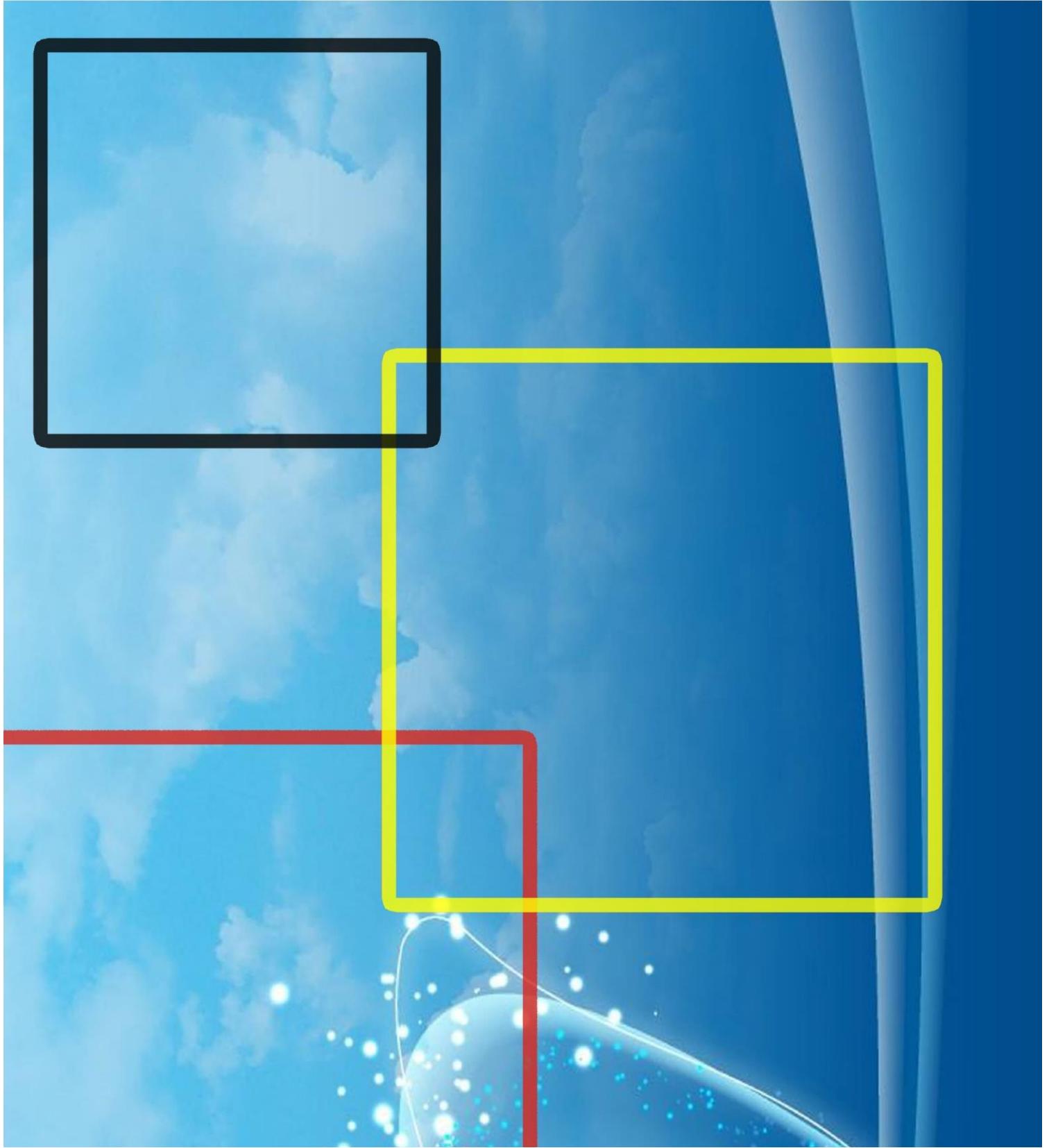




VAN VETERINARY JOURNAL

Year: 2022 / Volume: 33 / Issue:1

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





March - 2022



VAN VETERINARY JOURNAL

This journal previously published as: **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**

ISSN: 2149-3359

E-ISSN: 2149-8644

Owner

Prof. Dr. Musa GENÇCELEP (Dean)

Editor-in Chief

Prof. Dr. Cumali ÖZKAN

Van YU, Faculty of Veterinary, Journal Editorial, 65080 - Campus / Van - Turkey

Tel: +90 (432) 225 10 28 Fax: +90 (432) 225 11 27 e-mail: vfd@yyu.edu.tr

Editors (Editorial Board)

Assist. Prof. Dr. Caner KAYIKCI (Co-Editor)	Res. Assist. Dr. Halil Cumhuri YILMAZ (Electronic Journal Editor)
Assist. Prof. Dr. Nebi ÇETİN (Technical Editor)	Assoc. Prof. Dr. Bekir OĞUZ (Proof Quality Editor)
Assist. Prof. Dr. Yağmur KUŞCU (Technical Editor)	Assoc. Prof. Dr. Adnan AYAN (Proof Quality Editor)
Assoc. Prof. Dr. Gamze ÇAKMAK (Language Editor)	Assoc. Prof. Dr. Abdullah KARASU (Section Editor)
Res. Assist. Dr. Mustafa ÖZBEK (Language Editor)	Assoc. Prof. Dr. Leyla MİS (Section Editor)
Prof. Dr. Abdullah YEŞİLOVA (Statistical Editor)	Assoc. Prof. Dr. Turan YAMAN (Section Editor)
Assist. Prof. Dr. Sadi ELASAN (Statistical Editor)	Assist. Prof. Dr. Tuncer ÇAKMAK (Section Editor)
Assist. Prof. Dr. Ahmet Fatih DEMİREL (Electronic Journal Editor)	Assist. Prof. Dr. Çağrı KALE (Section Editor)

Publication Board

Dr. Abdullah KAYAR (Istanbul University-Cerrahpasa)	Dr. Jose Ramiro GONZALEZ MONTANA (University of Leon - Spain)
Dr. Ahmet Cihat ÖNER (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. M. Saleem AKHTAR (Bahauddin Zakariya University - Pakistan)
Dr. Ali Evren HAYDARDEDEOĞLU (Aksaray University)	Dr. Madalina G. ALBU KAYA (INCDDTP Institute - Romania)
Dr. Ali Rıza BABAOĞLU (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Memiş BOLACALI (Siirt University)
Dr. Ardavan FARHADI (Shantou University - China)	Dr. Mian Muhammed AWAİS (Bahauddin Zakariya University - Pakistan)
Dr. Askarbek TULEBAEV (Manas University - Kyrgyzstan)	Dr. Mojtaba RAEİSİ (Golestan university - Iran)
Dr. Axel WEHREND (Giessen University - Germany)	Dr. Murat GÜZEL (Ondokuz Mayıs University)
Dr. Aynur ŞİMŞEK (Dicle University)	Dr. Okan EKİM (Ankara University)
Dr. Bahattin ÇAK (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Omar ATROOZ (Mutah University - Jordan)
Dr. Behnam ROSTAMÍ (Zanjan University - Iran)	Dr. Omar BELLANDA (University of Republic - Uruguay)
Dr. Bengi ÇINAR KUL (Ankara University)	Dr. Orhan YILMAZ (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Cihat ÖZTÜRK (Kırşehir Ahi Evran University)	Dr. Ornampai JAPA (Phayao University - Thailand)
Dr. Cristian MAGDAS (SAMV University - Romania)	Dr. Serkan YILDIRIM (Atatürk University)
Dr. Ehab ABU-BASHA (Jordan University (JUST) - Jordan)	Dr. Tahereh MOHAMMADABADI (Khuzestan University - Iran)
Dr. Ejaz AHMAD (Bahauddin Zakariya University - Pakistan)	Dr. Tohid Rezaei TOPRAGGALEH (Tabriz University - Iran)
Dr. Faina SHAKİROVA (Kazan State Academy - Russia)	Dr. Ulaş ACARÖZ (Afyon Kocatepe University)
Dr. Feraye ESEN GURSEL (Istanbul-Cerrahpasa University)	Dr. Volkan KOŞAL (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Gert W. NIEBAUER (Vetmeduni Vienna - Austria)	Dr. Yeter DEĞER (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Golam KİBRİA (CVAS University - Bangladesh)	Dr. Yunus ÇETİN (Burdur Mehmet Akif Ersoy University)
Dr. James M. MAY (Vanderbilt University - USA)	

Advisory Board

Dr. Abdullah KAYA (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Nihat MERT (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Abeer F. El NAHAS (Alexandria University - Egypt)	Dr. Oğuz KUL (Kırıkkale University)
Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU (Ankara University)	Dr. Ömer BEŞALTI (Ankara University)
Dr. Cenk YARDIMCI (Ondokuz Mayıs University)	Dr. Saadet BELHAN (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Durmuş Alpaslan KAYA (Hatay Mustafa Kemal University)	Dr. Suphi DENİZ (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Engin KENNERMAN (Bursa Uludag University)	Dr. Taylan AKSU (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Füsün TEMAMOĞLU (Harran University)	Dr. Turan CİVELEK (Ayfyon Kocatepe University)
Dr. Hüseyin KARADAĞ (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Yakup Can SANCAK (Van Yuzuncu Yil University)
Dr. Mecit YÖRÜK (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Yılmaz ARAL (Ankara University)
Dr. Nazmi ATASOY (Van Yuzuncu Yil University)	Dr. Zabit YENER (Van Yuzuncu Yil University)

This journal is published three times a year. Journal Title Abbreviation: Van Vet J

All articles in this journal are available free of charge from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/vanveti>

Year	Volume	Issue
2022	33	1

This journal indexed / abstracted in Asos Index, CAB Abstracts, EBSCOhost, Google Scholar, Index Copernicus, Sobiad and Türkiye Atif Dizini



March - 2022



VAN VETERINARY JOURNAL

This journal previously published as: **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**

Scientific Board of This Issue

Prof. Dr. Cenk YARDIMCI (Ondokuz Mayıs University)	Assoc. Prof. Dr. Saadet BELHAN (Van Yuzuncu Yil University)
Prof. Dr. Halil Selçuk BİRİCİK (Afyon Kocatepe University)	Assoc. Prof. Dr. Sami GÖKPINAR (Kirikkale University)
Prof. Dr. Pınar AYVAZOĞLU DEMİR (Kafkas University)	Assoc. Prof. Dr. Vural DENİZHAN (Van Yuzuncu Yil University)
Prof. Dr. Ramazan GÖNENCİ (Hatay Mustafa Kemal Univ.)	Assist. Prof. Dr. Hasan AYDIN (Adiyaman University)
Prof. Dr. Süleyman KOZAT (Van Yuzuncu Yil University)	Assist. Prof. Dr. Özlem BİÇİCİ (Siirt University)
Prof. Dr. Yunus ÇETİN (Burdur Mehmet Akif Ersoy University)	Assist. Prof. Dr. Sadık Serkan AYDIN (Harran University)
Assoc. Prof. Dr. Cafer Tayer İŞLER (Hatay Mustafa Kemal Univ.)	Res. Assist. Dr. Mehmet KAYA (Aydin Adnan Menderes University)
Assoc. Prof. Dr. Caner OZTURK (Aksaray University)	Res. Assist. Dr. Merve İDER (Selcuk University)
Assoc. Prof. Dr. Muharrem EROL (Balikesir University)	

This journal is published three times a year. Journal Title Abbreviation: Van Vet J
All articles in this journal are available free of charge from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/vanvetj>

Year	Volume	Issue
2022	33	1

This journal indexed / abstracted in Asos Index, CAB Abstracts, EBSCOhost, Google Scholar, Index Copernicus, Sobiad and Turkiye Atif Dizini

CONTENTS

Original Articles

- **Karlı B.** Evaluation of the Treatment of Feline Metacarpal and Metatarsal Fractures Using Dowel Pinning Technique (Kedi Metakarpal ve Metatarsal Kırıklarının Dowel Pin Tekniği ile Tedavisinin Değerlendirilmesi) **1-5**
- **Şahin M, Yavaş İ, Coşkun Çetin N, Yalçın Ok, Demirezer H.** Damascus Irkı Tekelerde Farklı Sulandırıcıların Kısa Süreli Saklama ve Fertiliteye Etkisi (The Effect of Different Diluents on Short-Term Storage and Fertility in Damascus Goats) **6-12**
- **Kurt S, Eşki F, Salar S, Baştan A.** Investigation of Milk Somatic Cell Counts During Early Lactation Stages in Awassi Ewes (İvesi koyunlarında erken laktasyon dönemindeki süt somatik hücre sayılarının araştırılması) **13-16**
- **Düzgün A, Aslan L.** Termografinin Sığır Ayak Hastalıklarının Tanısında Kullanımı (Use of Thermography in the Diagnosis of Bovine Foot Diseases) **17-25**
- **Akyüz E, Sezer M, Kuru M, Naseri A.** Changes in Hematology, Some Clinical Biochemical Parameters and Mineral Levels in Neonatal Calves with Sepsis due to Diarrhea (İshal Kaynaklı Sepsisli Neonatal Buzağılarda Hematoloji, Bazı Klinik Biyokimyasal Parametreler ve Mineral Düzeylerinin Değişimi) **26-30**
- **Aysöndü MH, Özyürek S, Türkyılmaz D.** Comparative Study between Ewe and Goats Milk Fatty Acid Profile and Some Healthy Index in The First 30 Days of Lactation (Laktasyonun İlk 30 Gününde Koyun ve Keçi Sütündeki Yağ Asidi Profili ile Bazı Sağlık İndekslerinin Karşılaştırılması) **31-35**

Review

- **Ağan UB, Hosseinpour Raouf S, Uzun B, Meral Y.** The Hidden Potential of Herbal Remedies and Nutraceuticals in Canine and Feline Behavioural Disorders (Kedi ve Köpeklerin Davranış Bozukluklarında Bitkisel Remedilerin ve Nutrasötiklerin Gizli Potansiyeli) **36-41**

Case Report

- **Eren G, Açıcı M, Gürler AT, Bölükbaş CS, Umur Ş.** Bir Tekede (*Capra hircus*) *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: *Sarcophagidae*)'dan Kaynaklanan Preputial Myiasis Olgusu (A Case of Preputial Myiasis Caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: *Sarcophagidae*) in a Domestic Male Goat (*Capra hircus*)) **42-45**



Evaluation of the Treatment of Feline Metacarpal and Metatarsal Fractures Using Dowel Pinning Technique

Birkan KARSLI¹ *

¹Kirikkale University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, 71451, Kirikkale, Turkey

Received: 23.08.2021

Accepted: 12.09.2021

ABSTRACT

This study is aimed to evaluate the postoperative results of the operations performed with the dowel pin technique in metacarpal (Mc) and metatarsal (Mt) fractures of cats, clinically and radiologically. A retrospective evaluation was carried out for 10 cats with Mc and Mt fractures by performing clinical and radiographic examinations for an average of 4.5 months after surgery using the dowel pin technique. In the evaluation, the number of fractures, fracture type and localization, fracture healing, and postoperative complications resulting from clinical and radiographic results, postoperative observations, and the animal owners' observations in the postoperative process were considered. Questionnaires made to animal owners were evaluated. Clinical and radiographic evaluation of the cats included in the study was performed. After the 12th week of the study, there was no information from two cats. Nine of the clients (90%) reported no significant change in their cat's walking after treatment. One client reported that after 4 weeks postoperatively, the cat kept its extremity at rest and suffered from persistent lameness at a minimal level. In conclusion, despite the limited case series of the study, it is seen that the dowel pin technique is a simple, economic, effective, and reliable method for the surgical healing of Mc and Mt bone fractures.

