, çalışmanın aşım mevsimi içinde yapılması ve uygulanan eCG dozunun farklılığından kaynaklanmış olabilir. Ritar ve ark. (1989) (18) üreme sezonunda progesteron uygulaması ile birlikte 0. saatte ve -48. saatte 200 ve 400 IU eCG uyguladıkları çalışmalarında -48. saatte 400 IU eCG uygulamasının gebelik oranının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda da -48. saatte uygulanan 500 IU eCG gebelik oranını yükseltmiştir.

## SONUÇ

Çalışmamızdan sonuç olarak Kilis çebicilerinde mevsim dışı senkronizasyon uygulamalarında -48. saatte 500 IU eCG kullanımının 0. saatte uygulamaya göre kızgınlık oluşumunu etkilemediği gebelik ve ikizlik oranını sayısal olarak artırdığı belirlenmiştir. Mevsim dışında yetiştirme olgunluğuna erişmiş çebicilerin üretime katılması, gebelik ve ikizlik oranının ekonomik değerleri göz önünde bulundurulduğunda Kilis çebicilerinde mevsim dışında intravaginal progesteron kullanılarak yapılacak östrus senkronizasyon programlarında -48. saatte 500 IU eCG uygulamasının faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır.

## BEYANNAMELER

### Etik onayı ve katılma onayı

Bu çalışma için Dicle Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Uygulama Ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Etik Kuruluna yapılan başvuruda etik kurul iznine gerek olmadığı kararı verilmiştir (26/02/2020-25197).

### Yazar katkıları

MFÖ, HDŞ ve ÜC çalışmanın planlamasını yaptı. MFÖ ve HDŞ çalışma uygulamalarını yaptı ve verileri kayıt etti. MFÖ, EMÇ, ÜC ve ES verileri yorumladı ve çalışmanın yazılmasına katkıda bulundu. Tüm yazarlar son makaleyi eleştirel olarak inceledi ve düzenledi.

### Finansman

Herhangi bir kuruluştan finansal destek alınmamıştır.

### Çıkar çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

### Veri kullanılabilirliği

Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talep üzerine sorumlu yazardan temin edilebilir.

## KAYNAKLAR

- Özdemir FH, Keskin M. Kilis ve Gaziantep illerinde yetiştirilen Kilis keçilerinin bazı morfolojik ve fizyolojik özellikler bakımından karşılaştırılması. MKU. Tar. Bil. Derg. 2018;23(1):115-123.
- Aköz M, Bodu M, Acibaeva B. Koyun ve Keçilerde Östrus senkronizasyonunda güncel yöntemler. Türkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin-Special Topics. 2015;1(2):1-8.
- Canoğlu E, Sarıbay K (2012). Üreme Kanalının Morfolojisi ve Üreme Fizyolojisi. İçinde: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A (editörler). Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji.1. Baskı: Medipres Matbaacılık Yayıncılık

Ltd. Şti; 2012. p. 521-548.

4. Dogan I, Konyalı A, Gunay U, Yurdabak S. Comparison of the effect of cronolone sponges and PMSG or cloprostenol on estrous induction in Turkish Saanen goats. *Pol J Vet Sci.* 2008;11(1):29-34.

5. Üstüner B, Ertürk M Alçay S, Tuna B, Üstüner H, Nur Z (2010). Keçilerde progesteron destekli Co-Synch senkronizasyon metodu ve tohumlama dozunun gebelik oranı üzerine etkisi. *Uludağ Univ J Fac Vet Med.* 2010;29 (1):27-31.

6. Erarslan C, Karaca F. Üreme mevsiminde vajinal sünger ve kulak implantı uygulamalarıyla senkronize edilen kıl keçilerinde farklı zamanlarda yapılan servikal tohumlamaların gebelik oranlarına etkisi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg.* 2017;12(1):63-70. DOI: 10.17094/ataunivbd.309776.

7. Moore NW. Multiple ovulation and ovum transfer in the goat. *Proc Aust Sot Anim Prod.* 1974;10:246-249. DOI: 10.10371/RD04033.

8. Kılboz Eİ, Karacan F. Üreme mevsimi dışında genç keçilerde Flugeston Asetat vaginal sünger ve Norgestomet kulak implantı uygulamalarıyla östrüslerin uyarılması. *YYU Vet Fak Derg.* 2010;21(1):1-6.

9. Hameed N, Irfan-ur-Rehman Khan M, Ahmad W, Abbas M, Murtaza A, Shahzad M, et al. Follicular dynamics, estrous response and pregnancy rate following GNRH and progesterone priming with or without eCG during non-breeding season in anestrus Beetal goats. *Small Rumin Res.* 2020;182:73-77. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2019.106026.

10. Abecia JA, Forcada F, Gonzáles-Bulnes A. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Anim Reprod Sci.* 2012;130(3-4):173-179. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2012.01.011.

11. İbiş M, Ağaoğlu AR. Koyun ve keçilerde üremenin senkronizasyonu. *MAE Vet Fak Derg.* 2016;(2):47-53.

12. Cole HH, Hart GH. The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. *Am J Physiol.* 1930;93:57-68. DOI: 10.1152/ajplegacy.1930.93.1.57.

13. Allen WR, Moor RM. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *J Reprod Fertil.* 1972;29:313-336. DOI: 10.1530/jrf.0.0290313.

14. Papkoff H. Chemical and biological properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotrophin. *Biochem Biophys Res Commun.* 1974;58:397-404. DOI: 10.1016/0006-291X(74)90378-7.

15. Schams D, Papkoff H. Chemical and immunochemical studies on pregnant mare serum gonadotropin. *BBA Protein Structure.* 1972;263(1):139-148. DOI:10.1016/0005-2795(72)90168-7.

16. Alfurajji MM, Atkinson T, Broadbent PJ, Hutchinson JSM. Superovulation in cattle using PMSG followed by PMSG-monoclonal antibodies. *Anim Reprod Sci.* 1993;33:99-109.

DOI: 10.1016/0378-4320(93)90109-5.

17. Armstrong DT, Pfitzner AP, Porter KJ, Warnes GM, Janson PO, Seamark RF. Ovarian responses of anoestrous goats to stimulation with pregnant mare serum gonadotrophin. *Anim Reprod Sci.* 1982;5:15-23. DOI: 10.1016/0378-4320(82)90033-1.

18. Ritar AJ, Salamon S, Ball PD, O'may PJ. Ovulation and fertility in goats after intravaginal device-PMSG treatment. *Small Rumin Res.* 1989;2:323-331. DOI: 10.1016/0921-4488(89)90027-8.

19. Ritar AJ, Robertson JA, Ewans G. Ovulatory activity, hormonal induction of ovulation and fertility of young Cashmere and Angora female goats in a temperate environment. *Reprod Fertil Dev.* 1994;6:737-747. DOI: 10.1071/rd9940737.

20. Pintado B, Gutierrez-Adan A, Perez Llano B. Superovulatory response of Murciana goats to treatments based on PMSG/Anti-PMSG or combined FSH/PMSG administration. *Theriogenology.* 1998;50:357-364. DOI: 10.1016/S0093-691X(98)00145-9.

21. Karaca F, Tasal I, Alan M. Preliminary report on induction of estrus with multiple eCG injections in colored mohair goats during the anestrus season. *Anim Reprod Sci.* 2009;114:306-310. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2008.08.010.

22. Gül S, Keskin M, Gündüz Z, Güzey YZ, Yıldırım H. The effect of PMSG hormone application on reproductive efficiency in different periods in Kilis goats together with PGF2 $\alpha$ . *JASP.* 2020;3(1):1-6.

23. Sarıbay MK, Doğruer G, Ergün Y, Karaca F, Ateş CT. Üreme sezonu dışında laktasyondaki kıl keçilerinde flourogestone acetat içeren vaginal süngerlerle östrüslerin uyarılması; GnRH ve hCG uygulamalarının döl verimi üzerine etkisi. *Vet Bil Derg.* 2008;24(1);21-27.

24. Chao ML, Takayama K, Nakanishi Y, Hamana K, Takagi M, Kubuta C, et al. Luteal lifespan and fertility after estrus synchronization in goats. *J Vet Sci.* 2008;9:95-101.

25. Kulaksız R, Uçar Ö, Daşkın A. Ankara keçilerinde sezon-içi östrus senkronizasyonu amacıyla çift doz FGA sünger veya bölünmüş eCG uygulamalarının üreme özellikleri üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg.* 2013;8(1),1-8.

# Histological and histometric study of the small intestine in Stara Zagora white turkey in age aspect

David Yovchev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Anatomy, Histology and Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, Stara Zagora/BULGARIA

## Key Words:

histology  
histometry  
small intestine  
Stara Zagora white turkey

Received : 03.08.2021  
Accepted : 26.10.2021  
Published Online : 31.12.2021  
Article Code : 978101

Correspondence:  
D. YOVCHEV  
(vetjovchev@yahoo.com)

ORCID:  
D. YOVCHEV : 0000-0003-4357-0858

## ABSTRACT

Thirty clinically healthy Stara Zagora white turkeys (15 females and 15 males) were used for the study. Eighteen tissue samples (six from the middle of each segment of the small intestine) of the appropriate age group were used to prepare permanent histological specimens. The histological sections were stained by Masson - Goldner method. The small intestine of the Stara Zagora white turkey was composed of four tissue layers: *tunica mucosa*, *tunica submucosa*, *tunica muscularis* and *tunica serosa*. *Tunica mucosa* had *lamina epithelialis*, *lamina propria* and *lamina muscularis mucosae*. The layers of the mucosa formed well-defined intestinal villi - villi intestinales. *Lamina epithelialis* was composed of highly differentiated simple columnar epithelium. *Tunica mucosa* in the three segments of the small intestine had clearly distinct tubular glands - *gll. Intestinales*. The histometric results showed that the growth of the mucosal structures and the mucosa was more intense in the first twenty-eight days, compared to the growth of the other layers of the intestinal wall. The most intense was the increase in the height and area of the intestinal villi. The height of the intestinal villi varied most markedly during the first twenty-eight days of the duodenal examination, while the area of the villi increased most in the jejunum, followed by the ileum and duodenum. The height of the intestinal epithelium increased most intensively 2.3 times in the jejunum mucosa. The thickness of the jejunal mucosa increased the most during this period, compared to the mucosa of the duodenum ileum.

## INTRODUCTION

Morphometric studies of internal organs in *Anseriformes* found a variable change in the length of the tubal organs-esophagus and intestine (1, 2, 3).

Objective data regarding the development of the intestine in quails, ducks, geese and guinea fowl were obtained using statistical methods (4, 5, 6, 7).

The length of the body in marine ducks and the volume of the organs that construct their digestive system are directly proportional to the food components and the type of diet (8).

All digestive organs of the duck, with the exception of the esophagus, reach peak growth levels earlier than the body weight of the birds (9).

The microscopic anatomy of the digestive system in poultry is governed by certain principles. The tubular digestive organs have highly differentiated epithelial cells on their inner surface, surrounded by loose fibrous connective and muscle tissue. This is the so-called mucosal layer (10, 11).

The basic structure of the ileum in the domestic turkey does not differ from that of the duodenum and the jejunum. The villi in the ileum are shorter and few in number, compared to the same structures in the duodenum and jejunum. The goblet cells are the most numerous (12).

On histological study is found that the small intestine of the Bronze Turkey has four layers: *tunica mucosa*, *tunica submucosa*, *tunica muscularis* and *tunica serosa*. *Tunica mucosa* has *lamina epithelialis*, *lamina propria* and *lamina muscularis mucosae*. Intestinal villi are mucous formations on the luminal surface of the intestinal wall. *Lamina epithelialis* is composed of a single layer of columnar epithelium. On the first day after hatching, the epithelial cells are oval in shape, which later acquire a columnar shape with pronounced morphological polarity. The height and width of the intestinal villi increase with age. These changes are observed in the three segments of the small intestine (duodenum, jejunum and ileum). The height of the intestinal villi in the jejunum and ileum is higher than in the duodenum. At the same time, the increase in the width and height of the villi corresponds to the increase in the absorption surface. The values of the area of the villi are directly proportional to the changes in their width and height. The intensity of growth of intestinal crypts in the first 90 days has similar trends in the duodenum, and the fastest growth rates have been found for crypts in the ileum. The ratio of the height of the intestinal villi to the depth of the crypts increases in the first 28 days for all segments of the small intestine (12)

The height of the intestinal villi in the duodenum and jejunum in the bronze turkey throughout the study period increases 7.8 times, while the same indicator in the ileum - 6.4 times. During the period from the 1st to the 35th day the fastest growth rate of the width of the intestinal villi was



found in the duodenum - 2.6 times, and with the weakest rate the same indicator was reported in the ileum - 1.9 times. The obtained data for the area of the villi are directly proportional to the changes in the width and height of the studied intestinal structures. The values concerning the depth of the intestinal crypts in the duodenum, jejunum and ileum increase more intensively in the first 90 days after hatching. The fastest growth rates are characteristic of the crypts in the ileum (12).

## MATERIAL and METHODS

Thirty clinically healthy Stara Zagora white turkeys (15 females and 15 males) were used for the study.

Eighteen tissue samples (six from the middle of each segment of the small intestine) of the appropriate age group were used to prepare permanent histological specimens. The resulting tissue samples were fixed in 8% aqueous formaldehyde solution (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). After fixation, they were washed under running water, dehydrated in ascending ethanol series, clarified in xylene and embedded in paraffin. Using a YD-335A rotary microtome (J. Y. M. A. Ltd., China), sections 5 to 7  $\mu\text{m}$  thick were made and stained by Masson - Goldner method. Histological samples were observed with a Leica DM 1000 light microscope.

Structures from five histological sections obtained from each tissue sample were selected and measured. Micrometric measurements were processed using LAS V4.10 software for Leica DM 1000 light microscope.

The one-way ANOVA method was chosen for statistical processing of the obtained data, and for this purpose we used StatView v. 4.53 for Windows (Abacus Concepts, Inc). Statistically significant differences between the mean values of the age groups were determined at  $P < 0.05$  (13).