Keywords: Cat, Fracture, Metacarpus, Metatarsus.

ÖZ

Kedi Metakarpal ve Metatarsal Kırıklarının Dowel Pin Tekniği ile Tedavisinin Değerlendirilmesi

Çalışmada kedilerin metakarpal (Mc) ve metatarsal (Mt) kırıklarında dowel pin tekniği ile yapılan operasyonların postoperatif sonuçlarının klinik ve radyolojik değerlendirilmesi amaçlandı. Mc ve mt kırıkları olan 10 kedinin dowel pin tekniği kullanılarak yapılan ameliyatları sonrası ortalama 4.5 ay süreyle klinik ve radyografik muayeneleri yapılarak geriye dönük değerlendirmesi yapıldı. Değerlendirmede, kırık sayısı, kırık tipi ve lokalizasyonu, klinik ve radyografik sonuçlar neticesinde kırık iyileşmesi ve postoperatif komplikasyonlar ile hayvan sahiplerinin postoperatif süreçteki gözlemleri dikkate alındı. Hayvan sahiplerine yapılan anketler değerlendirildi. Çalışmaya alınan kedilerin klinik ve radyografik değerlendirilmesi yapıldı. Çalışmadaki 10 kedinin 2 tanesinden 12. haftadan sonra haber alınamadı. 10 hayvan sahibinden 9'u (%90), tedaviden sonra kedilerinin yürüyüşünde belirgin bir değişiklik olmadığını bildirdi. Bir kedi sahibi, postoperatif 4. haftadan sonra kedinin dinlenme esnasında ekstremitesini askıda tuttuğunu ve minimum seviyede kalıcı topallık olduğunu bildirdi. Sonuç olarak, bu çalışmadaki az sayıda hayvan bulunmasına rağmen, dowel pin tekniğinin mc ve mt kemik kırıklarının cerrahi onarımı için basit, ucuz, etkili ve güvenilir bir yöntem olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Kedi, Kırık, Metakarpus, Metatarsus.

INTRODUCTION

Metacarpal and metatarsal fractures are common injuries in small animals, forming 8.1% of all fractures in dogs and 3.3% in cats. These fractures usually occur due to trauma resulting from traffic accidents, falling from a height, or stepping on the extremity. It has been reported that lower extremity fractures are seen at a rate of 10% due to cat fall syndrome (Fitzpatrick 2017; McBrain Jr 2020). The fracture location (base, trunk, head of bone) and the

number of bones affected are essential criteria for deciding on appropriate treatment. Surgical operation is required to treat open fractures, dislocated and comminuted fractures, when Mc and Mt 3 and 4 fractures bear the burden of the extremity, more than 2 Mc or Mt fractures in one extremity (Muir and Norris 1997; Kapatkin et al. 2000). Since cats have minor Mc and Mt bones, many surgeons prefer external coaptation rather than open reduction and internal fixation (Rasmussen 2018). Internal fixation techniques in cats are limited to intramedullary pins, mini-



plates, and screws due to their small bone structures. Kirschner wires (K-wire) are used as intramedullary pins because of their small bone structure. K-wire is sent to the distal fragment in retrograde fashion; after reducing the bone fragments, the proximal fragment is sent retrogradely to the medulla for fixation. The operation is completed by bending the distal pin end. However, damage in the metacarpophalangeal diarthrosis is a common complication of this technique (Manley 1981; Benedetti et al. 1986) Dowel pinning is a technique that involves inserting a K-wire into the intramedullary canal in Mc or Mt fractures of small animals. This technique is performed by embedding the K-wire into the intramedullary canal by distracting the fracture fragments (Degaspero et al. 2007; Kornmayer and Matis 2017)

This study aimed to evaluate the clinical and radiological postoperative results of operations performed using the dowel pinning technique in metacarpus and metatarsus fractures of cats.

MATERIAL AND METHODS

This study has been approved by the Local Ethics Committee of Kirikkale University (decision date 08.07.2020 and numbered 31).

The study material consists of 10 cats of different races, ages, and sexes brought to Kirikkale University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery between 2019-2021 with complaints of Mc and Mt fracture. Animal owners were informed about the operation and postoperative process to be performed on the animal. Moreover, informed consent forms were obtained from the animal owners. Animals with systemic diseases and osteoarthritis, which might adversely affect walking in the relevant extremity, were excluded from the study.

Operation Technique

Osteosynthesis was performed in closed fractures involving only one severely displaced bone and fractures involving two or more Mc or Mt bones of the same extremity. A longitudinal incision was made on the dorsal surface of the metacarpus or metatarsus over the fracture location. The soft tissue was preserved by minimal dissection near the fracture location. In this way, care was taken not to damage the tendons while exposing the broken bone. The bone fragments, which were carefully handled with Mosquito forceps, were exposed without damaging the tendon and the bone periosteum. A retrograde K-wire (08 to 1.0 mm diameter, 316l stainless steel) filling the longitudinal canal was inserted into the medullary canal of the long bone fragment and cut to protrude approximately 8-16 mm from the tip of the fracture. A K-wire in the same thickness was sent and removed again to open the medullary canal of the short fragment. The bone fragments held with Mosquito forceps were mutually distracted. The free K-wire end was placed at the medullary canal entrance, and light pressure was applied on the bones from the dorsal, and the free K-wire end was placed into the medullary canal of the short fragment. The free end of the K-wire was shortened as necessary when it was challenging to insert the free K-wire end into the medullary canal of the short fragment. After the K-wire was placed, the broken ends were gently pushed towards each other and aligned anatomically (Zahn et al. 2007). This procedure was repeated for all Mc and Mt fractures. After the fracture reduction procedure was completed, the subcutaneous tissue and skin were closed. The supported bandage was applied to the palmar

or plantar part of the relevant extremity for 4 weeks postoperatively, and the clients were advised to bring the animal for regular control while in the bandage.

The balanced electrolyte solution was administered intravenously at a dose of 10 ml/kg to all cats included in the study during the operation. Against the risk of infection, preoperative cefazolin sodium (Eqizolin: Tüm Ekip İlaç A.Ş., Turkey) was administered at a dose of 25 mg/kg preoperatively, and amoxicillin-clavulanate (Synulox; Pfizer, Germany) at a dose of 20 mg/kg for 5 days postoperatively by SC route. For analgesia, perioperative butorphanol (Butomidol; Richterpharma, Austria) was administered at IM at a dose of 0.2 mg/kg, and meloxicam (Maxicam; Sanovel, Turkey) was administered at SC at a dose of 0.2 mg/kg for 3 days postoperatively.

Evaluation of the Results

Clinical examination and radiological evaluations were performed during the follow-up period, ranging from 3 to 7 months. All animal owners were given the same questionnaire (Appendix A) (Degaspero et al. 2007) evaluating lameness, pain, and problems associated with the supported bandage or implants used after bandage removal. Follow-up radiographs of fractures were evaluated to assess fracture healing and detect complications, particularly synostosis, malunion, nonunion, and implant failures such as twisting or fracture.

RESULTS

10 cats were included in the study. 7 of them were male, while 3 of them were female. Their ages ranged from 5 to 54 months (mean±SD: 21.40±15.05), and their mean body weight was 4.02±0.77 (mean±SD) kg. In total, 33 of 36 fractures were operated; it included 12 forelimbs and 1 hindlimb. Bilateral Mc fractures were found in 3 out of 10 cats in the study. Mc III and IV bones were most frequently affected, and Mc I was never fractured. Eight cats were brought for a final clinical and radiological examination. Two cats could not be reached at the 12th week controls since they were cats fed in the garden. In total, 21 of 36 fractures healed without any complications.

The Results Reported by the Clients

During the study, all clients were contacted, and information about their postoperative status was obtained. The 7 operated cats accepted the bandage, and cats wore the bandage for 1 to 4 weeks (mean±SD: 2.56±1.13 weeks). Although 3 cats were bandaged, the bandages could not be kept in place because the cats constantly played with and removed the bandage. On the other hand, in the examinations performed, there were no signs of abnormal walking and pain on palpation in all the cats that were bandaged or not. Nine cats owners reported that their cat's walking was similar to its preoperative appearance from six weeks postoperatively. The owner of one of the cats, who did not accept the bandage, reported that the cat used its extremity comfortably after the postoperative 6th week, kept the relevant extremity upwards during rest, and there was minimal permanent lameness. A control X-ray of this animal showed that there is a malunion in one of the Mc bones. Five cats owners reported sensitivity in palpation after removing the bandage, but they reported that this situation disappeared in the following weeks.

Results of Clinical Examination

Eight cats could clinically be examined again. No abnormality was detected in the cats' dorsal Mc and Mt areas in the operation area in the examinations. There was no observable pain on palpation in the fracture areas; there was no abnormality in the cats' walking and movements.

Results of Radiological Examination

Postoperative radiographic images were obtained from all animals immediately after surgery. There were not any

complications encountered such as pin migration or bending in the radiological examinations performed in the postoperative period. During the postoperative controls about fracture healing; cats were evaluated in terms of synostosis, malunion, nonunion, implant failure, and malunion was detected in 4 fractures (11.1%), synostosis in 10 fractures (27.8%) postoperatively (Figure 1). Apart from these, there was no radiographic abnormality observed in any of the cases. In total, 22 (61.1%) fractures healed without any complication (Table 1).

Table 1. Details and clinical and radiological outcomes of 10 cats with metacarpal and metatarsal fractures treated with dowel pinning.

Ca	Age at injury (month)	Weight (kg)	Cause of injury	Bone	Fracture type	Complication	Outcome
1	5	1.2	Unknown	Mc II-III-IV-V	Proximal 1/3, midshaft, Transverse, oblique, Nondisplaced, Displaced	Synostosis between Mc II-III-IV-V, Malunion in Mc III	1
2	16	3.1	High rise syndrome	Mc II-III	Proximal 1/3, midshaft, Transverse, Displaced	None	0
3	13	2.8	High rise syndrome	Mc III-IV-V	Midshaft, Transverse, Nondisplaced, Displaced	None	1
4	16	3.6	High rise syndrome	Mt II-III-IV-V	Midshaft, Proximal 1/3, Transverse, Displaced	Synostosis between Mt IV-V	1
5	40	4.8	High rise syndrome	R Mc II-III, L Mc III-V	L Midshaft, R distal 1/3, displaced, transverse	Synostosis between L Mc III-IV, Malunion in R Mc III	1
6	27	4.3	Fall	Mc III-IV	Midshaft, Distal 1/3, Transverse, displaced	Synostosis between R Mc III-IV, malunion in R Mc IV	1
7	54	5.4	Unknown	Mc II-IV	Midshaft, Transverse, displaced	None	1
8	19	4.8	Unknown	Mc III-IV-V	Midshaft, transverse, nondisplaced, displaced	None	1
9	15	2.8	High rise syndrom	Mc III-IV-V	Midshaft, distal 1/3, displaced, transverse	None	1
10	9	1.8	High rise syndrom	R Mc III-IV, L Mc II-III-IV-V	R midshaft, L proximal 1/3, midshaft, transverse	Malunion L Mc V	1

Mc: Metacarpus, Mt: Metacarpus, L: Left, R: Right, 0: good functional outcome with mild lameness, 1: excellent functional outcome.



Figure 1. Dorsoplantar and laterolateral radiographic views of metatarsal bones before (A), postoperatively (B) and 7 months after dowel pinning of metatarsal II, III, IV and V fractures (C). Synostoses between metatarsal IV and V (C).

DISCUSSION AND CONCLUSION

Intramedullary pins are frequently used for the fixation of Mc and Mt fractures of cats and dogs. In the previous studies, some techniques using intramedullary pins to treat Mc and Mt fractures of cats and dogs have been described. One of them is to make a hole in the distal dorsal part of the Mc or Mt bone and send the K-wire intramedullary retrograde or normograde (Wind 1976; Benedetti et al. 1986). In these described techniques, the K-wire must be lightly bent to enter the intramedullary canal from the distal, and it is reported that this will create difficulty in the improvement of the pin in the cat metacarpus or metatarsus, where the bone medulla is very narrow. When the techniques described in the studies were applied, iatrogenic fracture in the bone, arthrosis damage, and permanent lameness due to these, and as a result, degenerative arthrosis disease was revealed as the most common complication if an extra hole was drilled in the dorsal bone (Degaspero et al. 2007). In another study, a different technique was introduced in the fixation of Mc or Mt bone fractures, in the form of pin placement in the bone medulla with the distraction of fragments method to prevent arthrosis damage. According to this technique, it is reported that intramedullary pin application is easier and faster, and there is no risk of iatrogenic bone fracture since there is no need to drill an extra hole in the bone (Rudy 1975). Zahn et al. (2007) used the distraction method in Mc and Mt fractures of cats and defined this technique as dowel pinning. Apart from these techniques, it has been reported that plate osteosynthesis is performed in Mc and Mt fractures, but since plate application covers a more extensive region, it will cause tendon and periosteal soft tissue damage on the bone (Degaspero et al. 2007). In this study, the distraction and pin placement technique, one of the intramedullary pins applied techniques, is applied. In the results of the study, it has been seen that while there are differences between some studies mentioned above (Wind 1976); on the other hand, it has been determined that there are similarities with some studies (Rudy 1975; Zahn et al. 2007). In the presented study results, arthrosis-related complications such as arthrosis damage or degenerative arthrosis disease were not formed. The results of the radiological examination and the information obtained from the animal owners revealed that there was no problem with walking. It is thought that this situation is related to the absence of any contact towards arthrosis while placing the intramedullary pin in the osteosynthesis technique applied.

Since the Mc and Mt bones are small bones, the wideness of the medulla is accordingly slight. Therefore, it is reported that the pins used for fixation should be thin enough to fill 70% of the bone medulla. Pins of this thickness are generally weak implants and are weak against forces acting on the bone from various directions and can bend. As a result, some complications such as rotation and movement might occur in the fragment line. For these reasons, it has been reported that immobilization should be supported since complete rigid fixation cannot be achieved in the fracture line with intramedullary pins (Roe 2005; Piermattei et al. 2006). Degaspero et al. (2007) applied intramedullary K-wire with the dowel pinning technique in Mc and Mt fractures of cats in their study and then applied a supported bandage placing support on the palmar/plantar surface of the relevant extremity for 4-6 weeks. They reported that some cats immediately removed the bandage, some cats did not react to the bandage, there was no negative situation

related to the bandage, and some fractures had malunion. Zahn et al. (2007) applied the dowel pin technique and postoperative supported bandage together in Mc and Mt fractures of cats and determined the average bandage time to be 3-9 weeks. As a result of their studies, they found that 21% malunion and 71% synostosis were formed in fracture healing. This study applied dowel pinning technique in Mc and Mt fractures of cats and supported bandage and area restriction were applied for 4 weeks postoperatively. Like previous studies, some cats removed the supported bandage quickly; the bandage was renewed or followed without bandage in the narrow area. The controls determined that the fracture healing was delayed, and malunion was formed in animals with incomplete bandage application. Especially in the healing of proximal fractures, the formation of synostosis was noted despite the support bandage. It is thought that the Mc and Mt bones are closer to each other through proximal localization. When the results compared with Zahn et al. (2007) study, it has been seen that the rate of malunion and synostosis was less. It is thought that this situation may be related to the small number of causes used in the study.

Zahn et al. (2007) reported in their study that Mc and Mt bone healing with dowel pinning and supported bandage is more effective than fracture healing with only external rupture. They deduced that this technique is non-damaging compared to other intramedullary pin techniques that may damage the arthrosis. On the other hand, Degaspero et al. (2007) reported that the results of the dowel pinning technique were positive, and the recovery rate in the Mc and Mt bones in animals was 86%. In this study, lameness was not observed in any cats, except for one who removed the postoperatively supported bandage. It is determined that the success rate of the dowel pinning technique in Mc and Mt fractures is 90%.

In conclusion, it was determined that the surgery of metacarpus and metatarsus fractures using the dowel pinning technique is a simple, economic, and reliable technique. Moreover, it is thought to be preferable over other techniques because it does not cause arthrosis damage and possible iatrogenic fracture by opening an extra hole in the bone.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors report no conflicts of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Idea / Concept: BK
 Supervision / Consultancy: BK
 Data Collection and / or Processing: BK
 Analysis and / or Interpretation: BK
 Writing the Article: BK
 Critical Review: BK

REFERENCES

- Benedetti LT, Berry K, Bloomberg M (1986). A technique for intramedullary pinning of metatarsals and metacarpals in cats and dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*, 22 (1), 149-152.
- Degaspero B, Gradner G, Dupré G (2007). Intramedullary pinning of metacarpal and metatarsal fractures in cats using a simple distraction technique. *Vet Surg*, 36 (4), 382-388.
- Fitzpatrick N (2017). Fractures of the metacarpus and metatarsus. In: World Small Animal Veterinary Association Congress Proceedings, Easing, UK.

- Kapatkin A, Howe-Smith R, Shofer F (2000).** Conservative versus surgical treatment of metacarpal and metatarsal fractures in dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 13 (3), 123-172.
- Kornmayer M, Matis U (2017).** Dowel pinning for metacarpal and metatarsal fractures in dogs. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*, 45 (3), 154-162.
- Manley PA (1981).** Distal extremity fractures in small animals. *J Vet Orthop*, 2 (2), 38-48.
- McBrien Jr CS (2020).** Meta-bone fracture repair via minimally invasive plate osteosynthesis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 50 (1), 207-212
- Muir P, Norris JL (1997).** Metacarpal and metatarsal fractures in dogs. *J Small Anim Pract* 38 (8), 344-348.
- Piermattei D, Flo G, DeCamp C (2006).** Diagnosis and Treatment of Fractures, Lameness and Joint Disease: Fractures. in: *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair*. 4. Edition. (pp. 25-159). Elsevier, Saunders, Missouri, America.
- Rasmussen LM (2018).** Metacarpal and Metatarsal fractures are common...let's fix that. Erişim tarihi: 1 Ekim 2018. Erişim adresi: <https://directvetsurg.com/metacarpal-and-metatarsal-fractures-are-common-lets-fix-that-oct-2018/>.
- Roe SC (2005).** External fixators, pins, nails, and wires. Johnson AL, Houlton JEF, Vannini R (Ed). *AO Principles of Fracture Management in the Dog and Cat*. (pp. 53-70). Thieme, New York.
- Rudy RL (1975).** Pins, wires, nuts and bolts. Scientific presentations of the 42nd Annual Meeting of the American Animal Hospital Association, South Bend, Indiana.
- Wind A (1976).** Fractures of the metacarpal (metatarsal) bones. *Proc Am Anim Hosp Assoc*, 43 (1), 346.
- Zahn K, Kornmayer M, Matis U (2007).** Dowel pinning for feline metacarpal and metatarsal fractures. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 20 (4), 256-263.



Damascus Irkı Tekelerde Farklı Sulandırıcıların Kısa Süreli Saklama ve Fertiliteye Etkisi

Mustafa ŞAHİN¹, *^{ID} İlker YAVAŞ¹ ^{ID} Nurdan COŞKUN ÇETİN¹ ^{ID} Oğuz Kaan YALÇIN¹ ^{ID}
Haydar DEMİREZER¹ ^{ID}

¹Mustafa Kemal University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Reproduction and Artificial Insemination, 31000, Hatay, Turkey

Received: 01.11.2021

Accepted: 14.02.2022

ÖZ

Bu çalışma, Damascus tekesi spermasının Tris sulandırıcısına ilave edilen farklı oranlarda şeker ve yumurta sarısının (YS) 4 °C'de bazı spermatolojik özellikler ve fertiliteye etkilerinin saptanması amacıyla yapıldı. Her grupta 8 dişi olacak şekilde biri kontrol (doğal aşım) olmak üzere toplamda 4 grup oluşturuldu. Fertilité parametreleri bakımından progesteron ölçümleri (21. gün) ve doğum oranları kaydedildi. Üreme sezonunda 4 adet tekeden haftada 2 defa sperma alındı. Spermalar birleştirildikten sonra 3 ayrı sulandırıcıyla (Grup 1: 1.3 g fruktoz, 0,2 g glikoz, %20 YS; Grup 2: 0.9 g fruktoz, 0.1 g glikoz, 3% YS; Grup 3: 0.2 g fruktoz, 0.1 g glikoz, %0 YS) sulandırıldı ve 96 saat süreyle 4 °C'de saklandı. 12-24. ve 36-60. saatlerde en düşük motilite grup 1'de saptanırken, en yüksek motilite ise grup 2'de kaydedildi ($p<0.05$). Anormal spermatozoon oranları bakımından gruplar arasında fark gözlenmedi ($p>0.05$). Ölü-canlı spermatozoon oranı bakımından 72. saate kadar en yüksek değer grup 1'de saptandı ($p<0.05$). Spermatolojik değerlendirmeler sonucunda %20 YS katılan grupta sperma kalitesinin saklama süresince belirgin oranda düşük olduğu, az oranda YS eklenen (%3) grupta ise yüksek motilite ve longevite saptandı. Gruplar ve doğal aşım arasında 21. gün gebelik ve doğum oranları bakımından fark görülmedi ($p>0.05$). Sonuç olarak Damascus teke spermasının kısa süreli saklanması Tris sulandırıcısına düşük miktarlarda yumurta sarısı ve şeker ilavesinin spermatolojik değerlere önemli derecede fayda sağladığı fertilité bakımından doğal aşım grubu ile benzer olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Doğum oranı, Fertilité, Keçi, Spermatozoon, Yumurta sarısı.

ABSTRACT

The Effect of Different Diluents on Short-Term Storage and Fertility in Damascus Goats

This study was carried out to determine effects of different proportions of sugar and egg yolk (EY) added to Tris in Damascus bucks on some spermatological properties and fertility at 4°C. Goats to be inseminated in a total of 4 groups with 8 females in each group, one of which was the control (natural breeding). Progesterone measurements and birth rates were recorded. During the breeding season semen was collected from 4 bucks twice a week. After pooling, semen diluted with 3 different diluents (Group 1: 1.3 g fructose, 0.2 g glucose, %20 EY; Group 2: 0.9 g fructose, 0.1 g glucose, 3% EY; Group 3: 0.2 g fructose, 0.1 g glucose, 0% EY) and stored for 96 hours. At 12-24, 36-60 hours, lowest motility was detected in group1 and highest motility in group2 ($p<0.05$). There was no difference between groups in abnormal spermatozoa rates ($p>0.05$). Highest value of dead-live spermatozoa ratio was determined in group1 until 72nd hour ($p<0.05$). Consequently, semen quality was found to be significantly lower in the group with of 20% EY, and highest motility and longevity were found in the group with a small amount of (3%) added EY. There was no difference in 21st-day pregnancy and birth rates between groups and natural breeding. Consequently, it was determined that addition of EY and sugar in low amounts to Tris diluent in short-term storage of Damascus buck semen provided significant benefits on spermatological values, was found to be similar to natural breeding group in terms of fertility.

Keywords: Birth rate, Egg yolk, Fertility, Goat, Spermatozoon.



GİRİŞ

Ülkemiz hayvancılığı için keçi yetiştiriciliği özellikle kırsal kesimlerdeki nüfusun başlıca geçim kaynaklarından (Kulaksız ve Daşkın 2007). Keçilerde üreme ve birim başına alınan verim özelliklerinin artırılması oldukça önemlidir. Suni tohumlama yöntemi ile üstün damızlık tekelerin spermalarının yaygın kullanımı önemli bir genetik ilerleme elde edilmesini sağlamaktadır (Üstüner ve Günay 2009). Damascus ırkı Suriye'den köken alan ve Filistin, Irak ve Türkiye gibi ülkeleri de kapsayan coğrafyada bulunan bir keçi ırkıdır (Al-Ghalban ve ark. 2004).

Suni tohumlama uygulamalarında kullanılmak üzere teke spermasının işlenmesi ve saklanması oldukça önemli bir adımdır. Tekelerde spermanın saklanması esnasında canlılık üzerine seminal plazmanın olumsuz etkileri bulunmaktadır (Purdy 2006). Tekelerde seminal plazmada var olan yumurta sarısı koagüle edici enzimin (EYCE), yumurta sarısındaki lisoletini hidrolize ederek toksik etkiye sebep olmaktadır. Bu olumsuzluklara spermanın santrifüjü yapılabilsede işlem esnasında spermatozoonların zarar görebileceği unutulmamalıdır. Yapılan bazı çalışmalarda fertilitate artışına neden olmadığı da bildirilmiştir (Leboeuf ve ark. 2000). Sperma dondurularak ya da kısa süreli (+4-5°C) saklanabilmektedir. Dondurularak saklama kristalleşme sonucu ozmotik ve mekanik stres oluşturmakta ve serbest radikallerin oluşumunu artırmaktadır. Bu sebeple kısa süreli saklama sperma kalitesi ve fertilitate sonuçları bakımından tercih edilmektedir (Bucak ve Tekin 2007). Spermanın kısa süreli saklanmasında in vitro canlılığını ve dölleme potansiyelini uzatmak için pek çok araştırma yapılmış olmasına rağmen, sınırlı olumlu etkiler elde edilmiştir ve halen sulandırıcıların modifikasyonları denemektedir (Liu ve ark. 2016; Alçay ve ark. 2017).

Sperma sulandırıcıları tamponlayıcı maddeler, kriyoprotektanlar, lipoproteinler, şekerler, yağlar, proteinler, antibiyotikler ve enzimler ile antioksidan maddeler gibi diğer katkı maddelerini içermektedir (Gororo ve ark. 2019). Yumurta sarısı lipoproteinler sayesinde spermatozoonların membran bütünlüğünü artırmaktadır. Sulandırıcıya katılan şekerler hücre dehidrasyonunu ve membran stabilizasyonu sağlarlar ayrıca ozmotik basınç değişimlerine karşı spermatozoayı korurlar (Purdy 2006; Naing ve ark. 2010). Spermanın dondurulması için kullanılan kriyoprotektanlar soğuk şokuna karşı koruma sağlamaktadır. Optimum kriyoprotektanlar ve oranları türe özgü olup hücre zarının bazı özelliklerine göre belirlenmelidir. Gliserol, yaygın olarak kullanılan ve tekelerde koruyuculuğu fazla olan bir kriyoprotektandır. (Purdy 2006; Bezerra ve ark. 2011).

Keçilerde soğutulmuş sperma tohumlama sonrasında %54-65, dondurulmuş spermada ise %35-38 oranında fertilitate bildirilmiştir. Östrusların senkronize edilmesi durumunda soğutulmuş sperma ile doğal aşımındaki fertilitate oranına (%74) yakın fertilitate saptanmıştır (Mocé ve ark. 2020). Soğutulmuş spermanın kullanılması, tohumlamanın kısa bir zaman aralığında gerçekleştirilmesi durumunda, dondurulmuş sperma ile suni tohumlamaya önemli bir alternatiftir (Leboeuf ve ark. 2000; Çetin ve ark. 2020). Soğutulmuş sperma kolay nakliye, artan suni tohumlama dozu kullanımı gibi avantajlara sahiptir (Kharche ve ark. 2013).

Yapılan çalışmada Damascus spermasının Tris temelli sulandırıcıya ilave edilen farklı oranlarda şeker ve yumurta sarısının kısa süreli saklanmada spermatozoon özellikleri (motilite, ölü-canlı ve anormal spermatozoon

oranları) ve suni tohumlama sonrasında fertilitate üzerine etkilerinin saptanması ve optimal sperma sulandırıcısının belirlenmesi amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Denepleri Etik Kurulunun 24.06.2020 tarih ve 2020/04-38 numaralı kararı ile izin alınmıştır. Çalışmada 4 adet 3-5 yaşlı Damascus ırkı teke, 32 adet dişi keçi kullanılmıştır. Biri kontrol (doğal aşım) olmak üzere 4 grup, her grup 8 dişiden oluşturulmuştur. Araştırmada kullanılan aile işletmesi 37.21441 enlem ve 36.97827 boylamda Gaziantep/Türkiye'de bulunmaktadır. Sağlık kontrolünden geçirilmiş sürüde 2 yaşından büyük tekeler rasgele seçilmiştir. Hayvanların beslenmesi yarı entansif şekilde yapılmıştır. Çalışmada kullanılan deneme grupları ve sulandırıcılar Tablo 1'deki gibi oluşturulmuştur.