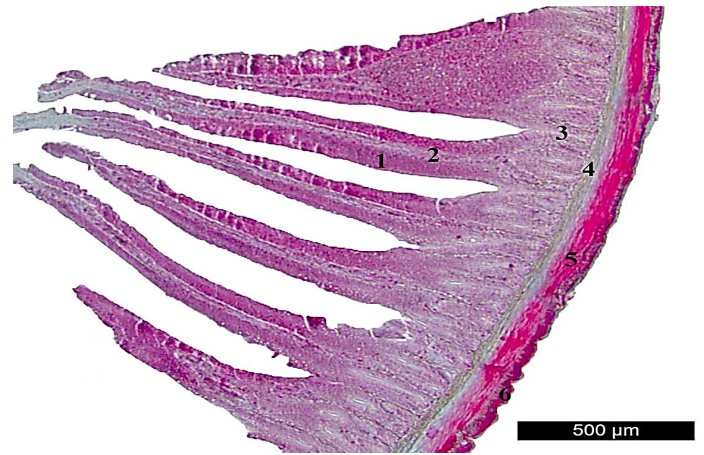
The results obtained were interpreted in accordance with the histological terminology (14).

The requirements of the normative regulations were observed - Ordinance No 36 of March 23, 2006, promulgated. in SG, No 35 of 28. 04. 2006 and Ordinance No 8, promulgated, SG, iss. 4 of 16. 01. 2004, amended and add., No. 19 of 13 March 2015. The experiments were performed in strict accordance with the rules of the ethics committee at Trakia University, Stara Zagora.

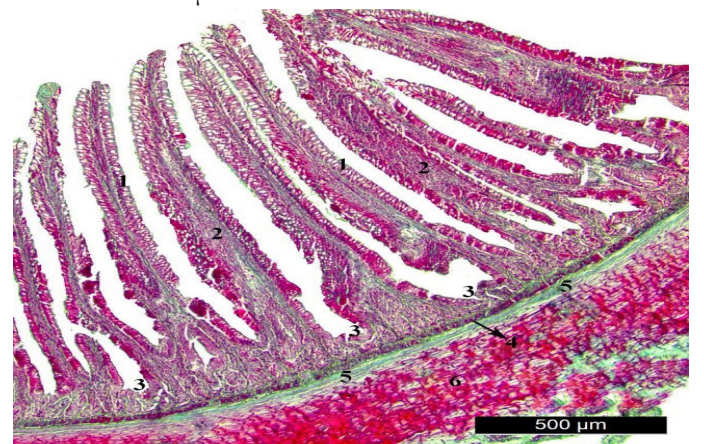
## RESULTS

The small intestine of the Stara Zagora white turkey was composed of four tissue layers: *tunica mucosa*, *tunica submucosa*, *tunica muscularis* and *tunica serosa*. *Tunica mucosa* had *lamina epithelialis*, *lamina propria* and *lamina muscularis mucosae*. The layers of the mucosa formed well-defined intestinal villi - villi intestinales. *Lamina epithelialis* was composed of highly differentiated simple columnar epithelium. *Tunica mucosa* in the three segments of the small intestine had clearly distinct tubular glands - *gll. intestinales* (Liberkyun glands) (Figure 1, Figure 2 and Figure 3).

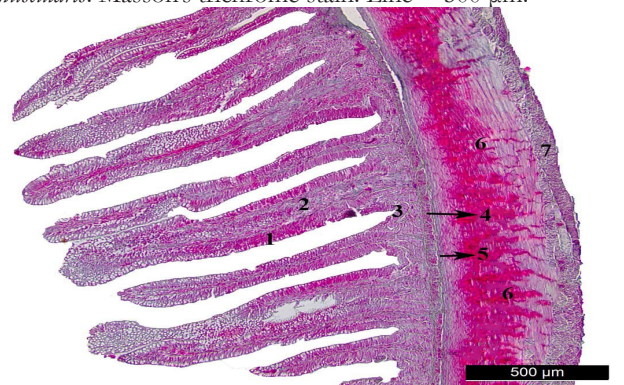
Analysis of the histometric results showed that the growth of the mucosal structures and the mucosa as a whole was more



**Figure 1.** Duodenum in Stara Zagora white turkeys (age – thirty-five days). (1) *lamina epithelialis mucosae*; (2) *lamina propria mucosae*; (3) intestinal crypt; (4) *tunica submucosa*; (5) *tunica muscularis* – internal sublayer; (6) *tunica muscularis* – external sublayer. Masson's trichrome stain. Line = 500  $\mu\text{m}$ .



**Figure 2.** Jejunum in Stara Zagora white turkeys (age – thirty-five days). (1) *lamina epithelialis mucosae*; (2) *lamina propria mucosae*; (3) intestinal crypt; (4) *lamina muscularis mucosae*; (5) *tunica submucosa*; (6) *tunica muscularis*. Masson's trichrome stain. Line = 500  $\mu\text{m}$ .



**Figure 3.** Ileum in Stara Zagora white turkeys (age – thirty-five days). (1) *lamina epithelialis mucosae*; (2) *lamina propria mucosae*; (3) intestinal crypt; (4) *lamina muscularis mucosae*; (5) *tunica submucosa*; (6) *tunica muscularis* – internal sublayer; (7) *tunica muscularis* – external sublayer. Masson's trichrome stain. Line = 500  $\mu\text{m}$ .

intense in the first twenty-eight days, compared to the growth of the other layers of the intestinal wall. The most intense was the increase in the height and area of the intestinal villi, and the weaker was the increase in the depth of the crypts and the height of the mucosal epithelium. The height of the intestinal villi varied most markedly during the first twenty-eight days of the duodenal examination, while the area of the villi increased

**Table 1.** Histometric parameters of some duodenal structures in Stara Zagora white turkey (mean  $\pm$  SEM)

Duodenal structures	Age (days)						
	1	7	14	28	35	49	56
Height of villus	186.05 $\pm$	285.25 $\pm$	356.14 $\pm$	752.36 $\pm$	1045.25 $\pm$	1210.25 $\pm$	1235.89 $\pm$
	9.04 <sup>a</sup>	11.48 <sup>b</sup>	10.28 <sup>a</sup>	15.85 <sup>a</sup>	28.36 <sup>a</sup>	85.69 <sup>a</sup>	69.58 <sup>a</sup>
Depth of crypts	36.89 $\pm$	76.18 $\pm$	82.35 $\pm$	125.5 $\pm$	185.65 $\pm$	288.36 $\pm$	304.58 $\pm$
	5.14 <sup>b</sup>	6.16 <sup>a</sup>	10.25 <sup>b</sup>	12.33 <sup>b</sup>	9.36 <sup>b</sup>	12.36 <sup>b</sup>	26.36 <sup>c</sup>
Height of epithelium	15.17 $\pm$	20.58 $\pm$	22.35 $\pm$	25.36 $\pm$	27.85 $\pm$	32.25 $\pm$	35.96 $\pm$
	1.17 <sup>c</sup>	0.96 <sup>c</sup>	1.25 <sup>c</sup>	2.25 <sup>a</sup>	2.96 <sup>c</sup>	2.35 <sup>c</sup>	2.48 <sup>c</sup>
Villus area	407.63 $\pm$	679.85 $\pm$	845.58 $\pm$	1432.25 $\pm$	2218.36 $\pm$	2395.65 $\pm$	2578.36 $\pm$
	65.36 <sup>a</sup>	79.36 <sup>a</sup>	72.25 <sup>a</sup>	125.58 <sup>c</sup>	124.85 <sup>c</sup>	112.32 <sup>c</sup>	152.28 <sup>a</sup>
Tunica mucosae	201.25 $\pm$	365.85 $\pm$	437.48 $\pm$	895.62 $\pm$	1014.35 $\pm$	1420.25 $\pm$	1432.88 $\pm$
	24.58 <sup>b</sup>	26.58 <sup>b</sup>	19.85 <sup>c</sup>	24.45 <sup>a</sup>	85.25 <sup>a</sup>	105.25 <sup>a</sup>	110.25 <sup>c</sup>
Tunica submucosae	5.25 $\pm$	8.14 $\pm$	17.85 $\pm$	19.25 $\pm$	21.45 $\pm$	23.45 $\pm$	25.85 $\pm$
	0.14 <sup>c</sup>	0.98 <sup>a</sup>	1.25 <sup>b</sup>	2.04 <sup>b</sup>	0.99 <sup>b</sup>	1.28 <sup>b</sup>	1.48 <sup>a</sup>
Tunica muscularis – internal sublayer	66.25 $\pm$	82.58 $\pm$	97.58 $\pm$	125.85 $\pm$	146.28 $\pm$	186.36 $\pm$	209.58 $\pm$
	2.56 <sup>a</sup>	3.25 <sup>c</sup>	2.89 <sup>a</sup>	5.65 <sup>c</sup>	7.89 <sup>c</sup>	8.16 <sup>c</sup>	6.96 <sup>c</sup>
Tunica muscularis – external sublayer	21.25 $\pm$	28.92 $\pm$	38.25 $\pm$	40.02 $\pm$	52.24 $\pm$	63.28 $\pm$	60.91 $\pm$
	0.55 <sup>c</sup>	1.02 <sup>a</sup>	1.25 <sup>c</sup>	2.15 <sup>c</sup>	2.84 <sup>c</sup>	3.02 <sup>a</sup>	3.92 <sup>b</sup>

**Table 2.** Histometric parameters of some jejunal structures in Stara Zagora white turkey (mean  $\pm$  SEM)

Jejunal structures	Age (days)						
	1	7	14	28	35	49	56
Height of villus	118.58 $\pm$	225.58	318.48 $\pm$	450.25 $\pm$	478.58 $\pm$	560.23 $\pm$	985.25 $\pm$
	10.25 <sup>a</sup>	9.85 <sup>b</sup>	10.23 <sup>a</sup>	8.56 <sup>b</sup>	12.35 <sup>a</sup>	48.25 <sup>b</sup>	96.36 <sup>a</sup>
Depth of crypts	20.34 $\pm$	38.58 $\pm$	63.85 $\pm$	90.25 $\pm$	125.85 $\pm$	156.89 $\pm$	185.95 $\pm$
	0.24 <sup>b</sup>	0.38 <sup>a</sup>	0.98 <sup>b</sup>	1.25 <sup>a</sup>	2.14 <sup>b</sup>	4.17 <sup>a</sup>	6.17 <sup>b</sup>
Height of epithelium	10.28 $\pm$	16.58 $\pm$	20.58 $\pm$	23.65 $\pm$	25.14 $\pm$	30.76 $\pm$	32.25 $\pm$
	0.24 <sup>a</sup>	0.58 <sup>b</sup>	0.75 <sup>a</sup>	1.12 <sup>b</sup>	1.52 <sup>a</sup>	2.02 <sup>b</sup>	1.65 <sup>a</sup>
Villus area	3568.58 $\pm$	14587 $\pm$	16854.35 $\pm$	28547.58 $\pm$	36958.59 $\pm$	47158.25 $\pm$	50284.24 $\pm$
	125.85 <sup>b</sup>	185.25 <sup>a</sup>	198.58 <sup>b</sup>	214.74 <sup>a</sup>	617.84 <sup>b</sup>	624.25 <sup>a</sup>	785.59 <sup>b</sup>
Tunica mucosae	131.25 $\pm$	299.65 $\pm$	396.58 $\pm$	614.28 $\pm$	728.58 $\pm$	1068.98 $\pm$	1289.65 $\pm$
	5.65 <sup>c</sup>	4.16 <sup>c</sup>	4.58 <sup>c</sup>	9.18 <sup>b</sup>	8.97 <sup>c</sup>	25.85 <sup>b</sup>	35.69 <sup>c</sup>
Tunica submucosae	8.54 $\pm$	13.25 $\pm$	19.56 $\pm$	21.58 $\pm$	25.98 $\pm$	30.25 $\pm$	35.98 $\pm$
	0.24 <sup>a</sup>	0.58	0.92 <sup>a</sup>	1.58 <sup>c</sup>	2.16 <sup>a</sup>	3.13 <sup>c</sup>	3.55 <sup>a</sup>
Tunica muscularis – internal sublayer	56.24 $\pm$	68.58 $\pm$	82.56 $\pm$	115.58 $\pm$	143.59 $\pm$	187.25 $\pm$	202.58 $\pm$
	1.24 <sup>c</sup>	2.05 <sup>a</sup>	2.58 <sup>b</sup>	4.12 <sup>a</sup>	5.15 <sup>b</sup>	6.18 <sup>a</sup>	7.14 <sup>b</sup>
Tunica muscularis – external sublayer	17.19 $\pm$	24.25 $\pm$	28.59 $\pm$	32.59 $\pm$	35.92 $\pm$	58.24 $\pm$	76.62 $\pm$
	0.25 <sup>a</sup>	0.28 <sup>b</sup>	0.65 <sup>c</sup>	1.09 <sup>b</sup>	1.55 <sup>c</sup>	4.16 <sup>b</sup>	5.89 <sup>c</sup>

most in the jejunum, followed by the ileum and duodenum. The height of the intestinal epithelium increased most intensively 2.3 times in the jejunum mucosa. The thickness of the jejunal

mucosa increased the most during this period, compared to the mucosa of the duodenum ileum. *Tunica submucosa* and the sublayers of *tunica muscularis* grew at almost uniform rates in