Tablo 1. Sulandırıcı grupları ve içerikleri.

Table 1. Extender groups and their contents.

Bileşenler	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Fruktoz (g)	1.3	0.9	0.2
Glukoz (g)	0.2	0.1	0.1
Tris (g)	3.634	3.334	3.534
Sodyum sitrat (g)	1.99	1.99	1.99
Gliserol (%)	0	0	1.5
Yumurta Sarısı (%)	20	3	0
Distile Su (ml)	100 ml ye tamamlandı	100 ml ye tamamlandı	100 ml ye tamamlandı

Spermanın Alınması

Sperma tekelerden üreme mevsimi içerisinde elektro-ejakülatör (Ruakura Ram Probe, Manufactured for Shoof International Ltd, New Zealand) yardımı ile haftada 2 defa sabah 08:00 - 10:00 saatleri arasında Demirci (2002)'ye göre toplandı. Steril ve kayganlaştırılmış elektro-ejakülatörün probu rektuma yerleştirilerek 4-6 saniye aralıklarla elektrik uygulandı ve ejakülasyon şekilleninceye kadar tekrarlandı. Sperma alındıktan hemen sonra 37°C'lik su banyosu içerisine alındı ve hacim, mass aktivite ve motilite bakımından değerlendirildi. Hacim olarak >0.5 ml, sperma yoğunluğu >3x10⁹, mass aktivite >3, ve motilite >70% olan ejakülatlar kullanıldı. Toplamda 7 tekrar şeklinde sperma alınmıştır. Her hafta alınan spermalar bireysel farklılıkların olmaması açısından pooling işlemi yapılarak birleştirildi. Spermalar birleştirildikten sonra 3 ayrı sulandırıcıyla: Grup 1: 1.3 g fruktoz, 0.2 g glikoz, 1.99 g Sodyum sitrat, %0 Gliserol, %20 YS; Grup 2: 0.9 g fruktoz, 0.1 g glikoz, 1.99 g Sodyum sitrat, %0 Gliserol, %3 YS; Grup 3: 0.2 g fruktoz, 0.1 g glikoz, 1.99 gSodyum sitrat, %1.5 Gliserol, %0 YS sulandırılarak 100 ml'e tamamlandı. Spermalar 3 ayrı sulandırıcı ile (1:1 v/v) sulandırılarak +4 °C'ye soğutuldu. Sulandırılmış gruplar 96 saat süreyle +4 °C'de spermatozoon muayenesi için soğutmalı inkübatörde

saklandı. Sulandırılmış spermalar 0.25 ml'lik payetlere 200x106 dozunda (IMV Technologies, Normandiya) çekildikten sonra tohumlama anına kadar bu sıcaklıkta muhafaza edildi. Sulandırmada kullanılan Tris, Fruktoz, Glikoz, Sodrum sitrat, Gliserol, yumurta sarısından oluşan kimyasallar, Sigma (St. Louis, MO, USA) ve Merck (Darmstadt, Germany) şirketinden temin edildi.

Spermanın Muayenesi

Nativ spermada sperma hacmi derecelendirilmiş sperma toplama tüpleri kullanılarak belirlendi. Mass aktivitenin belirlenmesinde taze ejakulattan alınan bir damla sperma lamel kapatılmaksızın 10'luk büyütme altında mikroskopta 0-5 arasında skorlandı. Spermada pH metre kullanılarak değerler kaydedildi. Yoğunluk Makler sayım kamerası kullanılarak 10 karede sayılan spermatozoon sayısı ml'deki konsantrasyonu milyon olarak kaydedildi. Motilite muayenesinde taze sperma %2.9 sodyum sitrat ile sulandırılarak ve sulandırılmış spermada motilite 37 °C'ye ısıtılmış lam üzerine 20 µl sperma bırakıldı ve lamel kapatılarak değerlendirildi. Sulandırılmış sperma örnekleri motilite, canlılık, morfoloji yönünden incelendi. Eosin-nigrosin (1.67 g Eosin-Y, 10 g Nigrosin ve 2.9 g Sodyum Sitrat 100 ml Distile su) 1:1 oranında karıştırıldı ve ardından 37 °C'de ısıtma tablası üzerindeki lamalara frotiller çekildi ve 60 °C'de ayarlanmış inkübatör içerisinde kurutuldu. Işık mikroskobu (Olympus CX-41, Japonya) altında 400x büyütme altında 200 adet spermatozoon sayıldı ve ölü-canlı spermatozoonlar % olarak hesaplandı. Morfoloji değerlendirilmesinde, ışık mikroskobunda 1000x büyütme altında immersiyon yağı ile eosin-nigrosin boya ile boyanmış numuneler incelendi ve toplamda 200 spermatozoon sayılarak anormal spermatozoon oranı belirlendi.

Suni Tohumlama Uygulaması

Östrus tespitinde günde iki kez arayıcı tekeler kullanılarak yaklaşık 12 saatlik bir zaman aralığı ile kontrol edildi. Östrusta olan dişiler östrus tespitinden sonraki 12-24 saat arasında olacak şekilde 200x106 spermatozoon konsantrasyonu ile bir kez servikal yöntem kullanılarak tohumlandı. Tohumlanacak keçinin arka ayakları yukarıda kalacak şekilde yardımcı personel tarafından tutuldu. Vulva dudaklarının kuru temizliği yapıldıktan sonra spekulum vaginaya yerleştirilerek baş lambası yardımıyla serviks tespit edildi. Suni tohumlama kateteri spekulum içerisinden geçirilerek orifisyum uteri eksternaya yönlendirildi. Kateter serviks kanalından ilerletilip, kanal geçildikten sonra sperma verildi.

Gebelik Muayeneleri ve Fertilite Değerlendirmeleri

Tohumlama gruplarındaki tüm keçilerden suni tohumlama uygulamalarından 21 gün sonra kan örnekleri alındı. Kan örnekleri v. jugularisten mor kapaklı, vakumlu kan tüplerine alındı. Kan tüpleri 2000 devirde 10 dk santrifüj edildi ve plazma kısımları gruplara göre tasnif edilmiş ependorf tüplerine alındı. Plazma örnekleri progesteron analizi yapılmaya kadar derin dondurucuda (-20 °C) muhafaza edildi. Alınan kan örneklerinden plazma progesteron ölçümleri Direct Chemiluminescence yöntemi (ADVIA Centaur® ReadyPack™, Siemens, USA) ile yapıldı ve 21. günde progesteron değeri $\geq 3-3,5$ ng/ml olanlar gebe olarak değerlendirildi. Doğum zamanında takipler yapılarak doğum oranları ve fertilite oranları gruplara göre sonuçlar kaydedildi. Araştırmada belirtilen fertilite parametreleri aşağıdaki formüllere göre değerlendirilmiştir (Karaca ve ark. 2021).

Gebelik oranı: Gebe keçi sayısı/Tohumlanan keçi sayısı x 100

Doğum oranı: Doğum yapan keçi sayısı / Gebe keçi sayısı x 100

İstatistiksel Analiz

Araştırmada elde edilen sürekli değişkenler için tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart sapma hesaplandı. İstatistiksel analizler SPSS 23.0 paket program (Version 23.0 Armonk, NY: IBM Corp.) ile yapıldı. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde spermatolojik değerlendirmelerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Analiz sonucunda gruplar arası farkın önemini belirtmek için Duncan testi kullanıldı. Progesteron seviyelerine göre 21. gün gebelik oranları ve doğum oranlarının değerlendirmesinde Chi-Square (X^2) testi uygulandı, istatistiki değerlendirmelerde önem durumları Pearson-Ki kare değerleri ve önem sonuçlarına göre yapıldı.

BULGULAR

Sperma 7 tekrar şeklinde alındı. Birleştirilmiş nativ spermada ortalama değerler ve standart hatalar sırasıyla miktar (ml) 3.92 ± 0.15 (bireysel 0.98 ± 0.04 ml), motilite (%) 85.00 ± 1.54 , yoğunluk (109/ml) 3.40 ± 0.15 , anormal spermatozoon oranı (%) 5.53 ± 0.70 , ölü spermatozoon oranı (%) 10.73 ± 0.84 ve pH 6.61 ± 0.05 olarak saptandı.

Sulandırma sonrasında motilite değerlendirmesi Tablo 2'de sunulmuştur. 0. saatte deneme grupları arasında fark gözlenmedi ($p > 0.05$). Grup 2 ve grup 3 12. ve 24. saatlerde grup 1'e kıyasla önemli derece daha yüksek motiliteye sahipti ($p < 0.05$), 36, 48 ve 60. saatlerde sırasıyla en yüksek motilite grup 2'de saptanırken en düşük motilite grup 1'de saptandı ($p < 0.05$). 72. saatte grup 1'de motilite sonlandı, grup 2 ve grup 3, grup 1'e kıyasla istatistiki olarak yüksek motiliteye sahip ve grup 2'de en yüksek motilite değeri kaydedildi ($p < 0.05$). Grup 2'de 96 saat süreyle motilite devam etti.

Sulandırılmış spermada deneme grupları arasında anormal spermatozoon oranı Tablo 3'te görüldüğü gibi, 12 saatte bir yapılan değerlendirmelerde gruplar arası istatistiki fark belirlenmedi ($p > 0.05$). Ölü spermatozoon oranı bakımından yapılan değerlendirme Tablo 4' de verilmiştir. Buna göre, ilk 24 saatte sulandırıcı grupları arasında fark gözlenmedi ($p > 0.05$). 36-72. saatler arasında grup 1'de, grup 2 ve grup 3 gruplarına kıyasla daha yüksek oranda ölü spermatozoon saptandı ($p < 0.05$). Grup 1 48. saatte diğer gruplardan belirgin derecede yüksek iken grup 2 en düşük ölü spermatozoon oranına sahip bulundu ($p < 0.05$). 60. saatte grup 1, grup 2'ye kıyasla belirgin olarak yüksek derecede ölü spermatozoon oranına sahip iken ($p < 0.05$), grup 2 ve grup 3 ise benzer saptandı. Bu saatten itibaren 96 saatlik saklama süresince gruplar arası fark önemsizdi ($p > 0.05$).

Fertilite değerleri bakımından istatistiki fark (Tablo 5.) suni tohumlama ve doğal aşım yapılan gruplar arasında istatistiki açıdan önemsiz bulundu ($p > 0.05$). 21. gün gebelik oranları bakımından ortalama değer %75 ($27/36 \times 100$) olarak belirlendi.

Doğum oranları ortalaması ise %100 ($27/27 \times 100$) olarak saptandı.

Tablo 2. Deneme grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +4 °C’de zamana bağlı motilite değerleri.**Table 2.** Time dependent motility values of the diluted semen samples of the experimental group at +4 °C.

Gruplar	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat	60. saat	72. saat	84. saat	96. saat
Grup 1	85.5±1.8	63.3±2.1 ^b	35.0±2.5 ^b	24.6±2.9 ^c	14.4±2.8 ^c	9.4±2.3 ^c	0	0	0
Grup 2	87.6±2.4	75.5±2.6 ^a	59.5±3.7 ^a	46.5±2.6 ^a	41.6±1.9 ^a	22.8±1.3 ^a	9.0±0.6 ^a	4.1±0.3	3.0±0.3
Grup 3	89.1±2.6	76.6±3.2 ^a	54.5±5.2 ^a	34.5±5.2 ^b	29.2±3.9 ^b	15.0±2.6 ^b	6.1±2.4 ^b	0	0
P	0.091	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.007	0.658	0.203

a-c: Her bir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistiki açıdan önemlidir (p<0.05).

Tablo 3. Deneme grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +4 °C’de zamana bağlı anormal spermatozoon oranları.**Table 3.** Time-dependent abnormal spermatozoa rates of the diluted semen samples of the experimental group at +4 °C.

Gruplar	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat	60. saat	72. saat	84. saat	96. saat
Grup 1	17.1±1.9	18.4±1.9	20.1±1.9	21.4±1.9	22.6±2.0	22.7±1.9	27.3±1.8	29.2±1.6	29.2±1.6
Grup 2	16.3±2.8	19.0±2.4	20.3±2.3	22.3±2.4	21.6±2.7	26.6±2.5	31.5±1.5	36.5±1.5	36.5±1.5
Grup 3	18.9±1.8	20.8±1.9	21.6±1.9	23.8±1.8	26.4±1.9	27.3±1.5	28.8±1.4	33.6±0.7	33.6±0.7
P	0.921	0.897	0.910	0.814	0.816	0.918	0.655	0.159	0.159

İstatistiki açıdan önem bulunmamaktadır (p>0.05).

Tablo 4. Deneme grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +4 °C’de zamana bağlı ölü spermatozoon oranları.**Table 4.** Time-dependent dead spermatozoa rates of the diluted semen samples of the experimental group at +4 °C.

Gruplar	0. saat	12. saat	24. saat	36. saat	48. saat	60. saat	72. saat	84. saat	96. saat
Grup 1	11.5±2.9	22.3±3.1	48.8±3.6	57.6±3.0 ^a	76.7±4.9 ^a	80.2±3.3 ^a	100.0±0.0 ^a	100.0±0.0	100.0±0.0
Grup 2	10.5±2.7	18.8±3.2	39.5±2.1	47.0±4.3 ^b	48.0±2.8 ^c	67.5±3.2 ^{bc}	90.6±1.6 ^b	97.7±0.1	98.9±0.1
Grup 3	10.0±1.8	20.0±2.6	39.0±1.9	44.0±4.7 ^b	61.4±2.6 ^b	72.8±3.9 ^b	93.1±2.5 ^b	93.5±2.1	100.0±0.0
P	0.915	0.763	0.058	0.046	0.023	0.037	0.049	0.061	0.951

a-c: Her bir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistiki açıdan önemlidir (p<0.05).

Tablo 5. Fertilite Parametreleri.**Table 5.** Fertility Parameters.