**Table 3.** Histometric parameters of some ileal structures in Stara Zagora white turkey (mean  $\pm$  SEM)

Ileal structures	Age (days)						
	1	7	14	28	35	49	56
Height of villus	145.85 $\pm$	298.35 $\pm$	458.95 $\pm$	532.25 $\pm$	678.59 $\pm$	758.25 $\pm$	835.69 $\pm$
	8.56 <sup>a</sup>	7.16 <sup>b</sup>	12.15 <sup>a</sup>	10.85 <sup>a</sup>	13.45 <sup>b</sup>	16.78 <sup>c</sup>	20.21 <sup>a</sup>
Depth of crypts	41.42 $\pm$	78.56 $\pm$	85.25 $\pm$	158.95 $\pm$	167.84 $\pm$	178.95 $\pm$	195.58 $\pm$
	2.16 <sup>b</sup>	3.15 <sup>a</sup>	4.58 <sup>b</sup>	9.50 <sup>b</sup>	12.58 <sup>a</sup>	15.58 <sup>b</sup>	12.25 <sup>b</sup>
Height of epithelium	12.45 $\pm$	14.28 $\pm$	15.23 $\pm$	17.34 $\pm$	22.58 $\pm$	27.48 $\pm$	32.58 $\pm$
	0.25 <sup>c</sup>	0.34 <sup>a</sup>	0.22 <sup>a</sup>	0.58 <sup>c</sup>	0.98 <sup>c</sup>	1.34 <sup>a</sup>	1.28 <sup>c</sup>
Villus area	4560.25 $\pm$	14582.36 $\pm$	28352 $\pm$	34568 $\pm$	45895.35 $\pm$	56897.23 $\pm$	69854.56 $\pm$
	125.87 <sup>a</sup>	156.78 <sup>b</sup>	168.98 <sup>c</sup>	212.58 <sup>a</sup>	198.89 <sup>a</sup>	159.23 <sup>c</sup>	256.34 <sup>a</sup>
Tunica mucosae	235.35 $\pm$	386.65 $\pm$	612.22 $\pm$	784.58 $\pm$	854.56 $\pm$	925.58 $\pm$	1041.25 $\pm$
	5.89 <sup>b</sup>	7.89 <sup>a</sup>	12.15 <sup>a</sup>	19.96 <sup>a</sup>	29.59 <sup>c</sup>	28.85 <sup>a</sup>	26.62 <sup>b</sup>
Tunica submucosae	8.25 $\pm$	12.59 $\pm$	21.58 $\pm$	28.65 $\pm$	45.25 $\pm$	51.25 $\pm$	69.58 $\pm$
	0.55 <sup>c</sup>	0.69 <sup>c</sup>	0.95 <sup>c</sup>	1.12 <sup>b</sup>	5.65 <sup>b</sup>	4.28 <sup>b</sup>	5.16 <sup>c</sup>
Tunica muscularis – internal sublayer	52.28 $\pm$	56.89 $\pm$	86.32 $\pm$	121.23 $\pm$	182.56 $\pm$	195.69 $\pm$	280.56 $\pm$
	6.15 <sup>b</sup>	4.13 <sup>a</sup>	5.12 <sup>a</sup>	8.16 <sup>c</sup>	14.25 <sup>a</sup>	15.85 <sup>a</sup>	24.58 <sup>a</sup>
Tunica muscularis – external sublayer	16.58 $\pm$	18.59 $\pm$	34.58 $\pm$	54.25 $\pm$	57.89 $\pm$	62.23 $\pm$	99.65 $\pm$
	1.21 <sup>a</sup>	0.58 <sup>c</sup>	2.89 <sup>c</sup>	2.58 <sup>a</sup>	9.16 <sup>c</sup>	5.98 <sup>c</sup>	12.19 <sup>c</sup>

the three segments of the small intestine, except for the outer sublayer of *tunica muscularis* of the ileum, where the thickness doubled (Table 1, Table 2 and Table 3).

## DISCUSSION

The data presented by us about the micrometric changes in the layers and mucous structures of the small intestine in the Stara Zagora White Turkey complement the thesis of some authors (1, 2) for the changes of the organs from the digestive tract in age aspect. In our opinion, the growth of the mucosal structures and the mucosa was more intense during the first twenty-eight days, compared to the growth of the other layers of the intestinal wall.

The results, which expressed the age-related changes in the studied structures from the histological sections, were statistically processed for completeness. Like other studies (4, 5, 6, 7), we assume that such changes are reported as objective after statistical processing.

Based on the micrometric results concerning the duodenum, jejunum and ileum, it can be concluded that the normal values of the studied parameters are a key factor for the integrity of the small intestine in Stara Zagora White turkey, and are dependent on diet conditions and animal husbandry. This thesis complements the view (8) in ducks on the relationship between intestinal mucosal integrity and the environment.

The histological structures of the small intestine in the studied birds include highly differentiated epithelial cells that participate in the formation of the mucous layer. This theory

adds the published data (10, 11) on the microscopic anatomy of the digestive system in other poultry species.

The data for the histological structure of the intestinal wall in the Stara Zagora White Turkey showed that all three intestinal segments have characteristics specific to the tubular digestive organs. This thesis is confirmed by the histological findings - the presence of *tunica mucosa*, composed of epithelial cells located on layers of loose fibrous connective and muscle tissue, *tunica submucosa*, *tunica muscularis* and *tunica serosa*. The theory presented by us corresponds to the findings (12) on the histological structure of the small intestine in the Bronze turkey.

The histometric study investigated the patterns in the change in the height of the intestinal villi and the depth of the intestinal crypts in age aspect. It was found that the height of the villi intestinales in the three segments of the small intestine increased with age. These changes were more intense in the jejunum than in the duodenum and ileum. It is important to note the fact that the area of the villi changed in age more noticeably in the jejunum and ileum than in the duodenum. The results of the study convincingly showed that the changes in the depth of the crypts were more intense in the jejunum and ileum than in the duodenum. The presented facts differ from the data (12) that this index changes most intensively in the duodenum in the Bronze turkey.

The presented results differ from the hypothesis (12) for the small intestine in the Bronze turkey, because the height of the intestinal epithelium increased most intensively in the mucosa of the jejunum, while the thickness of the jejunal mucosa

increased the most during this period, compared to the mucosa of the duodenum and ileum. In addition, *tunica submucosa* and the sublayers of *tunica muscularis* grew at almost uniform rates in the three segments of the small intestine, except for the outer sublayer of *tunica muscularis* in the ileum, where the thickness doubled. Thus the theory (12) on the biological significance of these histometric indicators is complemented.

## DECLARATIONS

### Ethics Approval

This study was approved by the committee for animal ethics in Trakia University (No: 01/2011, No: 09/2016), Bulgaria.

### Conflict of Interest

The authors declare that they have no competing interests.

### Author Contribution

All authors contributed to every step of the article.

### Data Availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## REFERENCES

1. Działo-Szczepańczyk E. Asymetria jelit ślepych krzyżówki Anas platyrhynchos. Asymmetry of caeca Mallard Anas platyrhynchos. *Folia Univ Agr Stet.* 2002; 227: 49-54.
2. Działo-Szczepańczyk E. Charakterystyka morfometryczna jelit ślepych kaczki domowej rasy Pekin Anas platyrhynchos f. domestica. Morphometric characteristics of caeca in the Pekin domestic duck Anas platyrhynchos f. domestica. *Scientific Fascicles Breeding Review Polish Zoological Society.* 2003; 68: 20-27.
3. Działo-Szczepańczyk E, Betlejewska K. Morfologia i morfometria jelit ślepych markaczki Melanitta nigra [Morphology and morphometry of caeca in the Black Scoter Melanitta nigra]. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities seria Biology (www.ejpau.media.pl).* 2003; 6/2.
4. Mihailov R. Comparative studies on the morphological features of the digestive tract in Japanese (*Coturnix Japonica* T. & Sch.) and Wild quail (*Coturnix coturnix* L.). Dissertation, Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria, 2006.
5. Działo-Szczepańczyk E, Wesolowska I. Morphometric Characteristics of Esophagus And Intestine In Tufted Ducks Aythya Fuligula Wintering On The Baltic Coastal Areas In North-Western Poland. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities.* 2008; 11: 4.
6. Liu Y, Qiu X, Yu T, Tao J, Cheng Z. How does a woodpecker work? An impact dynamics approach. *Acta Mechanica Sinica,* 2015; 31: 181-190.
7. Kasperska D, Kokoszyński D, Korytkowska H, Mistrzak M. Effect of age and sex on digestive tract morphometry of guinea fowl (*Numida meleagris* L.). *Folia Biologica.* 2012; 60: 45-49.
8. Goudie R, Ryan P. Diets and Morphology of digestive organs in five species of sea ducks wintering in Newfoundland. *Journal Yamashina Institute of Ornithology.* 1991; 22: 1-8.
9. Gille U, Salomon F, Ronnert J. Growth of the digestive organs in ducks with considerations on their growth in birds in general. *British Poultry Science.* 1999; 40: 194-202.
10. Andrew W, Hickman C. Digestive systems, In: Andrew W, Hickman C, editors. *Histology of the vertebrates, A comparative text.* Saint Louis: The C. V. Mosby Company; 1974. p. 243-296.
11. Dibner J, Richards J, Kitchell M, Quiroz M. Metabolic challenges and early bone development. *Journal of Applied Poultry Research.* 2007; 16: 126-137.
12. Yovchev, D. Histological, histometric and histochemical investigation of the small intestine in the bronze turkey (*Meleagris Meleagris gallopavo*). Dissertation. Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria, 2021.
13. StatView™ v.4.53 for Windows (Abacus Concepts, Inc). Descriptive statistic. MacWeek, Morgenstem, David, Copyright© 1988. Mac Publishing, Michigan, USA, 1995.
14. Nomina Histologica Veterinaria. [http://www.wava-amav.org/downloads/NHV\\_2017.pdf](http://www.wava-amav.org/downloads/NHV_2017.pdf) (10 February 2020 date last accessed), 2017.

# Some Fertility traits of Holstein friesian cattle raised at various production scales in the Western Mediterranean Region of Turkey

Yahya Öztürk<sup>1</sup>, Cevat Sipahi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Processing, Burdur Vocational School of Food, Agriculture and Livestock, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, 15030, Burdur, TURKEY

<sup>2</sup>Department of Animal Health Economics and Management, Faculty of Veterinary Medicine, Burdur Mehmet Akif Ersoy University, 15030, Burdur, TURKEY

## Key Words:

calving interval  
fertility  
holstein friesian  
production scale of enterprises

## Anahtar Kelimeler:

buzagılama aralığı  
fertilite  
holstein friesian  
işletmelerin üretim ölçeği

Received : 04.08.20201  
Accepted : 29.09.2021  
Published Online : 31.12.2021  
Article Code : 978574

## Correspondence:

Y ÖZTÜRK  
(yozturk@mehmetakif.edu.tr)

## ORCID:

Y ÖZTÜRK: 0000-0003-0376-0868  
C SİPAHI: 0000-0002-4434-1419

## ABSTRACT

The presented study aimed to investigate the fertility traits and to determine the effect of the production scales and other environmental factors on fertility traits of the dairy enterprises in the Western Mediterranean Region of Turkey. Dairy enterprises were divided into 4 groups based on animal numbers; Group I (1-10 heads), Group II (11-50 heads), Group III (51-100 heads), and Group IV ( $\geq 101$  heads), respectively. Results indicated that the relationship between the production scales of enterprises and calving intervals as well as the service period was highly significant ( $p < 0.001$ ). Group I had the highest calving interval ( $468.95 \pm 7.93$  days) and the highest service period ( $185.95 \pm 7.93$  days). Whereas, Group II had the lowest calving interval ( $414.06 \pm 5.71$  days) and service period ( $131.06 \pm 5.71$  days) values. The present study showed that the production scale of the enterprise is one of the main environmental factors influencing fertility traits. Therefore, comprehensive activities focusing on the economic efficiency of cow breeding programs, containing both milk yield and reproduction traits would be more appropriate for the implementation of profitability or productivity in the dairy industry.

## Türkiye'nin Batı Akdeniz Bölgesinde farklı üretim ölçeğiyle yetiştiriciliği yapılan Holstein Friesian sığırlarda döl verimi özellikleri

## ÖZ

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'nin Batı Akdeniz Bölgesi'ndeki süt sığırcılığı işletmelerinin fertilite özelliklerini araştırmak ve üretim ölçekleri ile diğer çevresel faktörlerin fertilite özelliklerine etkisini belirlemektir. Çalışmada süt sığırcılığı işletmeleri hayvan sayısına göre Grup I (1-10 baş), Grup II (11-50 baş), Grup III (51-100 baş) ve Grup IV ( $\geq 101$  baş) olmak üzere 4 gruba ayrılmıştır. Sonuçlar, işletmelerin üretim ölçekleri ile buzağılama aralıkları ve servis periyodları arasındaki ilişkinin oldukça anlamlı olduğunu göstermiştir ( $p < 0,001$ ). Grup I en yüksek buzağılama aralığına ( $468,95 \pm 7,93$  gün) ve en yüksek servis periyoduna ( $185,95 \pm 7,93$  gün) sahipken Grup II'nin en düşük buzağılama aralığı ( $414,06 \pm 5,71$  gün) ve servis periyodu ( $131,06 \pm 5,71$  gün) değerlerini taşıdığı saptanmıştır. Bu çalışma, işletmelerin üretim ölçeğinin fertilite özelliklerini etkileyen ana çevresel faktörlerden biri olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, bölgede süt verimini artırmaya yönelik ıslah yerine, ekonomik verime odaklı süt ve döl verimini içine alan kapsamlı bir ıslah faaliyetinin daha doğru olacağına inanılmaktadır.

## INTRODUCTION

Fertility is one of the main parameters commonly used for the evaluation of productivity in dairy enterprises. The sustainability and growth of the herd closely related to the fertility. The main aim of dairy farming enterprises is to obtain one healthy calf a year. As a common concept in dairy milk production, cover the expenses such as feed, veterinarian, staff salaries, etc. with milk sale and calf is the profit of enterprises (1).

Although fertility has been ignored as a parameter in the past, it has become one of the major problems for producers faced in herd management. Enterprises with low fertility scores are face expenses such as extra frozen semen, veterinary expenditures, culling costs (2). A large number of criteria are used for the definition of fertility in dairy enterprises includes; calving interval, service period, and the number of inseminations per pregnancy (3).

A number of previously conducted studies have been reported the fertility characteristics of Holstein cattle raised in Turkey and have stated that the average calving interval, service period, and the number of inseminations per pregnancy range from 364 to 438 days (4-6), 88 to 150 days (4,6,7) and 1.28 to 2.4 (7), respectively. Studies in the literature were mainly focused on defining the effects of environmental factors on fertility traits such as the number of lactations, calving season and calving year as the environmental factors (3,8,9), except a single study focused on the production scale of enterprises (10). Therefore, the present study was aimed to prove the effect of production scale on the enterprises' fertility traits.

## MATERIAL and METHODS

The animals included 2,005 fertility records of 796 Holstein Friesian cows between the years of 2011 and 2017. The Cattle Breeders' Association of Turkey provided the data in the

**Table 1.** Least square means for the effects of factors on some fertility traits (Mean±SE) are given in parentheses.

Factors	n	Calving interval, day	Service period, day	Number of inseminations per successful pregnancy
<b>Production scale (head)</b>				
Group I (1-10)	291	468.95 <sup>a</sup> ±7.93	185.95 <sup>a</sup> ±7.93	1.68 <sup>ab</sup> ±0.09
Group II (11-50)	506	414.06 <sup>c</sup> ±5.71	131.06 <sup>c</sup> ±5.71	1.48 <sup>b</sup> ±0.06
Group III (51-100)	571	428.58 <sup>bc</sup> ±5.66	145.57 <sup>bc</sup> ±5.66	1.52 <sup>b</sup> ±0.06
Group IV (≥101)	637	437.65 <sup>b</sup> ±4.83	154.65 <sup>b</sup> ±4.83	1.80 <sup>a</sup> ±0.05
P-Value		0.000***	0.000***	0.001**
<b>Calving year</b>				
2011	137	424.40 <sup>ab</sup> ±10.42	141.40 <sup>ab</sup> ±10.42	1.46 <sup>ab</sup> ±0.12
2012	132	455.40 <sup>a</sup> ±10.47	172.40 <sup>a</sup> ±10.47	1.24 <sup>b</sup> ±0.12
2013	256	446.29 <sup>a</sup> ±7.80	163.29 <sup>a</sup> ±7.80	1.63 <sup>a</sup> ±0.09
2014	335	443.87 <sup>a</sup> ±6.77	160.87 <sup>a</sup> ±6.77	1.69 <sup>a</sup> ±0.08
2015	380	451.75 <sup>a</sup> ±6.20	168.75 <sup>a</sup> ±6.20	1.69 <sup>a</sup> ±0.07
2016	349	430.62 <sup>ab</sup> ±6.23	147.62 <sup>ab</sup> ±6.23	1.81 <sup>a</sup> ±0.07
2017	416	408.85 <sup>b</sup> ±5.58	125.85 <sup>b</sup> ±5.58	1.73 <sup>a</sup> ±0.06
P-Value		0.000***	0.000***	0.001**
<b>Province</b>				
Antalya	278	428.95±7.11	145.95±7.11	1.37 <sup>c</sup> ±0.08
Burdur	901	441.48±4.83	158.48±4.83	1.59 <sup>b</sup> ±0.05
Denizli	514	440.96±5.64	157.96±5.64	1.77 <sup>a</sup> ±0.06
Isparta	312	437.84±7.41	154.84±7.41	1.70 <sup>ab</sup> ±0.08
P		0.417	0.417	0.000***
<b>Lactation no.</b>				
1	603	438.74±4.64	155.74±4.64	1.35 <sup>b</sup> ±0.05
2	527	440.65±5.15	157.65±5.15	1.67 <sup>a</sup> ±0.06
3	372	432.67±6.24	149.66±6.24	1.77 <sup>a</sup> ±0.07
4	240	426.93±7.76	143.93±7.76	1.58 <sup>ab</sup> ±0.09
5	141	429.21±9.97	146.21±9.97	1.44 <sup>ab</sup> ±0.11
≥6	122	455.66±11.07	172.66±11.07	1.81 <sup>a</sup> ±0.12
P-Value		0.184	0.184	0.000***
<b>Calving season</b>				
Spring	426	438.71±6.20	155.71±6.20	1.53±0.07
Summer	472	439.51±6.00	156.51±6.00	1.62±0.07
Autumn	351	438.67±6.57	155.67±6.57	1.64±0.07
Winter	756	432.34±4.94	149.34±4.94	1.63±0.05
P-Value		0.628	0.628	0.606
Overall	2005	437.31±2.50	154.31±2.50	1.61±0.03

\*\*: $P < 0.01$ , \*\*\*: $P < 0.001$ . abc: Means within the same column followed by different letter are statistically significant.  
ns: Non-significant ( $P > 0.05$ )

Antalya, Burdur, Denizli, and Isparta cities of Turkey.

The dairy cattle enterprises were categorized based on their production scale, namely, Group I (1 - 10 heads), Group II (11 - 50 heads), Group III (51 - 100 heads), and Group IV ( $\geq 101$  heads). The fertility traits were calving interval, service period, and the number of inseminations per pregnancy. Each lactation among the first and fifth lactation was grouped as an individual, and lactation number sixth, and more categorized as a separate lactation group. Calving seasons; December, January, and February months were classified as winter; March, April, and May as spring; June, July, and August as summer; and September, October, and November as autumn. Calving years were covers from 2011 to 2017.

The generalized linear model was used to determine the effects of factors such as the production scale of enterprises, differences in provinces, lactation number, calving season, and calving year on some fertility traits. Tukey's multiple comparison test was used to determine the significances of the differences between the subgroups (7). For this purpose, the statistical model below was created as;

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + F_m + e_{ijklm}$$

$\mu$  = mean of total observed values

$A_i$  = Production scale effects of enterprises ( $i = 1-10, 11-50, 51-100, \geq 101$  heads)

$B_j$  = Effects of calving year ( $j = 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017$ )

$C_k$  = Effects of provinces ( $k =$  Antalya, Burdur, Denizli, and Isparta)

$D_l$  = Effects of lactation number ( $l = 1, 2, 3, 4, 5, 6,$  and more)

$F_m$  = Seasonal effects ( $m =$  spring, summer, autumn, winter)

$Y_{ijklm}$  = Observed fertility traits at scale of enterprises ( $i$ ), calving year ( $j$ ), provinces ( $k$ ), lactation number ( $l$ ), and calving season ( $m$ )

$e_{ijklm}$  = Random sampling effects

## RESULTS

In the present study, the corrected fertility traits mean of Holstein cattle in all groups; calving interval, service period, and the number of inseminations per pregnancy were  $437.31 \pm 2.50$  days,  $154.31 \pm 2.50$  days, and  $1.61 \pm 0.03$ , respectively. The calving interval, service period, number of inseminations per successful pregnancy are presented in Table 1. The data indicates that there was a statistically significant relationship between the production scale of enterprises and fertility traits ( $p < 0.01$ ). Calving interval and service period values in Group I were found to be statistically higher than those of production scale categories ( $p < 0.001$ ). On the contrary, calving interval and service period values in Group II were found to be statistically the lowest than those other groups of in production scale categories ( $p < 0.001$ ). The difference between the number of

inseminations per pregnancy of the enterprises and the production scale categories was statistically significant in all groups ( $p < 0.01$ ). Table 1.

The effects of calving year on fertility traits was statistically significant ( $p < 0.001$ ). The calving interval and service period values were the lowest in 2017 and significantly different from the values in all of the examined years, except 2011 and 2016 ( $p < 0.001$ ). The number of inseminations per pregnancy was the lowest in 2012, which was statistically significantly different from all years except for 2011 and was the highest in 2016 and 2017 ( $p < 0.01$ ).

The number of inseminations per pregnancy in Antalya province was the lowest ( $p < 0.01$ ). However, there was an insignificant difference between provinces in terms of calving interval and service period ( $p > 0.05$ ) (Table 1). The effect of the number of inseminations per pregnancy on the number of lactations is statistically significant ( $p < 0.001$ ), but calving interval and service period are not significant effect on this value ( $p > 0.05$ ). Moreover, the effect of calving season on fertility traits was statistically insignificant ( $p > 0.05$ ).

## DISCUSSION

In this study, the effect of production scales on fertility traits besides the effect of other environmental factors on fertility parameters were investigated. The originality of the presented study was that the production scale of the enterprise was effective on the some fertility traits ( $p < 0.001$ ). Group II had the lower calving interval and service period values than other groups. This particular success of medium - scale enterprises should be associated with the fact that they are usually serviced by experienced field veterinarians. In contrast, in large - scale enterprises usually choose young veterinarians due to their low veterinary service fee charge. Additionally, herd control and tracing of oestrus were effective in the cows in medium - scale enterprises (Group II) compared to the large - scale enterprises. The calving interval and service period values in Group I were higher than those of medium - scale enterprises and were similar to large - scale enterprises. Enterprises at the small - scales usually have limited financial resources. Therefore, they are unable to follow technological developments in animal caring and feeding. Although the organization and management of cattle seem easier in small - scale enterprises, they had a higher fertility value compared to those of the enterprises in other groups. The underlying reason for these results would be the lack of access to financial resources and innovation opportunities. A single study of reported that the calving interval was the shortest in enterprises with 6-10 heads of dairy cows, and they stated that calving interval was close to each other and had the highest values in enterprises with 1-6 heads of dairy cows (10). As observed in present work they suggested that growth in animal numbers was closely related with calving interval.

The effect of calving year on calving interval, service period and the number of inseminations per pregnancy was statistically significant ( $p < 0.001$ ), and our results supported by previously conducted studies as well (3,4,7,11); however, some studies were unable to find such a statistical relationship

(8,9,12,13).

Despite optimum calving interval and optimum service period were reported as 365 days and 60 - 90 days in the literature (14), which were quite lower than our results. The reason for these differences in milk yields in the region is more likely to be the fact that the milk yield is above the average value reported in Turkey. Besides, high milk yields adversely affect fertility as well. As stated in the previous studies, there is a negative phenotypic correlation between calving interval and milk production in high-yielding dairy cattle (15-18). Our values on fertility traits were much higher than previous study (8) carried out in the same provinces from 2004 to 2005. The breeding aimed at increasing milk yield over the recent years resulted in lowered fertility. In the present study, the service period changed 150 days, which is far above the accepted value (60-90 days). The longer service period indicates the ineffectiveness of oestrus tracing and insemination periods in dairy cow units.

Although the optimum value of the number of inseminations per pregnancy is 1.0, it is quite difficult to achieve this level for many reasons in practice. Therefore, values up to 1.5 are acceptable within the standard (14,19). In the present study, 1.65 ratio was in parallel to the references (20,21) somewhat higher than (3,22,23) and were lower than those of previously published reports (13,24).

The effect of the lactation number on calving interval and service period was statistically insignificant ( $p>0.05$ ) (Table 1). The results were supported by the previous studies (3,8,11,13). On the other hand, some of the studies suggested the effect of the lactation number on calving interval (9,12) and service period (9,12,21,25) was important.

Effects of the number of inseminations per successful pregnancy on the lactation number was statistically significant ( $p<0.05$ ). The value was the lowest in the cows in the first lactation ( $1.35 \pm 0.05$ ) and the highest in the cows at the sixth lactation and onwards ( $1.81 \pm 0.12$ ) ( $p<0.001$ ). The number of inseminations per successful pregnancy rises rapidly following the first lactation. The incidences of repeat breeding problems increase with lactation numbers for a successful conception in dairy cows. Although, our results related to the number of inseminations per successful pregnancy and lactation number was significant ( $p<0.05$ ) that was supported by previous studies (3), some studies suggested the effect of lactation number on the number of inseminations per pregnancy was insignificant (11,13,24).

In the present study, there was no statistical difference between the effects of calving season on fertility ( $p>0.05$ ). These findings were supported by previous studies (3,8,9,13), but some studies suggested the presence of a significant relationship between season and fertility parameters (4,11,12,23).

## CONCLUSION

The results indicated that the values of the calving interval, service period, and the number of inseminations per pregnancy in the Holstein cows in the Western Mediterranean Region of Turkey were higher than those of the globally accepted optimum values for Holstein cows. The breeding of cows based

on the high milk yield negative effects on fertility. Thus, more attention should be paid to the tracing of oestrus to regularly obtain a calf every year in the high - yield cattle enterprises. According to our study, there was a significant relationship between production scale and fertility parameters. Also, the difference in management and organization might affect negatively and positively on fertility. As suggested previously, the genetic selection of dairy cows may result in an improvement in the fertility characteristics of dairy cows because the hereditary coefficient of reproduction is low but the coefficient of variation is very high. In this case, Scandinavian breeding programs that address the problem of genetic correlation between fertility and milk yield could serve as a better model. The features that make the Scandinavian dairy cattle breeding program from other milk-based programs are the addition of fertility and mastitis resistance characteristics of cows into milk yield. Although the program has a disadvantage in increasing milk yield, it may have an advantage of better economic efficiency. As a result, comprehensive breeding focusing on economic efficiency, including both milk yield and reproduction traits would be more appropriate rather than breeding on exclusively increasing milk yield in dairy enterprises.

## DECLARATIONS

### Ethics Approval

This study was approved by Non-Clinical Research Ethics Committee of the Burdur Mehmet Akif Ersoy University (No: GO 2018/103), Burdur.

### Conflict of Interest

The authors declare that they have no competing interests.

### Author Contribution

Idea, concept and design: Y Öztürk,

Data collection and analysis: Y Öztürk, C Sipahi

Drafting of the manuscript: Y Öztürk, C Sipahi

Critical review: Y Öztürk, C Sipahi

### Data Availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

## REFERENCES

1. Wiljan D. Compendium of animal reproduction. İstanbul: Intervet Publisher, 1998.
2. Lamming GE, Darwash AO, Wathes DC, Ball PJ. The fertility of dairy cattle in the UK: Current status and future research. Journal of Royal Agricultural Society of England. 1998; 159: 82-93.
3. Duru S, Tuncel E. An investigation on milk yield and reproductive performance of Holstein Friesian cows in Koçaş state farm 2. Reproductive traits. Turk J Vet Anim Sci. 2002; 26(1): 103-107.
4. Pelister B, Altinel A, Güneş H. Environmental effects



on reproductive efficiencies and milk productions of Holstein Friesian cattle of different origin in commercial farm conditions. *J Fac Vet Med Istanbul Univ.* 2000; 26(2): 543-559.

5. Tekerli M, Gündoğan M. Effect of certain factors on productive and reproductive efficiency traits and phenotypic relationships among these traits and repeatabilities in West Anatolian Holsteins. *Turk J Vet Anim Sci.* 2005; 29(1): 17-22.

6. Ulutaş Z, Akman N, Akbulut Ö. Estimates of genetic and environmental (co)variances for 305-day milk yield and calving intervals in Holstein Friesian cattle. *Turk J Vet Anim Sci.* 2004; 28(1): 101-105.

7. Çilek S. Reproductive traits of Holstein cows raised at Polatlı state farm in Turkey. *J Anim Vet Adv.* 2009; 8(1): 1-5.

8. Akkaş Ö, Şahin EH. Some production parameters of Holstein cattle. *Kocatepe Vet J.* 2008; 1(1): 25-31.

9. Özçakır A, Bakır G. Milk yield and reproduction characteristics of Holstein Friesian cattle raised in Tahirova agricultural facility. 2. Fertility traits. *Atatürk Univ J of the Agricultural Faculty.* 2003; 34(3): 223-228.

10. Galiç A, Baydilli T, Özfiliz A, Kumlu S. The effect of herd size on milk yield and reproduction traits in Holstein cattle raised in Izmir province. *Animal Production.* 2004; 45(2): 17-22.

11. Akman N, Ulutaş Z, Efil H, Biçer S. Milk yield and reproductive traits of Holsteins raised at Gelemen state farm. *Atatürk Univ J of the Agricultural Faculty.* 2001; 32(2): 173-179.