Parametreler	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Kontrol (Doğal Aşım)	P
21. gün Gebelik Oranları	8/8 (%100)	8/7 (%87.5)	8/6 (%75)	8/6 (%75)	0.456
Doğum Oranları	8/8 (%100)	8/7 (%87.5)	8/6 (%75)	8/6 (%75)	0.456

İstatistiki açıdan önemi bulunmamaktadır (p>0.05). Fertilite parametrelerinin değerlendirilmesinde Pearson Chi-Square testi kullanıldı.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yaptığımız çalışmada elde edilen taze sperma değerlerinden sperma hacmi, yoğunluk, ölü ve anormal spermatozoon oranları, daha önceki yapılan çalışmalar (Kharche ve ark. 2013; Anand ve ark. 2017; Gororo ve ark. 2019) ile uyumlu olduğu saptandı.

Sulandırıcılara yumurta sarısı ilaveleri farklı oranlarda yapılmaktadır. YS, lesitin ve lipoprotein içeriği sayesinde soğuk şokuna bağlı hasarları önlemektedir. Ancak teke seminal plazmada bulunan bulboüretal bez kaynaklı EYCE enziminden dolayı yumurta sarısı lesitini yağ asitleri ve lisolesitine çevrilerek sulandırıcıda koagülasyona yol açabilmektedir (Ngoma ve ark. 2016).

Araştırmacılar %12-20 yumurta sarısı oranlarında yüksek motilite, düşük anormal ve ölü-canlı spermatozoon oranı bildirmektedir (Çetin ve ark. 2020; Sun ve ark. 2020). Debbarma ve ark. (2019) yumurta sarısı temelli sulandırıcılarda daha yüksek motilite ve canlılık bildirmişlerdir. İrk farklılığı, sperma sulandırma teknikleri, yumurta sarısı oranı, seminal plazmanın ayrılıp ayrılmaması, sperma toplama metodu, saklama şekli, sulandırıcı kompozisyonu sonuçların farklı çıkmasında etkili olmaktadır. Yapılan çalışmada motilite, ölü-canlı spermatozoon oranı ve longevite bakımından az miktarda YS ve şeker ihtiva eden grup 2, diğer gruplara kıyasla belirgin olarak yüksek bulundu. Yüksek oranlarda yumurta sarısı ve şeker ilavesinin yapıldığı grup 1 ise en düşük sperma kalitesine sahip olduğu saptandı. Tris-yumurta sarısı sulandırıcısında yüksek YS oranının viskoziteyi artırarak motilite değerlerini düşürmüş olabileceği ve kaliteyi olumsuz etkilediği düşünülmektedir.

Mutlak (2019) Tris sulandırıcısında %10 veya daha az YS oranlarının teke spermasının saklanması motilite ve morfolojik açıdan yararlı olduğu sonucuna varmıştır. Santiago-Moreno ve ark. (2006) Tris sulandırıcısında yumurta sarısının %6 ve %20 oranlarını değerlendirmişler ve düşük doz YS konsantrasyonunda daha yüksek motilite bildirmişlerdir. Bu bulgular çalışmamız ile paralel yöndedir.

Ferreira ve ark. (2014) YS-sodyum sitrat sulandırıcısında %5 ve %10 yumurta sarısı değerlendirmişler ve en iyi sonuçlar %10 yumurta sarısında belirlenmiştir. Daşkın ve Tekin (1996) dondurulmuş çözündürülmüş teke spermasında %20 yumurta sarısı ilavesinin %0 yumurta sarısı ilavesine kıyasla daha yüksek motilite sağladığını bildirmişlerdir. Yüksek miktardaki YS'nin yapısındaki fosfolipidler ile hücre membran fosfolipidlerinin kaybını telafi ederek yüzeyde koruyucu tabaka sağladığı ve daha iyi koruma sağlayabileceği kaydedilmektedir (Ferreira ve ark. 2014). Yüksek YS oranında motilitenin ve kalitenin yüksek saptanması bulgularımızın aksi yönündedir. Farklılıklar farklı YS oranlarından, ırk, yaş, mevsim ve diğer faktörlere bağlı olarak değişebilir (Bispo ve ark. 2011).

Memon ve ark. (2013) Tris sulandırıcısında farklı doz YS ilavesinin dondurma öncesi ve çözdürme sonrasında motilite değerini sırasıyla en yüksek %18, %12 ve %6 oranlarında bildirmişlerdir. Tar ve ark. (2017) farklı oranlarda yumurta sarısının etkisini inceledikleri çalışmada (%15 ve %20) motilite ve morfoloji bakımından %20 YS oranını tavsiye etmişlerdir. Bildirilen sonuçlar, çalışmamızda yüksek seviyede yumurta sarısının düşük spermatozoon kaliteye sahip olması yönü ile aksi yöndedir. Çalışmada yüksek yumurta sarısının spermatozoon kaliteyi düşürmesi bazı araştırmacılar ile uyumlu (Medrano ve ark. 2010; Gororo ve ark. 2019) saptandı. Farklı sonuçlar, ırk farklılığından dolayı EYCE'ye hassasiyetin farklı olmasıyla ilişkili olabilir (Purdy 2006; Memon ve ark. 2013). Çalışmamızda YS oranının artması sperm solunumu engelleyebilmekte ve motilite ile canlılıkta düşmeye sebep olabilmektedir. Anand ve ark. (2017) kısa süreli saklanan teke spermasında Tris temelli sulandırıcıda (%6 gliserol) %2.5, 5, 10, 15 ve 20 oranlarında YS ilavesinin etkisini inceledikleri çalışmada %15 YS seviyesinin canlılık, motilite bakımından optimum olduğunu bildirmişlerdir. En düşük canlılık ise %2.5 ve 5 oranlarında ve en düşük motilite %2.5 YS oranında bildirilmiştir. Düşük seviyelerde YS ilavesinin sperm membranlarındaki oksidatif strese karşı koruma sağlayamadığı ve buna bağlı sperma kalitesini düşürebileceğine dair çalışmalar mevcuttur (Anand ve ark. 2017). Bildirilen bulgular çalışmamız ile

çelişmektedir. Farklı araştırmacılar ırka bağlı olarak YS'nin farklı oranlarını tavsiye etmişlerdir (Gunjan ve ark. 2014; Ranjan ve ark. 2015) ve sulandırıcıya katılan YS oranının belli bir standardı bulunmamaktadır. YS'nin seminal plazma ile etkileşimleri sonucunda hareket özelliklerini değiştirerek negatif etkilerinin yanı sıra artan oranlarının soğuk şokuna karşı spermatozoonları koruduğu da bildirilmiştir (Anand ve ark. 2017).

Bispo ve ark. (2011) sodyum sitrat-glukoz-EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) sulandırıcısında farklı YS oranlarını (%20 ve %2.5) denemişler ve motilite bakımından gruplar arası farklılık olmamasına rağmen düşük YS oranının canlılık ve morfoloji yönünden daha iyi sonuçlar verdiğini göstermişlerdir. Cseh ve ark. (2012) düşük seviyede yumurta sarısının (%2.5), yüksek dozlarının sebep olduğu toksik etkilerinden kaçınabileceğini göstermektedir. Düşük YS oranında yüksek spermatozoon kalite çalışmamızla benzer özellik taşımaktadır.

Sulandırıcılara yapılan şeker ilavesi, canlılığa faydalı olabilmekte, spermatozoonun fiziksel ve kimyasal bileşimindeki farklılıklar nedeniyle türler arasında değişik sonuçlar vermektedir (Purdy 2006). Sulandırıcılarda farklı şeker ilavelerinin etkisini inceleyen araştırmacılar (Naing ve ark. 2010; Şen ve Kulaksız 2017) Tris bazlı sulandırıcıda glukoz ve fruktozda benzer motilite, canlılık ve anormalite bildirmişlerdir. Ponglowhapan ve ark. (2004) glukozun spermatozoonlar için esansiyel enerji kaynağı olduğunu ve motiliteyi desteklediğini kaydetmişlerdir. Glukozun keçi spermatozoa metabolizması için mükemmel bir şeker olduğu öne sürülmüştür (Purdy 2006). Fruktozun teke sperması için osmolarite değerinin oldukça uygun olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (Qureshi ve ark. 2013). Yapılan çalışmada fazla oranda şeker ilavesinin yapıldığı grupta spermatozoon kalite düşük saptandı. Sperma özelliklerinde gözlenen farklılıklar tür veya bireysel varyasyon, saklama sıcaklığı, tamponlayıcı tipi, sulandırıcı çeşidi gibi birçok faktöre bağlı olabilir (Naing ve ark. 2010).

Sulandırıcıya yapılan gliserol ilavesinin tekelerde sperma kalite parametrelerinde bir azalma gösterdiğini ve kriyoprotektan olarak gliserol kullanımının insan ve tekelerde spermatozoonun zar bütünlüğü üzerinde zararlı bir etkisi olduğu kaydedilmiştir (Qureshi ve ark. 2013). Gliserolün yüksek seviyelerinin, akrozom hasarını artırdığı rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda gliserol ile birlikte yüksek oranda fruktoz kullanılmasının bu hasarı giderilebileceği kaydedilmiştir (Yıldız ve ark. 2000). Yapılan çalışmada gliserol içeren sulandırıcıda ortalama bir sperma kalitesinin görülmesi bu bulguları desteklememektedir. Qureshi ve ark. (2013) sulandırıcıda yumurta sarısı ve gliserol oranları belli değerleri aştığında motilitede düşüşe yol açtığını göstermiştir. Sonuçlarımız bu bulgular ile uyumludur. Kulaksız ve ark. (2013) farklı ırk tekelerde yaptıkları çalışmada farklı gliserol konsantrasyonlarının uzun süreli saklamaya etkisini araştırmışlar ve keçi ırkları için uygun gliserol yüzdelerinin farklı etkilere sahip olabileceğine işaret etmişlerdir. Büyükleblebici ve ark. (2014) Ankara tekelerinde Tris temelli sulandırıcıda farklı dozlarda gliserol, etilen glikol ve DMSO (Dimetil sülfoksit)'nin etkisini değerlendirdikleri çalışmada gliserol üstün saptanmıştır. Çalışmamızda %1.5 olarak kullanılan gliserol oranımız, diğer uygulama gruplarına göre ortalama sperma kalitesi sağlamıştır.

Servikal tohumlamada sulandırılmış veya taze sperma kullanılarak yapılan tohumlama sonrasında gebelik

oranlarının %16-80 aralığında oldukça değişken olduğu bildirilmiştir (Leethongdee ve ark. 2013; Yotov ve ark. 2016; Erarslan ve Karaca 2017). Yapılan çalışmada ortalama %75 olarak bildirilen gebelik oranı bazı araştırmacılar ile benzer (Leethongdee ve ark. 2013; Liu ve ark. 2016); bazılarında yüksek (Leboeuf ve ark. 2000; Kharche ve ark. 2013; Qureshi ve ark. 2013; Yotov ve ark. 2016; Karaca ve ark. 2021) bildirilmiştir. Bildirilen değişik oranlardaki gebelik oranları keçi ırkı, spermatozoon kalitesi, sezon, iklim, tohumlama tekniği, yönetim uygulamalarına bağlı olarak şekillenmiş olabilir.

Yaptığımız çalışmada, sulandırıcı grupları ile elde ettiğimiz doğum oranı, Karaca ve ark. (2021) benzer, Arrebola ve ark. (2013) ile Mocé ve ark. (2020)'dan yüksektir. Yapılan çalışmada doğum oranı sonuçlarının yüksek çıkması östrusun doğal olması veya hormonal yöntemlerle senkronizasyon yapılması arasında farkla ilişkili olabilmektedir. Çalışmada farklı yumurta sarısı ve şeker oranları denenmiş ve gruplar arası fertilitite oranları bakımından fark saptanmamıştır, bu sonuçlar düşük YS oranındaki sulandırıcılarda daha yüksek fertilitite sonuçları bildiren araştırmacılar farklıdır (Barbas ve ark. 2006). Yapılan çalışmalarda fertilitite farklılıkları; spermanın saklanması, ırk, yaş, vücut kondisyon skoru, östrüs senkronizasyon protokolü, suni tohumlama zamanı, sayısı ve tohumlama dozları ile ilişkilendirilebilir (Leboeuf ve ark. 2000; Arrebola ve ark. 2013; Moce ve ark. 2020; Karaca ve ark. 2021).

Sonuç olarak Damaskus teke spermasının 4 °C'de kısa süreli saklanması Tris sulandırıcısına düşük miktarlarda yumurta sarısı ve şeker ilavesinin spermatozoid kalite bakımından faydalı olduğu, fertilitite açısından bu sulandırıcı ile yapılan suni tohumlama uygulamasının doğal aşım kadar iyi sonuçlar verdiği kanaatine varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Prof. Dr. Fikret KARACA ve Prof. Dr. Cengiz YILDIZ'a çalışmaya yaptıkları katkılardan dolayı teşekkür ederiz.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: İY, MŞ
Denetleme/Danışmanlık: İY
Veri Toplama ve/veya İşleme: MŞ, NCC, OKY, HD
Analiz ve/veya Yorum: İY, MŞ
Makalenin Yazımı: İY, MŞ, NCC
Eleştirel İnceleme: İY

KAYNAKLAR





- Al-Ghalban AM, Tabbaa MJ, Kridli RT (2004). Factors affecting semen characteristics and scrotal circumference in Damascus bucks. *Small Rumin Res*, 53 (1-2), 141-149.
- Alçay S, Tokar MB, Onder NT, Gokce E (2017). Royal jelly supplemented soybean lecithin-based extenders improve post-thaw quality and incubation resilience of goat spermatozoa. *Cryobiology*, 74, 81-85.
- Anand M, Baghel G, Yadav S. (2017). Effect of egg yolk concentration and washing on sperm quality following cryopreservation in Barbari buck semen. *J Appl Anim Res*, 45 (1), 560-565.
- Arrebola F, González O, Torres R, Abecia JA (2013). Artificial insemination in Payoya goats: factors affecting fertility. *Anim Prod Sci*, 54 (3), 356-362.