12. Gürses M, Bayraktar M. Some milk production and reproductive traits of Holstein cattle raised in different regions of Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2012; 18(2): 273-280. DOI:10.9775/kvfd.2011.5424

13. Türkyılmaz MK. Reproductive characteristics of Holstein cattle reared in a private dairy cattle enterprise in Aydın. *Turk J Vet Anim Sci.* 2005; 29(4): 1049-1052.

14. Şekerden Ö, Özkütük K. Cattle Breeding. Adana: Cukurova University Faculty of Agriculture Textbook. No: C – 122, 1997.

15. Campos MS, Wilcox CJ, Becerril CM, Diz A. Genetic parameters for yield and reproductive traits of Holstein and Jersey cattle in Florida. *J Dairy Sci.* 1994; 77: 867-873. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77021-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77021-1)

16. Ojango JM, Pollott GE. Genetics of milk yield and fertility traits in Holstein-Friesian cattle on large-scale Kenyan farms. *J Anim Sci.* 2001; 79: 1742-1750.

17. Oltenacu PA, Frick A, Lindhe B. Relationship of fertility to milk yield in Swedish cattle. *J Dairy Sci.* 1991; 74(1): 264-268. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78169-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78169-1)

18. Ouweltjes W, Smolders EAA, Eldik PV, Elving L, Schukken HY. Herd fertility parameters in relation to milk production in dairy cattle. *Livest Prod Sci.* 1996; 46(3): 221-227.

DOI: [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(96\)01393-0](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(96)01393-0).

19. Yüksel AN, Soysal Mİ, Kocaman İ, Soysal Sİ. Basic principles of dairy cattle. Istanbul: Hasad Publishing, Alan Printing House, 2004.

20. Gündal Çörekçi Ş, Güneş H, Kırmızıbayrak T, Eroğlu Y. Researches on Black and White cattle breeding for 10 years in Kumkale State Farm. 1. Fertility Yield Characteristics. *J Fac Vet Med Istanbul Univ.* 1996; 22(1): 187-201.

21. Sehar Ö, Özbeyaz C. Some production traits of Holstein cows at a state farm in Middle Anatolian conditions. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg.* 2005; 45(1): 9-19.

22. Bilgiç N, Yener SM. Some milk and breeding characteristics of Holstein Friesian cows raised at the Dairy Farm of the Department of Animal Science of Agricultural Faculty of Ankara University. *Journal of Agricultural Sciences.* 1999; 5(2): 81-84.

23. Gündoğdu F, Özder M. A comparative study on some milk and fertility yield characteristics of Brown-Swiss and Black and White cattles raised in Sarımsaklı State Farm. *JOTAF.* 1993; 2(2): 159-169.

24. Kaya M, Bardakçioğlu EH. Effects of some environmental factors on milk production and fertility of Holstein cows reared in private farm conditions in Denizli province. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg.* 2016; 13(2): 1-10.

25. Özkök H, Uğur F. Yield, age at first calving and service period in Brown Swiss and Holstein Friesian cattle reared in Turkey. *Atatürk Univ J of the Agricultural Faculty.* 2007; 38(2): 143-149.

# İki ceylanda (*Gazella subgutturosa*) görülen parazitik pnömoni ve *Trueperella pyogenes* ve *Candida albicans* ile ilişkili nekrotik-purulent bronkopnömoni

Rahşan Yılmaz<sup>1</sup>, Oktay Keskin<sup>2</sup>, Ayfer Güllü Yücepete<sup>2</sup><sup>1</sup>Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, Şanlıurfa/TURKEY<sup>2</sup>Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, Şanlıurfa/TURKEY

## Anahtar Kelimeler:

*Trueperella pyogenes*  
*Candida albicans*  
Parazitik pnömoni  
*Gazella subgutturosa*

## Key Words:

*Trueperella pyogenes*  
*Candida albicans*  
Parasitic pneumonia  
*Gazella subgutturosa*

Geliş Tarihi : 14.04.2021

Kabul Tarihi : 04.09.2021

Yayın Tarihi : 31.12.2021

Makale Kodu : 915657

Sorumlu Yazar:

R. YILMAZ

(rmilliogullari@hotmail.com)

ORCID

R. YILMAZ : 0000-0002-0944-2230

O. KESKİN : 0000-0002-5977-7872

AG. YÜCEPETEPE: 0000-0002-9842-3305

## ÖZ

Bu çalışmada, iki ceylanda (*Gazella subgutturosa*) gözlenen *Trueperella pyogenes* ve *Candida albicans*'la ilişkili nekrotik-purulent bronkopnömoni ve parazitik pnömoninin makroskopik, mikroskopik ve bakteriyolojik bulguları sunulmuştur. Şanlıurfa Kızılkuyu Yaban Hayatı Koruma Alanı'nda ölü olarak bulunan erişkin, iki erkek ceylan nekropsisi için Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na getirildi. Nekropside, iki ceylanda da akciğerlerin tüm loblarında 1-1,5 cm çapında, beyazımsı renkte, yumuşak kıvamda multifokal odaklar görüldü. Odakların kesit yüzünde krema kıvamlı eksudat dikkati çekti. Bazı bronşların lümeninde yetişkin parazit ve pıhtılaşmış halde kana rastlandı. Mikroskopik incelemede, akciğerlerde nekrotik-purulent bronkopnömoni odakları ve bu nekrotik odaklar içerisinde mantar hifaları belirlendi. Bazı bronşların lümeninde parazitler belirgindi. Bakteriyolojik incelemede, *Trueperella pyogenes* ve *Candida albicans* ana patojenler olarak izole edildi. Bu olgu sunumu, ceylanlarda *Trueperella pyogenes* ve *Candida albicans*'ın neden olduğu nekrotik-purulent bronkopnömoni ile parazitik pnömoninin birlikte sunulduğu ilk rapordur.

**Parasitic pneumonia and necrotic-purulent bronchopneumonia associated with *Trueperella pyogenes* and *Candida albicans* observed in two gazelles (*Gazella subgutturosa*)**

## ABSTRACT

This case report presents the macroscopical, histopathological and bacteriological findings of *Trueperella pyogenes* and *Candida albicans* associated necrotic-purulent bronchopneumonia and parasitic pneumonia observed in two captive, adult gazelles (*Gazella subgutturosa*). Two male gazelles were found dead in the Sanliurfa Kızılkuyu Wildlife Reserve Area and were brought to the University of Harran, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathology for necropsy. At necropsy multifocal foci of 1-1,5 cm in diameter, whitish color and soft consistency were detected on all lobes of the lung. Creamy exudate was observed at the cut section of the foci. Adult parasites and coagulated blood were observed in the lumen of some of the bronchi. In the microscopical examination, foci of necrotic-purulent bronchopneumonia and fungal hyphae were seen within these necrotic areas. The parasites were encountered in the lumen of some of the bronchioles. In the bacteriological examination, *Trueperella pyogenes* and *Candida albicans* were isolated as the major pathogens. This is the first report of parasitic pneumonia and necrotic-purulent bronchopneumonia caused by *Trueperella pyogenes* and *Candida albicans* in gazelles.

## GİRİŞ

*Trueperella pyogenes* (*T. pyogenes*), önceden *Arcanobacterium pyogenes*, *Corynebacterium* ve *Actinomyces* olarak isimlendirilen; gram pozitif, hareketsiz, sporlanmayan, kısa, çubuk şeklinde bir bakteridir (1,2). Etken tüm evcil ruminantlar ve domuz gibi çift tırnaklı hayvanlarda çeşitli purulent enfeksiyonlara neden olan fakültatif bir patojendir (3). *T. pyogenes*'in antilop (*Antilope cervicapra*), Dorcas ceylanı (*Gazella dorcas*) ve kursaklı ceylan (*Gazella subgutturosa*) gibi yabani çift tırnaklı hayvanlar ile nadiren de olsa insanlarda enfeksiyona neden olduğu bildirilmiştir (4-7). *T. pyogenes* genellikle hayvanların deri, üst solunum yolu, orofarenks, ürogenital ve gastrointestinal sistemlerinde yerleşmektedir (3). Deri ve müköz membranlarda kommensal bir bakteri olmasından dolayı, enfeksiyonların çoğunun endojen olduğu düşünülmektedir (2).

*Candida albicans* tüm sıcakkanlı hayvanlarda kommensal olarak bulunan, dimorfik bir mantardır. Konakçıda tırnak, kornea, diş kulak, oral mukoza, perineum ve üriner sistemde

lokal enfeksiyonlara neden olmaktadır. Meninks, böbrek, karaciğer, akciğer ve kalp gibi iç organlarda sistemik invazyon gösteren oportünistik bir patojen olarak bulunabilmektedir (8). Fırsatçı mantar enfeksiyonu bağışıklığı baskılanmış hastalarda ciddi morbidite ve mortalitenin yaygın bir nedenidir (9). *Candida* pnömonisi oldukça nadir bir hastalıktır ve primer olarak hematojen yayılım ya da kolonize orofaringeal ve gastrik içeriğin aspirasyonunu takiben oluşmaktadır (10).

Parazitik pnömoniler evcil ve vahşi hayvanlarda yaygın olarak gözlenmektedir (11). Parazitlerin patojenik etkisi solunum yolu içindeki konumlarına, yutulan enfektif larvaların sayısına, hayvanın bağışıklık durumuna, konağın beslenme düzeyine ve yaşına bağlıdır (12). Evcil hayvanların akciğer kurtları, *Trichostrongyloidea* ve *Metastrongyloidea* süper ailesi altında sınıflandırılır (13). Bunlardan *Dictyocaulus* ve *Protostrongylus* geviş getiren hayvanlarda akciğer kıl kurdu enfeksiyonuna neden olmaktadır (14). Sığırlarda *Dictyocaulus viviparus*, koyun ve keçilerde ise *Dictyocaulus filaria*, *Protostrongylus rufescens* ve *Muellerius capillaris* en sık karşılaşılan parazitik pnömoni

nedenleri arasında yer almaktadır (12). *Dictyocaulus*'lar trake ve bronşiyol dallarına yerleşen ve monoksen gelişim gösteren nematodlardır. *Metastrongyloidea*'lar akciğer parankimi, bronşiyol ve alveollerde yerleşim gösterirler (15). Ergin *Dictyocaulus*'lar 8-10 cm uzunluğunda, ince, yuvarlak, beyazımsı-gri renktedir (13). Ergin *Muellerius capillaris* 3 cm'den uzun olmayan ince parazitlerdir. Ergin *Protostrongylus rufescens* ise 7 cm uzunluğunda, ince, kırmızımsı veya kahverengimsi renktedir (16,17).

Bu rapor, Şanlıurfa'da yaban hayatı koruma alanındaki ceylanlarda *T. pyogenes* ve *C. albicans* ile ilişkili nekrotik-purulent bronkopnömoni ve parazitik pnömoninin bir arada sunulduğu ilk rapordur.

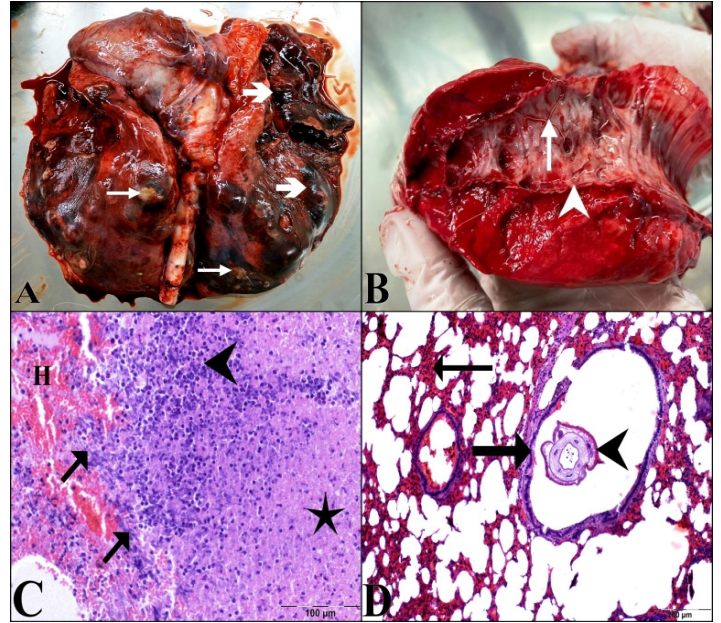
## OLGU

Bu olgu sunumunun materyalini Şanlıurfa Kızılkuyu Yaban Hayatı Koruma Alanı'nda ölen ve nekropsi için Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na getirilen erişkin, iki erkek ceylan (*Gazella subgutturosa*) oluşturmuştur. Çalışmada kullanılacak materyaller için Türkiye Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü (Onay no: 21264211-288.04-E.1891683) ve Harran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Onay no: 28.05.2020/01-19) tarafından gerekli onaylar alınmıştır. Nekropsi sonrası histopatolojik inceleme için doku örnekleri %10'luk tamponlu formalin solüsyonuna alınarak tespit edildi. Tespit sonrası dokular rutin doku takibi işleminden geçirildi. Doku takibi sonrası oluşturulan parafin bloklar mikrotomda 4 µm kalınlığında kesilerek hematoxilen & eozin (H&E) ile boyandı. Bakteriyojik incelemeler için örnekler uygun steril koşullarda Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gönderildi.

Makroskobik incelemede, iki ceylanda da akciğerlerin sağ ve sol kranial, medial ve kaudal loblarında 1-1,5 cm arasında değişen büyüklükte, yumuşak kıvamlı, açık bej renkte, kesit yüzünde irinin olduğu, etrafı konjeste multifokal odaklara rastlandı (Şekil 1A). Bu odaklardan bağımsız olarak, akciğerlerin kesit yüzünün muayenesinde rastgele dağılımlı, bronş lümenlerinde lokalize, yaklaşık 8-10 cm uzunluğunda, beyazımsı-bej renkte çok sayıda erişkin parazit varlığı dikkati çekti (Şekil 1B). Parazitlerin bulunduğu alanlarda makroskobik olarak herhangi bir bulgu gözlenmedi. Akciğerler dışındaki diğer organlarda ve mediastinal lenf yumrularında makroskobik herhangi bir bulguya rastlanmadı.

Mikroskobik incelemede alveol, bronş ve bronşiyol lümenlerinde şiddetli nötrofil lökosit birikimleri gözlemlendi. İnterstiyel alanlardaki damarlarda ve interalveolar kapillarlarda belirgin hiperemi görüldü. Dokuya yer yer yayılmış halde ortası açık pembe renkte kazeifikasyon nekrozu alanları ile bunu çevreleyen mor renkte bakteri kümeleri ve çoğunluğunu dejenere ve sağlam nötrofil lökositler ile daha az sayıda lenfosit ve makrofajların oluşturduğu yangısal hücre infiltrasyonları dikkati çekti (Şekil 1C). Bu alanların çevresinde hemoraji ve damarlarda şiddetli hiperemi not edildi. Ayrıca nekroz odakları çevresindeki yangı hücresi infiltrasyonu alanlarında gelişigüzel dağılmış, bazofilik boyanma gösteren mantar hifalarına rastlandı (Şekil 1C). Nekrotik odaklardan uzakta yer alan bazı bronşiyollerin lümeninde erişkin parazitlerin olduğu görüldü.

(Şekil 1D). Bu bronşiyollerin çevresindeki kapillarlarda şiddetli hiperemi gözlemlendi. Parazitlerin tür tayinine yönelik detaylı bir inceleme yapılamadı, ancak makroskobide karşılaşılan morfolojik özellikler ve mikroskobik bulgularda parazitlerin bronş lümenlerinde yerleşmiş olması parazitlerin *Dictyocaulus* genusuna ait olduğunu düşündürdü.



**Şekil 1.** A) Akciğerlerdeki odakların makroskobik görünümü; purulent nekrotik odaklar (ince oklar), konjeste alanlar (kalın oklar). B) Akciğerlerdeki odakların makroskobik görünümü; ergin parazit (ince ok), bronş (ok başı). C) Akciğerlerdeki odakların mikroskobik görünümü; nekroz alanı (yıldız), yangısal hücre infiltrasyonu (ok başı), *Candida albicans* hifaları (oklar), hemoraji (H), H&E boyama, 100 µm. D) Akciğerlerdeki parazitin mikroskobik görünümü; parazit (ok başı), bronşiyol (kalın ok), hiperemi (ince ok), H&E boyama, 200 µm.

**Figure 1.** A) Macroscopic view of the foci in the lungs; purulent necrotic foci (thin arrows), congested areas (thick arrows). B) Macroscopic view of foci in the lungs; adult parasite (thin arrow), bronchus (arrowhead). C) Microscopic view of foci in the lungs; area of necrosis (star), inflammatory cell infiltration (arrowhead), *Candida albicans* hyphae (arrows), hemorrhage (H), H&E staining, 100 µm. D) Microscopic view of the parasite in the lungs; parasite (arrowhead), bronchiole (thick arrow), hyperemia (thin arrow), H&E staining, 200 µm.

Bakteriyolojik olarak etken izolasyonu ve identifikasyonu için akciğer doku örneklerinden %5 koyun kanlı agar (Oxoid Inc, Columbia, ABD) ve MacConkey agara iki seri ekimleri yapıldı ve bir seri aerobik, diğer seri de mikroaerofilik (%5 CO<sub>2</sub>) koşullarda olmak üzere 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası %5 koyun kanlı agarda oluşan küçük, iğne ucu büyüklüğünde, S tipli, β-hemolitik koloniler identifikasyona alındı. Mikroskopide gram boyama yöntemi ile pleomorfik görümlü gram pozitif çomaklar görüldü. Ayrıca yine %5 koyun kanlı agarda görülen ve gram boyama ile maya hücresi olarak değerlendirilen kolonilerden Sabouraud dekstroza agara (SDA) (Merck, Darmstadt, Almanya) iki seri pasaj yapılarak 25 °C ve 37 °C'lerde 24-48 saat inkübe edildi. Her iki sıcaklıkta da SDA'da 2-3 gün içerisinde üreyen, düzgün sınırlı, beyaz veya

krem renkli, hamur kıvamında ve kendine özgü maya kokusu olan koloniler gözlemlendi (18). Etkenler klasik yöntemlerle *Trueperella* spp. ve *Candida* spp. olarak belirlendi (18,19). Daha sonra izolatlar MALDI-TOF (Bruker Corporation, Billerica, MA, ABD) ile *T. pyogenes* ve *C. albicans* olarak tanımlandı.

İzolasyon ve tanımlama için yapılan mikroorganizmalardan *T. pyogenes*'in antibiyotiklere duyarlılığı "Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi" ile saptandı (20). Antibiyotik duyarlılık testlerinde, amoksisilin (25 µg), ampisilin (10 µg), enrofloksasin (5 µg), eritromisin (15 µg), gentamisin (10 µg), kanamisin (30 µg), klindamisin (2 µg), kloramfenikol (30 µg), neomisin (10 µg), penisilin (10 µg), sefoksitin (30 µg), sefuroksim (30 µg), streptomisin (10 µg) ve tetrasiklin (30 µg) olmak üzere toplam 14 farklı antibiyotik diski kullanıldı. Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile yapılan antibiyotik duyarlılık testine göre izole edilen *T. pyogenes*, enrofloksasin, eritromisin, gentamisin, kanamisin, klindamisin, kloramfenikol, neomisin ve tetrasiklin'e duyarlı; moksisilin ve penisilin'e orta derecede duyarlı; ampisilin, sefoksitin, sefuroksim ve streptomisin'e ise dirençli olarak saptandı.

## TARTIŞMA

*T. pyogenes*, evcil ve yabani hayvanların deri, mukozalar, üst solunum yolları ve ürogenital sistem florasında bulunan, ancak diğer sistemler için önemli bir fırsatçı patojen olabilen, yaygın purulent enfeksiyon oluşturan bir bakteridir (21,22). *T. pyogenes* enfeksiyonlarının yayılması ve bulaşması hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bakteriler deri ve müköz membranların normal florasında yer aldığından enfeksiyonların çoğunun endojen olarak şekillendiği düşünülmektedir (23). Bununla birlikte kullanılan ekipmanlar aracılığıyla kontaminasyon veya doğrudan hayvandan hayvana bulaşarak ekzojen enfeksiyon olasılığı da göz önünde bulundurulmaktadır (3). Yüksek nem ve ılıman iklim koşulları enfeksiyon oluşumunu destekleyen faktörlerdir (24). Olgu sunumundaki ceylan ölümlerinin yağışın yoğun olduğu Nisan ayına denk gelmesi ve hayvanların kalabalık gruplar halinde koruma alanında bulunması enfeksiyonun oluşması ve hayvanların enfeksiyonu birbirine bulaştırması açısından literatür bilgisi ile uyumludur.

*C. albicans* tüm sıcakkanlı hayvanlarda kommensal olarak bulunan ancak uygun koşulların olduğu durumlarda birçok sistemde lokal ve sistemik enfeksiyon oluşturma potansiyeline sahip oportünistik bir patojendir (8). Farklı etkenlere bağlı enfeksiyöz hastalıkların varlığı, geniş spektrumlu antibiyotiklerin aşırı kullanımı, immün yetmezlik hastalığı, kemoterapi, radyoterapi ve immünsüpresif tedaviler gibi çeşitli koşullar altında bu etken konakçılarda kommensal organizmadan patojen hale geçebilmektedir (25). Nitekim bu raporda, akciğerlerdeki *T. pyogenes* enfeksiyonunun varlığı *C. albicans* etkenlerinin oportünistik olarak enfeksiyona dahil olması için uygun bir ortam oluşturmaktadır.

*Trichostrongyloidea* ve *Metastrongyloidea* süper ailesi üyelerinden herhangi birine bağlı oluşan parazitik pnömonilere solunum bozuklukları (26), fokal pnömoni lezyonları (27) ve akciğerlerin sekonder bakteriyel enfeksiyonları da (28) eşlik etmektedir. Bu olgu raporunda parazitik pnömoni ile birlikte *T. pyogenes* ve *C. albicans* enfeksiyonlarının bir arada bulunması da bu sonucu

destekler niteliktedir. Parazitik pnömoni etkenleri kontamine meralarda otlama esnasında alınmaktadır (29). Bu parazitler yağışların yoğun olduğu ve buna bağlı olarak otların çok olduğu alanlarda ve mevsimlerde daha yaygın gözlenmektedir (30). Bu bilgilerle uyumlu olarak, bu çalışmada parazitler enfeksiyon yağışın ve otların yoğun olduğu bahar döneminde şekillenmiştir.

*T. pyogenes*, *C. albicans* ve parazitler enfeksiyonlar evcil ve yabani ruminantlarda genellikle ayrı ayrı rapor edilen vakalardır (31). Normal ortamında yaşayan yabani hayvanlarında bu enfeksiyonlar oluşuyor olsa bile çok azı tespit edilip kayıt altına alınabilmektedir. Daha önce ceylanda *T. pyogenes* ve *C. albicans*'a bağlı nekrotik-purulent bronkopnömoni ve parazitik pnömoni enfeksiyonları bir arada rapor edilmemiştir. Bu makale, Şanlıurfa'da yabani hayatı koruma alanında ölen ceylanlarda nekrotik-purulent bronkopnömoni ve parazitik pnömoninin patolojik ve bakteriyolojik sonuçlarını sunmaktadır.

## SONUÇ

Bu olgu sunumunun bulguları, yabani hayatı koruma alanlarında toplu olarak yaşayan ceylanlarda şekillenen nekrotik-purulent bronkopnömoni olgularında bakteri, mantar ve parazitler hastalık etkenlerinin bir arada mikts enfeksiyonlar oluşturabileceğini ortaya koymuştur.

## BEYANNAMELER

### Etik Onayı

Uygulanamaz

### Çıkar Çatışması

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması beyan etmemektedir.

### Yazar Katkıları

Fikir, Kavram ve Tasarım: R. Yılmaz, O. Keskin

Veri Toplama ve Analiz: R. Yılmaz, O. Keskin, A. G. Yüceetepe

Makalenin Yazımı: R. Yılmaz, O. Keskin, A. G. Yüceetepe

Eleştirel İnceleme R. Yılmaz

### Veri kullanılabilirliği

Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler makul talep üzerine sorumlu yazardan temin edilebilir.

## KAYNAKLAR

1. Biberstein EL, Hirsh DC. Corynebacteria; *Arcanobacterium* (*Actinomyces*) *pyogenes*, *Rhodococcus equi*. In: Hirsh DC, Zee YC, editors. Veterinary Microbiology Part 2: Bacteria and Fungi. Oxford (United Kingdom): Blackwell Science; Reprinted 2002. p. 127-134.
2. Nagaraja TG. Arcanobacterium and Gram-Negative, Non-Spore-Forming Anaerobes. In: McVey DS, Kennedy M, Chengappa MM, editors. Veterinary Microbiology Part 2: Bacteria and Fungus. 3rd ed. Ames, Iowa, Wiley-Blackwell; 2013. p. 203-234.
3. Ribeiro MG, Riseti RM, Bolanos CAD, Caffaro KA, de Moraes ACB, Lara GHB, Zamprogna TO, Paes AC, Listoni FJP, Franco MMJ. *Trueperella pyogenes* multispecies infections in domestic animals: a retrospective study of 144 cases (2002 to

3. Ribeiro MG, Riseti RM, Bolanos CAD, Caffaro KA, de Moraes ACB, Lara GHB, Zamproga TO, Paes AC, Listoni FJP, Franco MMJ. *Trueperella pyogenes* multispecies infections in domestic animals: a retrospective study of 144 cases (2002 to 2012). *Vet Q*. 2015; 35(2):82-87.
4. Portas TJ, Bryant BR. Morbidity and mortality associated with *Arcanobacterium pyogenes* in a group of captive blackbuck (*Antilope cervicapra*). *J Zoo Wildl Med*. 2005; 36(2):286-289.
5. Abdel Rahim SA, Shigidi Mohammed MTA, Mohammed BA. Clinical and hematological parameters of Dorcas gazelles (*Gazella dorcas* Linnaeus, 1758). *Jonares*. 2013; 1(1):6-13.
6. Çeçen G, Buyukcangaz EK, Çalışkan ÜG., Cangul TI, Akdesir E. Interdigital necrobacillosis associated with *Trueperella pyogenes* in goitered gazelles (*Gazella subgutturosa*). *J Zoo Wildl Med*. 2018; 49(2): 429-434.
7. Zulty JC, Montali RJ. *Actinomyces pyogenes* infection in exotic bovidae and cervidae: 17 cases (1978–1986). *J Zoo Wildl Med*. 1988; 19(1/2):30-32.
8. Khosravi AR, Mardjanmehr H, Shokri H, Naghshineh R, Rostamibashman M, Naseri A. Mycological and histopathological findings of experimental disseminated candidiasis in dogs. *Iran J Vet Res* 2009; 10(3):228-234.
9. Connolly JE Jr, McAdams HP, Erasmus JJ, Rosado-de-Christenson MD. Opportunistic fungal pneumonia. *J Thorac Imaging*. 1999; 14(1):51-62.
10. Bodey GP. Candidiasis in cancer patients. *Am J Med*. 1984; 77:13-19.
11. Ngatia TA, Mbutia PG, Waruiru RM, Njiro SM, Kanyari PW, Munyua WK, Weda HE, Ngotgo JW. Verminous pneumonia and other microscopic lung lesions in wild animals in Kenya. *Bull Anim Hlth Prod Afri*. 1998; 46:153-155.
12. Fraser CM. The Merck Veterinary Manual: A Handbook of Diagnosis Therapy and Disease Prevention and Control for the Veterinarians, 7th ed. Merck and Co., Inc., Rahway, Nit, ABD; 1991. p. 714-814.
13. Urquhart HM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. *Veterinary Parasitology*. 2nd ed. London: Blackwell Science Ltd; 1996. p. 301-309.
14. Schneider T. Helminths of Respiratory System. In: *Veterinary Medicine Parasitology*. Vol. 5. Voll Standing Auflage. Parey Bush Vet Log. Berlin; 2000. p. 193-198.
15. Levine ND. *Nematode Parasites of Domestic Animals and of Man*, 2nd ed. Burgess Publishing Company, Minneapolis; 1980. p. 222-239.
16. Junquera P. (2015). *Muellerius capillaris*, parasitic lungworms of sheep and goats. Biology, prevention and control. Muelleriosis. Available at: [http://parasitipedia.net/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2640&Itemid=2918](http://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=2640&Itemid=2918). Accessed on 17/3/2021.
17. Junquera P. (2015). *Protostrongylus rufescens*, parasitic lungworms of sheep and goats. Biology, prevention and control. Protostrongylosis. Available at: [http://parasitipedia.net/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2641&Itemid=2919](http://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=2641&Itemid=2919). Accessed on 17/3/2021.
18. Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR. *Mosby-Year Book Europe Limited*. Lynton House, London, İngiltere; 1994. p. 209-236.
19. Billington SJ, Post KW, Jost BH. Isolation of *Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes* from cases of feline otitis externa and canine cystitis. *J Vet Diagn Invest*. 2002; 14:159-162.
20. Clinical Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement*. M100-S25, Wayne: CLSI; 2015.
21. Queen C, Ward AC, Hunter DL. Bacteria isolated from nasal and tonsillar samples of clinically healthy Rocky Mountain bighorn and domestic sheep. *J Wildl Dis* 1994; 30:1-7.
22. Jost BH, Post KW, Songer JG, Billington SJ. Isolation of *Arcanobacterium pyogenes* from the porcine gastric mucosa. *Vet Res Commun*. 2002; 26:419-425.
23. Jost BH, Billington SJ. *Arcanobacterium pyogenes*: Molecular pathogenesis of an animal opportunist. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2005; 88:87-102.
24. Lavín S, Ruiz-Bascarán M, Marco I, Abarca ML, Crespo MJ, Franch J. Foot infections associated with *Arcanobacterium pyogenes* in free-living fallow deer (*Dama dama*). *J Wildl Dis*. 2004; 40:607-611.
25. Martins N, Ferreira IC, Barros L, Silva S, Henriques M. Candidiasis: predisposing factors, prevention, diagnosis and alternative treatment. *Mycopathologia*. 2014; 177(5–6):223-240.
26. Mansfield LS, Gamble HR, Baker JS, Lichtenfels JR. Lungworm infection in a sheep flock in Maryland. *J Am Vet Med Assoc*. 1993; 202(4):601-606.
27. Malone FE. Parasitic Bronchitis and Pneumonia. In: Martin WB, Aitken ID, editors. *Diseases of Sheep*, Blackwell Science, Oxford, UK; 2000. p. 202-204.
28. Kutz SJ, Fisher K, Polley L. A lung nematode in Canadian Arctic muskoxen. Standard radiographic and computed tomographic imaging. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 1999; 15(2):359-377.
29. Tewodros AE. A Review on lungworm infection in small ruminants. *World J Pharm Life Sci*. 2015; 1(3), 149-159.
30. Radostits OM, Gay C, Blood DC, Hinchcliff KW. Diseases Associated with Helminths Parasites. In: *Veterinary Medicine, a Textbook of the Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horse*. 9th ed. London: Harcourt Publishers Ltd; 2000. p. 1564-1569.
31. Castelo-Branco DS, Castelo-Branco CM, Brilhante RSN, Paiva MAN, Teixeira CEC, Caetano EP, Ribeiro JF, Cordeiro