- Barbas JP, Marques CC, Baptista MC et al. (2006). Reproduction in the goat Serrana breed: seasonal and individual factors affecting fresh and frozen semen performance, in vivo and in vitro fertility. In: International Symposium on Comparative Advantages for Typical Animal Products from the Mediterranean Areas, Vale de Santarém, Portugal.
- Bezerra FSB, Castelo TS, Alves HM et al. (2011) Objective assessment of the cryoprotective effects of dimethyl formamide for freezing goat semen. *Cryobiology*, 63, 263-266.
- Bispo C, Pugliesi G, Galvão P et al. (2011). Effect of low and high egg yolk concentrations in the semen extender for goat semen cryopreservation. *Small Rumin Res*, 100 (1), 54-58.
- Bucak MN, Tekin N (2007). Protective effect of taurine, glutathione and trehalose on the liquid storage of ram semen. *Small Rumin Res*, 73, 103-108.
- Büyükleblebiç S, Tuncer PB, Taşdemir U ve ark. (2014). The comparison of three different cryoprotectants in cryopreservation of angora goat semen. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20 (4): 613-619.
- Çetin NC, Kaan OK, Ates, CT, Karaca F (2020). Effect of royal jelly on quality of chilled semen from Damascus buck. *J Vet Andr*, 5 (1), 7-17.
- Cseh S, Faigl V, Amiridis GS (2012). Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. *Anim Reprod Sci*, 130 (3-4), 187-192.
- Daşkın A, Tekin N (1996). The Effect of Egg-Yolk on The Quality of Frozen Angora Buck Semen. *Turk J Vet Anim Sci*, 20, 395-398.
- Debbarma V, Sinha S, Singh LK, Deka BC, Biswas RK et al. (2019). Effect of Extenders on Semen Quality of Beetal Bucks Preserved at 5 C. *J Entomol Zool Stud*, 7 (5), 278-282.
- Demirci E (2002). Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon. Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. Fırat Üniv Vet Fak Ders Teksiri No:53. Elazığ.
- Erarslan C, Karaca F (2017). Üreme mevsiminde vaginal sünger ve kulak implantı uygulamalarıyla senkronize edilen kıl keçilerinde farklı zamanlarda yapılan servikal tohumlamaların gebelik oranlarına etkisi. *Atatürk Üniv Vet Bil Derg*, 12 (1), 63-70.
- Ferreira VS, Mello MRB, Fonseca CEM et al. (2014). Effect of seminal plasma and egg yolk concentration on freezability of goat semen. *Rev Bras de Zootec*, 43 (10), 513-518.
- Gororo E, ZuluPT, Chatiza FP, Mhuka C (2019). Effects of different extenders and storage temperatures on longevity of small East African goat (Capra hircus) semen. *Small Rumin Res*, 175, 83-89.
- Gunjan B, Anand M. and Yadav S (2014). Effect of different egg yolk conc. On sperm membrane integrity in Barbari buck subjected to cryopreservation. *Vet Pract*, 15, 264-266.
- Karaca F, Çetin NC, Yalçın OK, Ateş CT (2021). Üreme sezonunda senkronize edilen keçilerde dondurulmuş sperma ile farklı zamanlarda yapılan servikal tohumlamaların gebelik oranlarına etkisi. *Van Sağ Bil Derg*, 14 (1), 41-49.
- Kharche SD, Jindal SK, Priyadharsini R. et al. (2013). Fertility following frozen semen artificial insemination in Jamunapari goats. *Indian J Anim Sci*, 83 (10), 1071-1073.
- Kulaksız R, Daşkın A (2007). Teke Spermasının Kısa ve Uzun Süreli Saklanması. *Vet Hekim Der Derg*, 78 (4), 51-56.
- Kulaksız R, Ari UC, Daşkın A, Üner AG (2013). The effect of different glycerol concentrations on freezability of semen from Angora, Kilis and Saanen goats. *Slovak J anim sci*, 46 (2), 39-44.
- Leboeuf B, Restall B, Salamon S (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim Reprod Sci*, 62, 113-141.
- Leethongdee S, Lieangcharoen N, Thuangsantha A (2013). The fertility rate following the superficial cervical artificial Insemination with fixed time system after the induction of oestrus and ovulation in mixed bred goats. *Reprod Domest Anim*, 48, 112.
- Liu CH, Dong HB, Ma DL et al. (2016). Effects of pH during liquid storage of goat semen on sperm viability and fertilizing potential. *Anim Reprod Sci*, 164, 47-56.
- Medrano A, Terrazas A, Soto R (2010). Principles and perspectives for the conservation of goat buck spermatozoa. *Small Rumin Res*, 89 (2-3), 140-143.
- Memon AA, Wahid H, Rosnina Y, Goh YM, Ebrahimi M (2013). Effect of buffers and egg yolk concentrations on chilled and frozen-thawed Boer goat spermatozoa. *Res Opin Anim Vet Sci*, 3 (10), 374-379
- Mocé E, Lozano-Palazón SA, del Mar Martínez-Granell M, Mocé ML, Gómez EA (2020). Effect of the Refrigeration System on In Vitro Quality and In Vivo Fertility of Goat Buck Sperm. *Animals*, 10 (12), 2399.
- Mutlak NK (2019). The impact of adding different levels of egg yolk on the motility and morphology pre and post thaw cryopreservation of goat semen. *AJVS*, 12 (1).

- Naing SW, Wahid H, Azam KM et al. (2010).** Effect of sugars on characteristics of Boer goat semen after cryopreservation. *Anim Reprod Sci*, 122 (1-2), 23-28.
- Ngoma L, Kambulu L, Mwanza M (2016).** Factors influencing goat's semen fertility and storage: a literature review. *J Hum Ecol*, 56, 114-125.
- Ngoma S, Essén-Gustavsson B, Linde Forsberg C (2004).** Influence of glucose and fructose in the extender during long-term storage of chilled canine semen. *Theriogenology*, 62 (8), 1498-1517.
- Purdy PH (2006).** A review on goat sperm cryopreservation. *Small Rum Res*, 63, 215-225.
- Qureshi MS, Khan D, Mushtaq A, Afridi SS (2013).** Effect of extenders, postdilution intervals, and seasons on semen quality in dairy goats. *Turk J Vet Anim Sci*, 37, 147-152.
- Ranjan R, Goel AK, Ramachandean N, Kharche SD, Jindal SK (2015).** Effect of egg yolk and equilibration period on freezability of jamunapari buck semen. *Ind J Small Rumin Res*, 21, 32-36.
- Santiago-Moreno J, Toledano-Díaz A, Pulido-Pastor A (2006).** Effect of egg yolk concentration on cryopreserving Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) epididymal spermatozoa. *Theriogenology*. 66 (5), 1219-26.
- Sun L, Fan W, Wu C et al. (2020).** Effect of substituting different concentrations of soybean lecithin and egg yolk in tris-based extender on goat semen cryopreservation. *Cryobiology*, 92, 146-150.
- Şen ÇÇ, Kulaksız R (2017).** Kısa süreli teke spermasının saklanması farklı şekerlerin sperma kalitesi üzerine etkisi. *BAUN Sağ Bil Derg*, 6 (3), 104-107.
- Tar M, Towhidi A, Zeinoaldini S, Zhandi M, Zadeh MHM (2017).** Determination of the egg yolk optimum level in the goat sperm freezing extender by In vitro evaluations. *Iran J Appl Anim Sci*, 49 (3), 361-370.
- Üstüner B, Günay Ü (2009).** Teke Spermasının Saklanması ve Suni Tohumlama. *Uludag Univ J Fac Vet Med*, 28 (1), 53-58.
- Yıldız C, Kaya A, Aksoy M, Tekeli T (2000).** Influence of sugar supplementation of the extender on motility, viability and acrosomal integrity of dog spermatozoa during freezing. *Theriogenology*, 54, 579-585.
- Yotov SA, Velislavova DV, Dimova LR (2016).** Pregnancy rate in Bulgarian White milk goats with natural and synchronized estrus after artificial insemination by frozen semen during breeding season. *Asian Pac J Reprod*, 5 (2), 144-147.



Investigation of Milk Somatic Cell Counts During Early Lactation Stages in Awassi Ewes

Serdal KURT¹,*  Funda EŞKİ²  Seçkin SALAR³  Ayhan BAŞTAN³ 

¹ Kahramanmaraş İstiklal University, Elbistan Vocational School, Department of Veterinary, 46300, Kahramanmaraş, Turkey

² Cukurova University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, 01250, Adana, Turkey

³ Ankara University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, 01110, Ankara, Turkey

Received: 26.01.2022

Accepted: 25.02.2022

ABSTRACT

This study aimed to investigate the change of somatic cells counts (SCC) and to determine its normal value during the early lactation period in healthy Awassi ewes. The study was conducted on a total of 75 healthy Awassi ewes. The animals were divided into three groups as those in the second week of lactation (Group 1; n= 25), those in the fourth week of lactation (Group 2; n= 25), and those in the sixth weeks of lactation (Group 3; n= 25). California Mastitis Test (CMT) negative animals were included in the study and, milk samples were collected for SCC analysis. In addition, blood samples were taken from all animals for alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase and gama glutamil transferaz analysis. SCC was significantly reduced in Group 2 compared to Group 1 (p<0.05). However, it was observed that Group 3 had a higher rate of SCC than the other groups (p<0.05). In conclusion, milk SCC was lowest in the fourth week of lactation, but reached the highest level in the sixth week. Since the milk yield was similar between the groups, it was thought that the SCC was not related to milk yield.

Keywords: Ewe, Lactation, Milk, Somatic cell.

ÖZ

İvesi Koyunlarında Erken Laktasyon Dönemindeki Süt Somatik Hücre Sayılarının Araştırılması

Sunulan çalışma, sağlıklı İvesi koyunlarda erken laktasyon dönemindeki somatik hücre sayısının (SCC) değişimini araştırmayı ve normal değerini belirlemeyi amaçlamıştır. Çalışma toplam 75 baş sağlıklı İvesi koyunu üzerinde yürütüldü. Hayvanlar, laktasyonun ikinci haftasında olanlar (Grup 1; n= 25), laktasyonun dördüncü haftasında olanlar (Grup 2; n= 25) ve laktasyonun altıncı haftasında olanlar (Grup 3; n= 25) olmak üzere üç gruba ayrıldı. California Mastitis Testi (CMT) negatif olan hayvanlar çalışmaya dahil edildi ve SCC analizi için süt örnekleri alındı. Ayrıca tüm hayvanlardan alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalın fosfataz ve gama glutamil transferaz analizleri için kan örnekleri alındı. SCC, Grup 1'e kıyasla Grup 2'de önemli ölçüde azaldı (p<0.05). Bununla birlikte diğer gruplara kıyasla Grup 3'ün daha yüksek SCC oranına sahip olduğu tespit edildi (p<0.05). Sonuç olarak, süt SCC laktasyonun dördüncü haftasında en düşük düzeyde iken altıncı haftada en yüksek seviyeye ulaştı. Süt verimi gruplar arasında benzer olduğu için SCC'nin süt verimi ile ilişkili olmadığı düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Koyun, laktasyon, Somatik hücre, Süt.

INTRODUCTION

The somatic cell value is the total number of the different cells types such as leukocytes and epithelial cells in milk (Lafi 2006; Souza et al. 2012). Healthy milk has a moderate number of species-specific somatic cells counts (SCC). However, an increase in milk SCC is considered as an indicator of mammary gland inflammation (Lafi 2006). Therefore, milk SCC value is closely related to udder health (Harmon 2001; Stocco et al. 2020) and is accepted as a standard tool at the international level in the evaluation of milk quality (Costa et al. 2020; Podhorecká et al. 2021).

However, in order to evaluate milk quality and udder health with SCC, its normal limit should be known first. The milk secretion of ewes is largely apocrine, and the milk contains cytoplasmic particles similar in size to somatic cells, and these particles are considered as normal components of their milk (Souza et al. 2012). On the other hand, although these particles contain large amounts of RNA and protein, they are not considered cells because they do not contain nuclei or DNA. For this reason, there are significant differences in SCC among ruminants, and udder health studies with SCC in small ruminants should be approached from this perspective (Souza et al. 2012).



However, the SCC threshold value in sheep milk is still a controversial issue (Albenzio et al. 2019). Moreover, it is known that determining the legal limit of milk SCC value in sheep is a complex situation and has not been clarified yet (Paape et al. 2007; Albenzio et al. 2019). It is known that factors such as environment, lactation stage, age, and the number of born lambs are among the parameters that affect the SCC value in healthy sheep (Arias et al. 2012). It is also known that liver function can affect some parameters of milk assessment (Mordak et al. 2020). It has been stated that parameters such as alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP) and gamma-glutamyl transferase (GGT) can be used to determine liver function (Puppel and Kuczyńska 2016). The presented study hypothesized that the number of SCC may change during the early lactation period in ewes with similar characteristics. Therefore, in this study, it was aimed to investigate the change of SCC during the early lactation period in healthy Awassi ewes. In addition, ALT, AST, ALP, and GGT levels were measured to evaluate the health status of the animals and to determine whether there were differences between the groups. So, it is aimed that the results obtained can be used to determine the normal SCC value and to characterize milk quality in Awassi ewes.

MATERIAL AND METHODS

In order to carry out this study, approval was obtained from the Ethics Committee of Cukurova University Ceyhan Veterinary Faculty (15/01 and 30.12.2021). The present study was conducted on a total of 75 healthy Awassi ewes during the early lactation period. The ewes used in the study were selected from among animals that were housed and fed under similar conditions and were identical in terms of age, yield and parity. In addition, the animals were included in the study after the completion of the colostrogenesis stage in the postpartum period.

Group and Study Plan

The animals were divided into three groups as those in the second week of lactation (Group 1; n= 25), those in the fourth week of lactation (Group 2; n= 25), and those in the sixth weeks of lactation (Group 3; n= 25). The ewes in each group were randomly selected from among animals with similar characteristics.

Milk and blood samples

Before collecting milk samples, animals in all groups subjected to the California Mastitis Test (CMT) as previously described (Baştan et al. 2008) and according to the manufacturer's instructions (California mastitis test kit, Immucell). CMT reactions were recorded as negative

(0), trace, 1 (+), 2 (+) and 3 (+) as previously defined (Baştan et al. 2008; Kandeel et al., 2018). The result was considered negative when 0 value was obtained. Then, CMT negative animals were included in the study and, milk samples were equally collected (15 mL) from 2 udder lobes of each animals into a sterile falcon tube (Isolab®, Germany). Milk samples were transferred to the laboratory under the cold chain (+ 4°C) for SCC analysis. Blood samples (5 mL) were taken from the jugular vein into serum tubes (Hema & Tube®) with clot activator. Blood samples were centrifuged (1500 x g during 10 min), serum was harvested and stored at (-20°C) until analyzes.

Laboratory Analyzes

Analysis of blood biochemistry

Blood serum ALT, AST, ALP and GGT levels were analyzed by electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) method using commercial kits (Cobas®, Roche, Germany).

Determination of milk somatic cell counts

The milk SCC was analyzed using an automatic somatic cell counting device (DeLaval Cell Counter DCC®, Sweden) and a counting cassette (DeLaval Cell Counter Cassettes: 92865881). For the measurement of SCC in ewes milk, device's the extra sucking time was activated as stated in the instruction book for the DCC. All steps of the analysis were carried out according to the manufacturer's instructions (DeLaval 2009).

Statistical Analysis

The results were analyzed using the SPSS package program (version: 16.0; IBM, USA). Kolmogorov-Smirnov test was performed as normality test. As a result of the normality test, continuous measurements showed a normal distribution. The two- factor analysis of variance (ANOVA) was used to analyze the differences between groups. When significant effects were detected, differences between study groups were determined with the Tukey test. The significance level was accepted as $p < 0.05$ and the results were given as Mean \pm SEM.

RESULTS

It was found that ALT, AST, ALP, GGT levels were similar between all groups ($p > 0.05$). The results of biochemical parameters obtained from three groups are given in detail in Table 1. There was no difference between the groups in terms of milk yield ($p > 0.05$). SCC was significantly reduced in Group 2 compared to Group 1 ($p < 0.05$). However, it was observed that group 3 had a higher rate of SCC than the other groups ($p < 0.05$). SCC and milk yield values are presented in Table 2.

Table 1: Biochemical parameters obtained from all groups.

Parameters	Groups			p value
	Group 1 (n:25) (Mean \pm SEM)	Group 2 (n:25) (Mean \pm SEM)	Group 3 (n:25) (Mean \pm SEM)	
ALP (U/l)	89.20 \pm 2.98	91.00 \pm 4.02	92.48 \pm 4.55	NS
ALT (U/l)	18.72 \pm 0.57	19.84 \pm 0.95	20.68 \pm 1.19	NS
AST (U/l)	95.36 \pm 1.46	97.72 \pm 3.79	93.76 \pm 1.46	NS
GGT (U/l)	29.44 \pm 1.62	32.32 \pm 2.67	27.96 \pm 1.32	NS

ALP: Alkaline phosphatase, ALT: Alanine aminotransferase, AST: Aspartate aminotransferase, GGT: Gama glutamil transferaz, SEM: Standart Error of Mean, NS: Not Significant.

Table 2: Somatic cell counts and milk yield findings of all groups.

Parameters	Groups			p value
	Group 1 (n:25) (Mean ± SEM)	Group 2 (n:25) (Mean ± SEM)	Group 3 (n:25) (Mean ± SEM)	
SCC x 10 ³ (cells/mL)	85.72±1.31 ^a	58.40±3.35 ^b	122.92±6.08 ^c	p<0.05
Milk Yield (L)	0.81±0.03	0.89±0.07	0.93±0.08	NS

SEM: Standart Error of Mean, NS: Not Significant.

DISCUSSION AND CONCLUSION

In this study, it was investigated that the change of SCC level during early lactation in Awassi ewes with similar characteristics. To clarify this, three groups were created from healthy ewes in the second, fourth and sixth weeks of lactation.

In dairy sheep, SCC analysis is a tool used as an indicator of milk quality (Schukken et al. 2003) and udder health (Bouvier-Muller et al. 2018; Hofmannova et al. 2018). Moreover, it is considered the cornerstone of abnormal milk control programs in ruminant such as sheep, cows and goats (Paape et al. 2007). However, the acceptable SCC level for healthy sheep of different breeds has not been clarified, and is still controversial (Leitner et al. 2003; Paape et al. 2007; Albenzio et al. 2019).

In the European Union, it has been declared that the legal limit for hygienic cow milk production criteria is 400.000 cells/ml, but for other milking types, no legal limit has been declared (Albenzio et al. 2019). It has been reported that sheep milks with somatic cell counts <500.000 and between 500.000 to 1.000.000 cells/mL are of good quality and average quality, respectively (Albenzio et al. 2019). Sevi et al. (1999) reported that the SCC threshold value of hygienic sheep milk is 700.000 cells/mL. On the other hand, many different results have been reported regarding the milk SCC level of healthy sheep (Paape et al. 2001; Leitner et al. 2003; Aleksh et al. 2014; Riggio and Portolano 2015). In addition, it has been reported that many factors such as lactation number, stage of lactation, management factors (Leitner et al. 2003), twinning, parity and breed (Lafi 2006), milking method and feed affect the SCC level (Sevi et al. 1999). Most importantly, it is known that udder infection affects milk quality (Kurt et al. 2019) and significantly increases SCC level (Leitner et al. 2003; Souza et al. 2012). Therefore, in the presented study, ewes with the same characteristics were used.

In the presented study, it can be thought that the results were negatively affected since the scc numbers of different ewes were followed at 2, 4 and 6 weeks. The fact that the ewes in this study are healthy and have similar characteristics minimizes this assumption. However, we think that following the SCC change of the same animals during the lactation can give more precise results. In this study, animals were first subjected to the CMT test, and then those with healthy udders were included in the study. In addition, some important general health parameters within ALT, AST, ALP and GGT were examined to determine whether there was a difference between the groups. It was found that these parameters were similar between all groups. Thus, it was revealed that the groups were identical in terms of general health. When previous reports are examined (Sevi et al. 1999; Albenzio et al. 2019), it is understood that the SCC value of all groups is acceptable level for healthy udders.

In the presented study, the highest SCC was determined as 122.92±6.08 x 10³ cells/mL. However, significant differences were observed between groups in terms of SCC. The SCC decreased in Group 2 compared to Group 1, and it increased in Group 3 compared to the other groups. This revealed that mik SCC in Awassi ewes was lowest at the fourth week compared to second and sixth weeks of lactation. Sevi et al. (2004) stated that SCC increased in the late lactation period compared to the early and middle lactation periods. In this study, although SCC was measured only in the early lactation period, it is thought that the lactation day may have affected the SCC level. Similarly, the SCC increased in Group 3 parallel to lactation day. However, there is no similar relationship between Group 1 and Group 2. It is also thought that there may be a relationship between milk yield and the milk SCC. However, since milk yield was similar between all groups in this study, such a comparison could not be made.

In conclusion, in this study it was investigated SCC variation during early lactation in healthy Awassi ewes. The milk SCC was lowest in the fourth week of lactation, but reached the highest level in the sixth week. Since the milk yield was similar between the groups, it was thought that the SCC was not related to milk yield. In addition, we think that future studies involving larger numbers of animals should investigate SCC change and the relationship between milk yield and SCC throughout the whole lactation period in healthy Awassi ewes.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors report no conflicts of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Idea / Concept: SK, FE

Supervision / Consultancy: AB, SS

Data Collection and / or Processing: SK, FE

Analysis and / or Interpretation: SK, FE

Writing the Article: SK, FE

Critical Review: AB, SS

REFERENCES

- Albenzio M, Figliola L, Caroprese M et al. (2019). Somatic cell count in sheep milk. *Small Rumin Res*, 176, 24-30.
- Aleksh MO, Alshehabat MA, Abutarbush SM (2014). The prevalence and etiology of subclinical mastitis in Awassi sheep; emphasis on the relationship between the isolated organisms and the somatic cell count. *Ej-Vetmed*, 8, 1-13.
- Arias R, Oliete B, Ramón M et al. (2012). Long-term study of environmental effects on test-day somatic cell count and milk yield in Manchega sheep. *Small Rumin Res*, 106 (2-3), 92-97.
- Baştan A, Kaçar C, Acar DB, Şahin M, Cengiz M (2008). Investigation of the incidence and diagnosis of subclinical mastitis in early lactation period cows. *Turk J Vet Anim Sci*, 32, 119-121.
- Bouvier-Muller J, Allain C, Enjalbert F et al. (2018). Somatic cell count-based selection reduces susceptibility to energy shortage during early lactation in a sheep model. *J Dairy Sci*, 101 (3), 2248-2259.

- Costa A, Neglia G, Campanile G, De Marchi M (2020).** Milk somatic cell count and its relationship with milk yield and quality traits in Italian water buffaloes. *J Dairy Sci*, 103 (6), 5485-5494.
- DeLaval (2009).** Kullanım kılavuzu. DeLaval hücre sayıcı DCC.
- Harmon RJ (2001).** Somatic cell count: A primer. In: Annual Meeting National Mastitis Council Reno, Proceedings. Madison: National Mastitis Council 40, 3-9.
- Hofmannova M, Rychtářová J, Sztankoova Z et al. (2018).** Association between polymorphism of ABCG2 gene and somatic cell count in Czech dairy sheep breeds. *Medycyna Weterynaryjna*, 74 (8), 489-492.
- Kandeel SA, Morin DE, Calloway CD, Constable PD (2018).** Association of California mastitis test scores with intramammary infection status in lactating dairy cows admitted to a veterinary teaching hospital. *J Vet Intern Med*, 32 (1), 497-505.
- Kurt S, Çolakoğlu, HE, Yazlık MO, Vural MR, Küplülü Ş (2019).** Sütçü ineklerde mastitis yönünden kuru ve geçiş dönemlerinin önemi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 14 (1), 107-113.
- Lafi SQ (2006).** Use of somatic cell counts and California Mastitis Test results from udder halves milk samples to detect subclinical intramammary infection in Awassi sheep. *Small Rumin Res*, 62 (1-2), 83-86.
- Leitner G, Chaffer M, Caraso Y et al. (2003).** Udder infection and milk somatic cell count, NAGase activity and milk composition-fat, protein and lactose in Israeli-Assaf and Awassi sheep. *Small Rumin Res*, 49 (2), 157-164.
- Mordak R, Kupczyński R, Kuczaj M, Nizański W. (2020).** Analysis of correlations between selected blood markers of liver function and milk composition in cows during late lactation period. *Ann Anim Sci*, 20 (3), 871-886.
- Paape MJ, Poutrel B, Contreras A, Marco JC, Capuco AV (2001).** Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *J Dairy Sci*, 84, E237-E244.
- Paape MJ, Wiggins GR, Bannerman DD et al. (2007).** Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Rumin Res*, 68 (1-2), 114-125.
- Podhorecká K, Borková M, Šulc M et al. (2021).** Somatic cell count in goat milk: an indirect quality indicator. *Foods*, 10 (5), 1046
- Puppel K, Kuczyńska B (2016).** Metabolic profiles of cow's blood; a review. *J Sci Food Agric*, 96 (13), 4321-4328.
- Riggio V, Portolano B (2015).** Genetic selection for reduced Somatic Cell Counts in sheep milk: A review. *Small Rumin Res*, 126, 33-42.
- Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison-Tikofsky L, Gonzalez RN (2003).** Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet Res*, 34 (5), 579-596.
- Sevi A, Albenzio M, Marino R, Santillo A, Muscio A (2004).** Effects of lambing season and stage of lactation on ewe milk quality. *Small Rumin Res*, 51 (3), 251-259.
- Sevi A, Albenzio M, Taibi L, Dantone D, Massa S (1999).** Changes of somatic cell count through lactation and their effects on nutritional, renneting and bacteriological characteristics of ewe's milk. *Adv Food Sci*, 21 (3-4), 122-127.
- Souza FN, Blagitz MG, Penna CFAM et al. (2012).** Somatic cell count in small ruminants: friend or foe? *Small Rumin Res*, 107 (2-3), 65-75.
- Stocco G, Summer A, Cipolat-Gotet C, Zanini L et al. (2020).** Differential somatic cell count as a novel indicator of milk quality in dairy cows. *Animals*, 10 (5), 753.



Termografinin Sığır Ayak Hastalıklarının Tanısında Kullanımı

Adem DÜZGÜN^{1,*} Loğman ASLAN²

¹ Selcuk District Directorate of Agriculture and Forestry, 35920, Izmir, Turkey

² Van Yuzuncu Yil University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Surgery, 65040, Van, Turkey

Received: 27.01.2022

Accepted: 02.03.2022

ÖZ

Bu çalışmada sığırların ayak hastalıklarının tanısında, termal kameranın farklı ortam sıcaklıklarında kullanılabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın materyalini 12 farklı işletmede bulunan, 1 yaşın üzerinde, 200 dişi sığır oluşturmuştur. Termal kamera ile ön ve arka ayakların coroner band bölgesinin dorsalinden görüntülenerek, sıcaklıkları ölçülmüştür. Aynı bireylere ait sağlıklı ayaklar arasında istatistik olarak anlamlı bir sıcaklık farkı yokken, hasta bireylerin sağlıklı ve hasta ayakları arasında belirgin bir sıcaklık farkının olduğu, bu sıcaklık farkının; ön ayaklarda, 11.75 ± 5.03 °C iken arka ayaklarda, 10.96 ± 4.45 °C olduğu bulunmuştur. Sağlıklı ayaklar için yapılan istatistik analizi sonucu, ortam sıcaklığında meydana gelecek 1 °C'lik değişikliğin, ayaklarda ortalama 1.14 ± 0.10 °C'lik bir değişikliğe yol açtığını göstermiş ve bu değişim miktarı istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Termal kamera ile yapılan muayenelerde, ortam sıcaklığı sağlıklı ayaklar üzerine doğrudan etki ederken, hastalıklı ayaklar üzerine etkisinin sınırlı olduğu belirlendi. Ayak hastalıklarında termal kamera ile yapılacak olan muayeneler ile klinik semptomlar ortaya tam olarak çıkmadan ayak hastalıklarının erken tanısının mümkün olabileceği, günümüzde termal kamera teknolojisinin gelişmesi ve ucuzlaması ile ayak hastalıklarının tanısında kullanımının veteriner klinik pratiğe katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ayak, Cerrahi, Sığır, Termografi, Veteriner.

ABSTRACT

Use of Thermography in the Diagnosis of Bovine Foot Diseases

The purpose of this study was to determine the applicability of thermal cameras at different ambient temperatures in the diagnosis of foot diseases of cows. The material of this study was consisted of 200 cows, over 1 year old, from 12 different farms. The temperature of anterior and posterior limbs was measured from the dorsal coronal band region with thermal camera. There was a statistically significant difference between the temperatures of healthy and diseased feet of the cows. The temperatures were found as 11.75 ± 5.03 °C in the front feet and 10.96 ± 4.45 °C in the rear feet. The result of statistical analysis for healthy feet showed that the occurrence of 1 °C change at the ambient temperature caused an average change of 1.14 ± 0.10 °C in the feet and this amount of change was found statistically significant ($p < 0.001$). In the examinations made with a thermal camera, it was determined that while the ambient temperature had a direct effect on healthy feet, its effect on diseased feet was limited. It is thought that early diagnosis of foot diseases can be possible before clinical symptoms appear fully with the examinations to be made with thermal camera in foot diseases, and its use in the diagnosis of foot diseases with the development and cheapness of thermal camera technology today may contribute to veterinary clinical practice.