RA, Sidrim JJC, Monteiro AJ, Rocha MFG. Azole-resistant *Candida albicans* from a wild Brazilian porcupine (*Coendou prebensilis*): a sign of an environmental imbalance? Med Mycol, 2013; 51(5):555-560.

## COVID-19 infections in pets such as cats and dogs

Mehmet Demirci<sup>1</sup>, Akın Yiğın<sup>2</sup>, Bekir Sami Kocazeybek<sup>3</sup>, Oktay Keskin<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Kırklareli University, Kırklareli, Turkey

<sup>2</sup>Department of Genetic, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, Şanlıurfa, Turkey

<sup>3</sup>Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, İstanbul University-Cerrahpaşa, İstanbul, Turkey

<sup>4</sup>Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Harran University, Şanlıurfa, Turkey

**Key Words:**  
SARS-CoV-2  
COVID-19  
cat  
dog  
coronaviruses

**Anahtar Kelimeler:**  
SARS-CoV-2  
COVID-19  
kedi  
köpek  
koronavirüs

Received : 17.06.2021  
Accepted : 06.12.2021  
Published Online : 31.12.2021  
Article Code : 953646

Correspondence:  
O. KEŞKİN  
(email: okeskin@harran.edu.tr)

ORCID  
M. DEMİRCİ : 0000-0001-9670-2426  
A. YİĞİN : 0000-0001-9758-1697  
BS. KOCAZEYBEK: 0000-0003-1072-3846  
O. KEŞKİN : 0000-0002-5977-7872

### ABSTRACT

Coronaviruses are a very large group of virus families that can cause diseases in both different animal species and humans. Infections with different coronaviruses are seen in cats and dogs. The epidemic of COVID-19 infection caused by the SARS-CoV-2 virus still continues all over the world. In this article, we aimed to compile published studies on COVID-19 infections in cats and dogs, which we are in close contact with. When the studies were examined, it was understood that cats were more sensitive to SARS-CoV-2 than dogs after contact with COVID-19 positive individuals in quarantine. Cats may show symptoms in case of infection, compared to dogs. The RBD region where SARS-CoV-2 binds to ACE2 receptors is reported more similar to humans in cats than dogs. ACE2 protein seemed very similar to humans in both cats and dogs compared to other mammals. ACE2 receptor is highly expressed in different tissues of them, according to the study data examined. In a conclusion, SARS-CoV-2 can be detected because ACE2 is frequently expressed in different tissues in domestic animals such as cats and dogs, and the binding site is similar to human ACE2 receptors. In order to prevent zoonotic infections such as COVID-19 infections during the epidemic period when different disciplines need to work together with a single health approach, we believe that molecular surveillance studies should be carried out on our close friends such as cats and dogs. The data should be presented in public database and followed.

### Kedi ve Köpeklerde COVID-19 Enfeksiyonları

#### ÖZ

Koronavirüsler, hem farklı hayvan türlerinde, hem de insanlarda hastalıklara neden olabilen çok geniş bir virus ailesi grubudur. Kedi ve köpeklerde farklı koronavirüslerle enfeksiyonlar görülmektedir. SARS-CoV-2 virüsü tarafından oluşturulan COVID-19 enfeksiyonu salgını tüm dünyada halen devam etmektedir. Bu derlemede insanlarla yakın temasta bulunan kedi ve köpeklerde COVID-19 enfeksiyonları ile ilgili yayınlanan çalışmaların değerlendirilmesi amaçlandı. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, karantinadaki COVID-19 pozitif bireylerle temasları sonrası kedilerin, SARS-CoV-2'ye köpeklere göre daha duyarlı olduğu anlaşılmaktadır. Kediler enfeksiyon durumunda köpeklere göre semptom gösterebilmektedir. SARS-CoV-2'nin ACE2 reseptörlerine bağlandığı RBD bölgesinin, kedilerde köpeklere kıyasla insanlara daha fazla benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. Diğer memelilere göre hem kedi, hem de köpeklerde ACE2 proteini insanlara oldukça benzer olduğu görülmüştür. İncelenen çalışma verilerine göre, kedi ve köpeklerin farklı dokularında ACE2 reseptörü yüksek oranda eksprese edilmektedir. Sonuç olarak, SARS-CoV-2 kedi ve köpek gibi evcil hayvanlarda ACE2'nin farklı dokularında sıklıkla eksprese edilmesi ayrıca bağlanma bölgesinin insan ACE2 reseptörlerine benzer olmaları dolayısıyla tespit edilebilmektedir. Tek sağlık yaklaşımı ile farklı disiplinlerin birlikte çalışması gereken salgın döneminde COVID-19 enfeksiyonları gibi zoonotik enfeksiyonların önlenmesi için kedi ve köpek gibi yakın dostlarımızda moleküler surveyans çalışmalarının yapılması ve verilerin açık veritabanlarında sunulması amacıyla takip edilmesini önermekteyiz.

### INTRODUCTION

Coronaviruses are a very large group of virus families that can cause diseases in both different animal species and humans. Animal coronaviruses can also cause different diseases in the respiratory tract, gastrointestinal system and / or neurological systems of a wide variety of hosts, as in humans (1). "Coronavirus disease 2019 (COVID-19)" and its causative agent "severe acute respiratory syndrome coronavirus-2" (SARS-CoV-2), is a virus in the Coronaviridae family which

was first encountered in cases of infection of unknown cause at Wuhan province of China, in December 2019 (2).

The first coronavirus species that is important in terms of global health was the severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) in 2003, and it was reported that the source of transmission to humans was Horseshoe bat (*Rhinolophus ferrumequinum*) species. Less than a decade later, the Middle East respiratory syndrome (MERS) disease, also caused by a coronavirus (MERS-CoV), emerged and

became an endemic disease in the Middle East, Africa and Southeast Asia. Although the zoonotic origins of MERS-CoV remain unclear, it was estimated that the virus was transmitted from bat species to dromedary camels in the past and these camels could also be the source (3).

In SARS-CoV-2, although the first source of the virus that causes disease is not known clearly, it has been reported that the first cases diagnosed are linked to the Huanan Seafood Wholesale Market, where people can buy wild animals such as bats (2). In this market, before the epidemic, a wide variety of live animals were sold, including fish and shellfish, as well as hedgehogs, badgers, snakes and poultry. In addition, there were animal food products as well as livestock sales (3).

SARS-CoV-2 has so far been effective in 216 countries all over the world, infected nearly 121 million people and caused the death of nearly 2.7 million people (4). Despite the high number of cases encountered in humans, the number of data supporting reverse zoonotic transmission of SARS-CoV-2 is limited. However, there were reports that animals become infected after close contact with infected people or their quarantine owners with domestic animals and animals in zoos (3,5). Although the number of cases in humans is followed, this situation in animals is not followed, considering that pet owners may leave these animals in panic. In fact, there are publications reporting that cat and dog species have seroconversion and SARS-CoV-2 infection after these reverse transmissions (5, 6).

Coronavirus infections in animals are usually enzootic and can affect certain species for a long time. The exceptional replication mechanisms of coronaviruses and the possibility of recombination events that may occur during their reproduction are two main factors that can lead to interspecies and interspecies transitions of coronaviruses and elevated their zoonotic potential. Therefore, understanding coronavirus infections in animals that frequently live as friends and are in close contact with humans, such as cat and dog species, is crucial to understanding different aspects of the ecology and evolution of coronaviruses (1,5,7, 8).

In order to prevent viral zoonotic infections such as COVID-19 infections during the epidemic period when different disciplines need to work together with an one health perspective, it is important to understand not only human health but also how the animals affected for this situation (6). Aim of this study was to review published studies on COVID-19 infections in cats and dogs, which we are in close contact with.

#### *SARS-CoV-2 Morphology and zoonotic potential*

In electron microscopy negative staining, it is seen that SARS-CoV-2 contains lipid bilayer, viral RNA and structural proteins derived from the host membrane with a diameter of 90/120 nm. Being members of the betacoronavirus genus in Coronaviridae family, SARS-CoV-2 contains four structural proteins called S (spike), E (envelope), M (membrane) and N (nucleocapsid) proteins. The S protein has a very critical role for entry into the host cell (7). SARS-CoV-2 infects human cells

by binding to the cell surface protein angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) via the Receptor Binding Domain (RBD) of the S protein, at this stage the cellular transmembrane serine protease 2 (TMPRSS2) is required to cut the viral S protein and make it ready (9). This receptor is found in all major vertebrate groups. The results of the study to estimate host sensitivity based on amino acid sequence similarity between human ACE2 (hACE2) receptors and non-human ACE2 receptors; demonstrated that hACE2 has a high degree of similarity with the viral binding site, which are amino acid residues in which it interacts with the SARS-CoV-2 spike glycoprotein (10).

#### *COVID-19 infections detected in cat and dog species*

Feline coronaviruses (FCoVs), members of the alphacoronavirus genus in Coronaviridae family, are widely known coronavirus members as agents that can infect both domestic and wild cats. There are 2 subtypes as FCoV I and II subtypes. While FCoV type I is known as the main subtype, FCoV type II is formed as a result of the alteration of feline coronaviruses (FCoV type I) by recombination with canine coronaviruses (CCoV), which is also a member of the alphacoronavirus genus, which is frequently detected in dogs (11).

Canine coronavirus (CCoV), which is common coronavirus in dogs and has two subtypes, type I and type II, just like FCoV. In dogs, canine respiratory coronavirus (CRCoV), which is a member of the betacoronavirus genus, also causes infections (11).

While it has been determined in studies that the COVID-19 agent, SARS-CoV-2, replicates in the nose and throat of cats and can cause deeper inflammatory pathology in the respiratory tract and the virus can cause airborne transmission among cats, it has been observed that dogs are less sensitive and do not support viral replication well (12, 13).

Viruses similar to SARS are betacoronaviruses of the B lineage and are quite different from each other with feline coronaviruses (alphacoronaviruses). Therefore, there is currently no conclusive evidence that prior exposure to FCoV will protect against SARS-like viruses; however, serological tests will need to carefully evaluate any potential cross-reactions. As a betacoronavirus member of lineage A, CRCoV is relatively far away from SARS-like betacoronaviruses, including SARS-CoV from lineage B. Previous exposure to CRCoV or CCoV is also unlikely to protect against SARS-like conditions (11).

The first cat in Hong Kong to test positive for SARS-CoV-2 was a domestic short-haired cat quarantined with its COVID-19 positive owner. It was found to be positive for SARS-CoV-2 RNA in swabs of the mouth, nose and rectum. The cat did not show any signs of illness. Experimental studies have shown that cats can have large amounts of the virus in their nasal mucosa and other tissues and release enough virus to allow for cat-to-cat transmission (14). The first case reported in Europe was a cat living in Belgium with its self-isolating owner after developing clinical symptoms one week after his return from Italy and testing positive for SARS-CoV-2 (15). SARS-CoV-2 was detected in two different cats detected by CDC and USDA



in the United States in relation to their COVID-19 positive owners (16). Apart from these, cases of COVID-19 infection associated with human transmission in such cats have been reported in many countries such as France, Spain, Germany, the United Kingdom and Switzerland (17).

Similarly, in dogs, SARS-CoV-2 was detected in 2 out of 15 dogs (in a Pomeranian and a German shepherd species) in a quarantine with its owner in Hong Kong (18). Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) is known to be the human receptor for SARS-CoV-2, but ACE2 receptors in dogs were also found similar to humans. It has been reported that five of the 18 amino acids known to be involved in the interaction between the human ACE2 receptors, the receptor binding domain (RBD) of SARS-CoV-2, differ only between humans and dogs. It has been reported that none of the amino acid residues that cause this difference are regions known to impair the interaction between the RBD of SARS-CoV-2 and ACE2 receptors (18). SARS-CoV-2 positivity in dogs has also been reported in other studies, but when the data were examined, it was found that clinical findings were not frequently seen in dogs (19). Since the beginning of the epidemic, data have shown that it is possible for SARS-CoV-2 to be transmitted from humans to dogs (18). Also, according to the available data, dogs are now considered to be less susceptible hosts to SARS-CoV-2 than cats. Cats may be more sensitive because only 4 amino acid residues differ between cats and humans in the region of the SARS-CoV-2 RBD, which is required to bind to the ACE2 receptor (19). In another study supporting these data, phylogenetic similarity studies based on ACE2 protein sequences using genomic data showed that cats and dogs were the closest clustered species among all mammals included in this analysis. It has been demonstrated that the ACE2 gene is highly expressed in various tissues in these animals, interestingly, it appears that cats express more in lung tissues than dogs. This may be one of the evidence that may explain why dogs are less sensitive than cats (20).

Donnik et al (2021) stated in their study that cats were used as an experimental model for some coronavirus or other viral infections and that they were used as a model for COVID-19 infections due to their similarity with SARS-CoV. They reported that members of the Felidea family could only get SARS-CoV-2 infections under conditions where very close contact and titer of the virus could reach titers close to experimental models. In this review, where they stated that these conditions could not be met, they emphasized that although the infection was shown in experimental models against SARS-CoV in an 18-year period, not a single case of transmission or reverse transmission was observed. They even commented that the SARS-CoV-2 infections to be detected in these animals would be a biological dilemma for these viruses (21). In the same review, in the evaluation made for dogs, they reported that dogs were not sensitive to SARS-CoV-2 for the following two reasons. 1. Failure to detect the virus in dogs, although dogs were vaccinated intranasally with very high virus titers in the experimental setting, and 2. No antibodies against SARS-CoV-2 have been detected in dogs in China during the time of outbreak. They stated that these situations indicated that dogs were not involved in the transmission of this virus (21).

In their study, Chiba et al. (2021), stated that SARS-CoV-2 infections are an unsuitable animal model for cats to see the long-term effects of acute respiratory infections in cats. In this study, they investigated the histopathological changes in the lung tissues of cats that were euthanized on the 28th day and reported that they encountered differentiated lung lesions similar to chronic infection characteristics. However, it was also concluded that domestic cats can be protected from reinfections after primary infection (22).

In their *in silico* analysis study, Rendon-Marín et al examined the homology models of the SARS-CoV-2 spike protein RBD region, which binds with ACE2 receptors, by molecular docking methods in different animal species. They reported that feline cellular ACE2 receptors can interact with the RBD region of the SARS-CoV-2 spike protein and that it shared the same virus binding interface as hACE2. On the other hand, they found that dogs were unable to interact stably with the RBD region of the SARS-CoV-2 S protein cellular ACE2 receptors (23).

When Micheal et al. (2021), examined the respiratory tract samples obtained from cats and dogs at different regions of the World in early 2020 in terms of respiratory pathogens including SARS-CoV-2 with real-time PCR method, they reported that did not detect SARS-CoV-2 RNA in any of the 4616 samples (24). Villanueva-Saz et al. (2021), reported that they detected SARS-CoV-2 seropositivity in 4 out of 114 stray cats in their study (25). Klaus et al, (2021), with a case report, explained that they detected long-term seropositivity in a cat in Italy. This cat showed respiratory symptoms and the SARS-CoV-2 RNA result was also positive (26).

As Na et al (2021), reported in their studies, coronaviruses members had considered as an underestimated pathogen until the SARS-CoV epidemic in 2003. Considering that it was described in 1931, despite 90-years period, our knowledge about coronaviruses is still limited (27). Bonilauri and Rugna recommended that maintaining veterinary controls of zoonotic diseases for early detection of SARS-CoV-2 in animals. They stated that the positivity of SARS-CoV-2 in animals should be examined systematically and the importance of determining the molecular epidemiology of the strain in these animals by sequencing methods. They stated that these data should be submitted public database in order to avoid dangerous variants (28). Although increasing numbers of SARS-CoV-2 infections have been reported in dogs and cats, long-term follow-up studies evaluating the persistence of antibodies developed in these animals and seroconversion status were still limited (29, 30). Decaro et al. (2021), Dileepan et al., (2021), and Yılmaz et al, (2021) showed that cats and dogs develop specific and neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 as in humans, but new studies are needed to understand how the presence of these specific and neutralizing antibodies protects these animals (29, 30, 31). Recently, Yılmaz et al. (2021), revealed that the situation in cats from our country is not different from other countries (31). Due to the nature of the virus, it is not surprising that it is similarly seen in our country (2, 32, 33). In recent studies, SARS-CoV-2 virus and its variants have also been detected in cats, dogs and their owners, genomic

characterizations have been made and it has been revealed that SARS-CoV-2 positive individuals should have limited contact with these animals (34).

## CONCLUSION

As a conclusion, COVID-19 infection and its agent, SARS-CoV-2, can be detected because ACE2 is frequently expressed in different tissues in domestic animals such as cats and dogs, and the binding site is similar to human ACE2 receptors. However, binding to these receptors does not appear to be strong, especially in dogs. It should always be kept in mind that coronaviruses are a large family, there may be different coronavirus members in cats and dogs, and the similarity of these viruses in their replication mechanisms. In order to prevent viral zoonotic infections such as COVID-19 infections during the pandemic period in which different disciplines need to work together with a one health perspective, we believe that molecular surveillance studies should be carried out in our close friends such as cats and dogs, and the data should be presented in public database and followed up.

## DECLARATIONS

### Ethics Approval

This document does not require an ethics committee approval.

### Conflict of Interest

Authors declare that there is no conflicts of interest for this study.

### Author Contribution

All authors contributed to every step of the article.

### Data Availability

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request

## REFERENCES

- Colina SE, Serena MS, Echeverría MG, Metz GE. Clinical and molecular aspects of veterinary coronaviruses. *Virus Res.* 2021;297:198382. doi:10.1016/j.virusres.2021.198382
- Demirci M, Ünlü Ö, Yiğın A, Yıldız Zeyrek F. SARSCoV-2 patogenezi ve Covid-19'da immün yanıt. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg.* 2020;50(4):183-91
- Hedman HD, Krawczyk E, Helmy YA, Zhang L, Varga C. Host Diversity and Potential Transmission Pathways of SARS-CoV-2 at the Human-Animal Interface. *Pathogens.* 2021;10(2):180. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020180>
- World Health Organization (WHO), Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic. [<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>] (Erişim tarihi: 18.03.2021.)
- Saegerman C, Bianchini J, Renault V, Haddad N, Humblet MF. First expert elicitation of knowledge on drivers of emergence of the COVID-19 in pets. *Transbound Emerg Dis.* 2020;10.1111/tbed.13724. doi:10.1111/tbed.13724
- Yoo HS, Yoo D. COVID-19 and veterinarians for one health, zoonotic- and reverse-zoonotic transmissions. *J Vet Sci.* 2020;21(3):e51. doi:10.4142/jvs.2020.21.e51
- Siddiq MA, Rao DS, Suvarna G, Chennamachetty VK, Verma MK, Rao MVR. In-Silico Drug Designing of Spike Receptor with Its ACE2 Receptor and Nsp10/Nsp16 MTase Complex Against SARS-CoV-2. *Int J Pept Res Ther.* 2021;1-8. doi:10.1007/s10989-021-10196-x
- Atlı K, Saltık HS, Yıldırım Y. Impact of weather conditions and global warming on COVID-19 outbreak. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences.* 2020; 0(Covid-19 Special Issue): 118 - 121. Doi: 10.15312/EurasianJvetSci.2020.287
- Trougakos, I.P., Stamatelopoulos, K., Terpos, E. et al. Insights to SARS-CoV-2 life cycle, pathophysiology, and rationalized treatments that target COVID-19 clinical complications. *J Biomed Sci* 2021;28:9. doi:10.1186/s12929-020-00703-5
- Fischhoff IR, Castellanos AA, Rodrigues JPGLM, Varsani A, Han BA. Predicting the zoonotic capacity of mammal species for SARS-CoV-2. Preprint. bioRxiv. 2021.02.18.431844. doi:10.1101/2021.02.18.431844
- Stout AE, André NM, Jaimes JA, Millet JK, Whittaker GR. Coronaviruses in cats and other companion animals: Where does SARS-CoV-2/COVID-19 fit? *Vet Microbiol.* 2020;247:108777. doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108777.
- Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, Liu R, He X, Shuai L, Sun Z, Zhao Y, Liu P, Liang L, Cui P, Wang J, Zhang X, Guan Y, Tan W, Wu G, Chen H, Bu Z. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science.* 2020;368(6494):1016-1020. doi: 10.1126/science.abb7015.
- Saltık HS, Atlı K, Kale M. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): pathogenesis and virus-host interactions. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences.* 2020; 0(Covid-19 Special Issue): 59 - 64. doi: 10.15312/EurasianJvetSci.2020.288.
- Barrs VR, Peiris M, Tam KWS, Law PYT, Brackman CJ, To EMW, Yu VYT, Chu DKW, Perera RAPM, Sit THC. SARS-CoV-2 in Quarantined Domestic Cats from COVID-19 Households or Close Contacts, Hong Kong, China. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(12):3071-3074. doi: 10.3201/eid2612.202786.
- Garigliany M, Van Laere AS, Clercx C, Giet D, Escriou N, Huon C, van der Werf S, Eloit M, Desmecht D. SARS-CoV-2 Natural Transmission from Human to Cat, Belgium, March 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(12):3069-3071. doi: 10.3201/eid2612.202223.
- Newman A, Smith D, Ghai RR, et al. First Reported Cases of SARS-CoV-2 Infection in Companion Animals — New York, March–April 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020;69:710–713. doi: 10.15585/mmwr.mm6923e3

17. Hosie MJ, Hofmann-Lehmann R, Hartmann K, et al. Anthropogenic Infection of Cats during the 2020 COVID-19 Pandemic. *Viruses*. 2021;13(2):185. doi:10.3390/v13020185.
18. Sit, T.H.C., Brackman, C.J., Ip, S.M. et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature* 2020;586:776–778 doi:10.1038/s41586-020-2334-5
19. do Vale B, Lopes AP, Fontes MDC, Silvestre M, Cardoso L, Coelho AC. Bats, pangolins, minks and other animals - villains or victims of SARS-CoV-2?. *Vet Res Commun*. 2021;45(1):1-19. doi:10.1007/s11259-021-09787-2
20. Sun K, Gu L, Ma L, Duan Y. Atlas of ACE2 gene expression reveals novel insights into transmission of SARS-CoV-2. *Heliyon*. 2021;7(1):e05850. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05850.
21. Donnik IM, Popov IV, Sereda SV, Popov IV, Chikindas ML, Ermakov AM. Coronavirus Infections of Animals: Future Risks to Humans. *Biol Bull Russ Acad Sci*. 2021;48(1):26-37. doi:10.1134/S1062359021010052
22. Chiba S, Halfmann PJ, Hatta M, et al. Protective Immunity and Persistent Lung Sequelae in Domestic Cats after SARS-CoV-2 Infection. *Emerg Infect Dis*. 2021;27(2):660-663. doi:10.3201/eid2702.203884
23. Rendon-Marin S, Martinez-Gutierrez M, Whittaker GR, Jaimes JA, Ruiz-Saenz J. SARS CoV-2 Spike Protein in silico Interaction With ACE2 Receptors From Wild and Domestic Species. *Front Genet*. 2021;12:571707. doi: 10.3389/fgene.2021.571707.
24. Michael HT, Waterhouse T, Estrada M, Seguin MA. Frequency of respiratory pathogens and SARS-CoV-2 in canine and feline samples submitted for respiratory testing in early 2020. *J Small Anim Pract*. 2021;10.1111/jsap.13300. doi:10.1111/jsap.13300
25. Villanueva-Saz S, Giner J, Tobajas AP, Pérez MD, González-Ramírez AM, Macías-León J, González A, Verde M, Yzuel A, Hurtado-Guerrero R, Pardo J, Santiago L, Paño-Pardo JR, Ruíz H, Lacasta DM, Sánchez L, Marteles D, Gracia AP, Fernández A. Serological evidence of SARS-CoV-2 and co-infections in stray cats in Spain. *Transbound Emerg Dis*. 2021;9. doi: 10.1111/tbed.14062
26. Klaus J, Palizzotto C, Zini E, et al. SARS-CoV-2 Infection and Antibody Response in a Symptomatic Cat from Italy with Intestinal B-Cell Lymphoma. *Viruses*. 2021;13(3):527. doi:10.3390/v13030527
27. Na W, Moon H, Song D. A comprehensive review of SARS-CoV-2 genetic mutations and lessons from animal coronavirus recombination in one health perspective. *J Microbiol*. 2021;59(3):332-340. doi:10.1007/s12275-021-0660-4
28. Bonilauri P, Rugna G. Animal Coronaviruses and SARS-COV-2 in Animals, What Do We Actually Know?. *Life (Basel)*. 2021;11(2):123. doi:10.3390/life11020123
29. Decaro N, Grassi A, Lorusso E, et al. Long-term persistence of neutralizing SARS-CoV-2 antibodies in pets. *Transbound Emerg Dis*. 2021 Sep 1. doi: 10.1111/tbed.14308.
30. Dileepan M, Di D, Huang Q, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 (COVID-19) exposure in pet cats and dogs in Minnesota, USA. *Virulence*. 2021;12(1):1597-1609. doi:10.1080/021505594.2021.1936433
31. Yılmaz A, Kayar A, Turan N, et al. Presence of Antibodies to SARS-CoV-2 in Domestic Cats in Istanbul, Turkey, Before and After COVID-19 Pandemic. *Frontiers in Veterinary Science* 2021;8:1123. doi:10.3389/fvets.2021.707368
32. Aydın H, Timurkan MÖ. SARS CoV-2 bulaşma ve replikasyon dinamiği. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*. 2020; 0(Covid-19 Special Issue): 17 - 22. doi: 10.15312/EurasianJVetSci.2020.289.
33. Yeşilbağ K., Aytoğu G. Coronavirus host divergence and novel coronavirus (SARS-CoV-2) outbreak. *CEOTI*. 2020; 2(1): 6-14.
34. Yaglom HD, Hecht G, Goedderz A, et al. Genomic investigation of a household SARS-CoV-2 disease cluster in Arizona involving a cat, dog, and pet owner. *One Health*. 2021;13:100333. doi: 10.1016/j.onehlt.2021.100333.