Keywords: Cattle, Foot, Surgery, Thermography, Veterinary.

GİRİŞ

Türkiye'deki hayvan yetiştiriciliğinde ayak hastalıkları başlıca problemlerden biridir. Şirurjikal açıdan büyük önem taşıyan ve oldukça sık görülen ayak hastalıkları, tüm sığır hastalıklarının %15-25'ini kapsamaktadır (Anteplioğlu ve ark. 1992; Yurdakul ve ark. 2012).

Ülkemizde topallığın yaygınlık düzeyi ile ilgili yapılan çalışmalar, entansif sığır yetiştiriciliği ile paralel olarak sorunun önemini koruduğu ve yıllar içerisinde artış

gösterdiğini (%7-58) belgelemektedir. Klinik olarak tamamen sağlıklı olduğu düşünülen sığır trınakları üzerinde yapılan incelemelerde subklinik laminitis oranının yaklaşık %40 dolayında olduğu bildirilmiştir. Bu ve benzeri araştırma sonuçları, latent seyreden hastalıkların varlığı nedeniyle sürülerde topallık düzeyini azaltmak amacıyla sürü yönetimi, çevre ve besleme uygulamalarının dikkatle yapılmasının önemini ortaya çıkarmıştır (Çeçen 2014).



Sığır topallıklarının %75-90'ı ayak ve tırnak hastalıkları, %10-25'i ise bacak lezyonları ile ilişkilidir. Topallık ağrılı bir süreçtir ve bu süreçte hayvanların yem tüketimi azalır, süt ve döş verimi düşer, zorunlu olarak sürüden erken çıkarılmalarına yol açabilir. Ayak ve tırnak hastalıklarından kaynaklanan ekonomik kayıplar, sağaltım masraflarından çok daha yüksektir. Çünkü sağaltım masrafları dışında ilave iş gücü, süt üretiminde düşme, vücut kondisyonunda kayıp, buzağılama aralığında uzama, meme problemi riskinde artma, sürüden çıkarma riskinde artma ve kesim değerinde düşme gibi ilave kayıplar dikkate alındığında masraf çok daha ciddi boyutlara ulaşmaktadır (Çeçen 2014). Her bir süt sığırı için ayak kaynaklı topallığın ekonomik kaybı ortalama 270 dolardır. Hayvanın gebelik durumu, süt verimi gibi veriler göz önüne alınca bu kayıplar her bir hayvan için 570 dolara kadar çıkabilir (Kamiloğlu 2014).

Topallıkların yol açtığı ekonomik kayıpların yanında, tedavi için uygulanan antibiyotiklerin insan tüketimine sunulan süt ve ette önemli ölçüde kalıntı oluşturduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiş olduğu gibi, Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün yayınladığı bir raporda antibiyotiklerin hatalı kullanımı sonucu, antibiyotiklere karşı mikropların bağışıklık kazandığı ve insan sağlığında kullanılan antibiyotiklerin etkili olmadığı açıklanmış ve yapılan araştırmalarda da insanlara geçen antibiyotik kalıntılarının insan vücudunda dirençsiz bakterileri öldürerek, güçlü ve zararlı bakterilerin çoğalmasına sebep olduğu ve hastalık esnasında kullanılan antibiyotiklerin giderek etkisiz kaldığı gözlemlenmiştir (Erşahin 2002; Duru ve ark. 2004). İneklerde meydana gelen topallıkların hayvan refahı, ekonomik kayıplar yanında insan sağlığı açısından da çok önemli olduğu anlaşılmaktadır. Bu nedenle ayak hastalıklarının erken tanısı daha az müdahale, daha az harcama ve daha az antibiyotik kullanımı manasına gelmektedir (Dolecheck ve Bewley 2018).

Termografi kavramı, "sıcaklık resmi" anlamına gelen "thermo" ve "graphy" kelimelerin köklerinden türetilmiştir. -273°C üzerindeki tüm nesnelere bir termal enerji yayarlar. Bu enerji nesnelere sıcaklığına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Termal enerji gözümüzün göremediği kızılötesi (Infrared) aralıkta yayılır. Termal kamera, sıcaklığı olan nesnenin, ısısını algılayıp, bunun resimsel olarak termal şeklini kaydeden, dokularda yıkılma yapmayan, temas gerektirmeyen ve radyasyona yol açmayan bir görüntüleme cihazıdır (Eddy ve ark. 2001). Termal kameralar çıplak gözle tespit edilmeyen, ancak ciddi sonuçlara yol açabilen küçük problemleri, yüzeyde meydana gelen sıcaklık değişimlerinin izlenmesiyle net olarak görmemizi sağlar (Kafalı ve ark. 2003; Çalışan ve ark. 2011).

Kızılötesi bir kamera, nesneden çıkan kızılötesi radyasyonu ölçmekte ve görüntülemektedir. Radyasyonun nesne yüzey sıcaklığının bir fonksiyonu olması kameranın bu sıcaklığı hesaplamasını ve görüntülemesini mümkün kılmaktadır. Bununla birlikte, kamera tarafından ölçülen radyasyon yalnızca nesnenin sıcaklığına bağlı değildir, radyasyon aynı zamanda çevreden kaynaklanmakta ve nesne tarafından yansıtılmaktadır. Nesneden gelen radyasyon ve yansıyan radyasyon, atmosferin absorpsiyonundan da etkilenmektedir. Sıcaklığı doğru bir şekilde ölçmek için, bir takım farklı radyasyon kaynaklarının etkilerini dikkate almak gereklidir. Bu, kamera tarafından çevrimiçi olarak otomatik olarak yapılmaktadır. Bununla birlikte, kamera için nesnelere ilişkin olarak nesnenin emissivitesi (radyasyon yayması), yansıyan sıcaklık, nesne ile kamera arasındaki mesafe ve

bağlı nem parametrelerinin sağlanması gerektiği belirtilmektedir (Knizkova ve ark. 2007).

Veteriner Hekimlik ile ilgili çalışmalar sığır ve atlar üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Alsaad ve arkadaşları (2014) kızılötesi termografiyi sığırlarda rutin tırnak düzeltme işleminden önce digital dermatit (DD) tespit etmek için kullanmışlardır. Sekiz çiftlikte 149 sığır üzerinde toplam 1192 IRT gözlemi yapılmıştır. Ön ve arka ayakların koroner band (CB) bölgesinin ve derisinin (S) maksimum yüzey sıcaklıkları (her ayağın her iki basamağın maksimum yüzey sıcaklıklarının ortalama değeri CBmax ve Smax) ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, IRT'nin süt sığırlarında CBmax ve Smax'ı ölçerek DD varlığının taranması için faydalı ve invaziv olmayan bir tanı aracı olabileceğini göstermiştir (Alsaad ve ark. 2014).

Bu bilgiler doğrultusunda termal görüntülemenin özellikle süt sığırcılığında kullanılabilirliği, yemleme ya da sağım sırasında yapılacak taramalarda ayak, tendo, kas ya da eklem hastalıklarının tanısının erken konulabileceği çalışmanın yapıldığı işletmelerde sıcaklıklar eşit olmadığı halde her işletmenin kendi içinde değerlendirilebileceği ve böylece doğru tanı konulabileceği düşünülmüştür. Ülkemizde gittikçe yaygınlaşmaya başlayan büyük işletmelerle birlikte çiftlik hekimliği de yaygınlaşmakta buna bağlı olarak koruyucu hekimliğin önemi de artmaktadır. Ayak hastalıklarının erken tanısı ile antibiyotik kullanımını azaltacak, işletmenin masrafları azalacak, süte ve ette antibiyotik kalıntısı azalacak bunlarla birlikte hayvanların verimli ömrü uzamış ve refahları iyileştirilmiş olacaktır (Dolecheck ve Bewley 2018).

Bu çalışmada, termal görüntülemenin sıcaklığın istenilen biçimde kontrol edilebildiği, hayvan hastanesi, veteriner kliniği gibi ortamlar dışında tanı amaçlı kullanıldığında çevre sıcaklığının sağlıklı ve hasta ayak sıcaklığı üzerine nasıl etki ettiğinin ve sığır ayak hastalıklarının erken tanısında kullanılabilirliğini araştırmak amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 30.11.2017 tarih ve 2017/11 sayılı izni ile yürütülmüştür.

Çalışmada kullanılan hayvan materyali Van ve yöresinde bulunan 12 işletmedeki 200 sığırdan oluşmuştur. Sığırlar 1 yaşın üzerinde kültür ve kültür melezi, dişi hayvanlardan oluşmuştur. Çalışmanın yapıldığı işletmelerden 1 tanesi kapalı-serbest, 2 tanesi açık-serbest ve diğer 9 adet işletme ise kapalı ve işletmelerdeki sığırlar bağlı idi.

Termografik görüntülemeler için FLIR marka E50 model 43200 piksel (240x180) çözünürlüklü, 0.05 °C termal duyarlılığa sahip, -20 ile 650 °C aralığında çalışma özelliğine sahip, ekran boyutu 3.5", JPEG formatında termal görüntü ve fotoğraf kaydı özelliğine sahip el tipi kompakt infrared kamera kullanılmıştır.

Termografik ölçümler sığırların bulunduğu işletmelerde ve Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi kliniğine getirilen hasta hayvanlarda gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, yayılan sıcaklığın termogramlarda artefakt oluşturmasını engellemek için güneş ışığının ulaşmadığı alanlarda yapılmıştır. Ortam sıcaklığına herhangi bir müdahale yapılmamış; ölçümler işletmelerde hayvanların sağımı ya da yem aldığı saatlerde duraklarına veya yemliklerine bağlıyken kendi ortamlarında herhangi bir strese maruz kalmadan ve herhangi bir trankizan ya da sedatif ilaç kullanmadan yapılmıştır.

Ölçümleri olumsuz yönde etkileyecek olan ıslak ayaklı hayvanlar veya sıcaklıkların ölçüleceği alana dışkı bulaşmış olan hayvanlar değerlendirilmeye alınmamıştır. Ayrıca ölçümler sırasında sıcaklık değerlerini etkileyebilecek, su ya da herhangi bir temizleyici ile temizlik işlemi uygulanmamış sadece gerekli durumlarda, ölçüm yapılacak alandaki dışkıları uzaklaştırmak için, fırça ile mekanik temizlik yapılmıştır.

Termal kamera termografik ölçüm yapılacak bölgeden 100-120 cm uzakta olacak şekilde tespit edilerek termografik görüntüler elde edilmiştir (Turner 1991; Yanmaz 2011). Ölçümler yapılırken ön sağ-sol ayaklarda koroner bant ile interdigital aralığın keşişim yeri, arka sağ-sol ayaklarda koroner bant ile interdigital aralığın keşişim yeri görüntülenerek alınan bu görüntüler bilgisayara kaydedilmiş ve bulgular değerlendirilmiştir. Görüntüler değerlendirilirken FLIR tools + yazılımı kullanılmıştır. Bu yazılımla görüntülerde, odaklanmak istenilen noktanın net sıcaklık değeri ölçülerek değerlendirilmiştir. Alınan termografik görüntüler değerlendirilirken herhangi bir hastalığı olmayan sağlıklı hayvanların gruplandırılarak farklı zemin sıcaklıklarında ölçülen sıcaklık değerleriyle referans değerler oluşturulmaya çalışılmıştır. Hastalıklı olduğu tespit edilen hayvanların hasta ayakları ile sağlıklı ayaklar kendi aralarında değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme, hasta ön sağ ayak- sağlıklı ön sağ ayak, hasta ön sol ayak- sağlıklı ön sol ayak, hasta arka sağ ayak- sağlıklı arka sağ ayak, hasta arka sol ayak- sağlıklı arka sol ayak şeklinde yapılmıştır.

Hayvan sahiplerinin izniyle, termal kamera ile yapılan görüntüleme sonrası, sağlıklı olduğu belirlenen ve hastalık şüpheli hayvanlar hakkında hayvan sahiplerinden anamnez alındı. Hayvan sahiplerinden, topallayan hayvanların, ayaklarında herhangi bir hastalık olduğu bilinen hayvanların bildirilmesi istendi. Yapılan değerlendirmeler doğrultusunda, görüntüleme ile hayvan sahiplerinden alınan anamnezler arasında birbirlerini destekleyen veriler elde edildi. Hayvan sahipleri tarafından topallığı ya da herhangi bir hastalığı olmadığı beyan edilen, ancak termal kamera ile yapılan görüntüleme sonucu hastalıklı olduğundan şüphelenen hayvanların klinik muayenesi yapıldı. Ölçümler ayak hastalıklarının artmaya başladığı Sonbahar ve Kış mevsimleri arasında (Kasım-Aralık ayları) yapıldı.

Çalışmada yanıt aranan temel problemler aşağıdaki şekilde sıralanmaktadır:

- Ortam sıcaklığının sağlıklı ayakların sıcaklığı üzerine etkisi var mıdır?
- Sağlıklı ayaklar arasındaki sıcaklık farkı ortalama, en az ve en çok ne kadardır?
- Hasta ayaklar ile sağlıklı ayaklar arasında sıcaklık farkı açısından bir farklılık var mıdır?
- Sağlıklı hayvanların ayaklarının sıcaklık değerleri tutarlı mıdır?
- Sağlıklı ön-sol ayak, ön-sağ ayak, arka-sol ayak ve arka-sağ ayak arasındaki sıcaklık değerleri birbirine göre anlamlı mıdır?
- Hasta hayvanların ayaklarının sıcaklık değerleri ile ortam sıcaklığı tutarlı mıdır?
- Belirlenen veriler referans sıcaklık değerleri oluşturulmasını sağlamakta mıdır?

İstatistik Analiz

Yukarıdaki problemlere yanıt aranırken verilere uygulanan istatistik analizler için SAS 9.4. programı kullanılmıştır. Bağımlı iki grubu karşılaştırmak için paired

t-test kullanıldı (sağ-sol ön ayaklar, sağ-sol arka ayaklar). Bağımsız gruplar (hastalıklı ve sağlıklı ayaklar) karşılaştırılırken t-test kullanıldı. Ortam sıcaklığının ayaklar üzerinde ortalama değişim miktarını ve önemli olup olmadığını değerlendirmek için regresyon analizi yapıldı. İki değişken arasındaki ilişkinin miktarını ve yönünü belirlemek için pearson korelasyon analizi ve önemlilik testi yapıldı. Ölçümlerin yapıldığı tüm alanlar için temel istatistik analizler gerçekleştirildi. Sonucun $p < 0.05$ olması durumunda veriler arasındaki farkın istatistik olarak anlamlı olduğu kabul edildi.

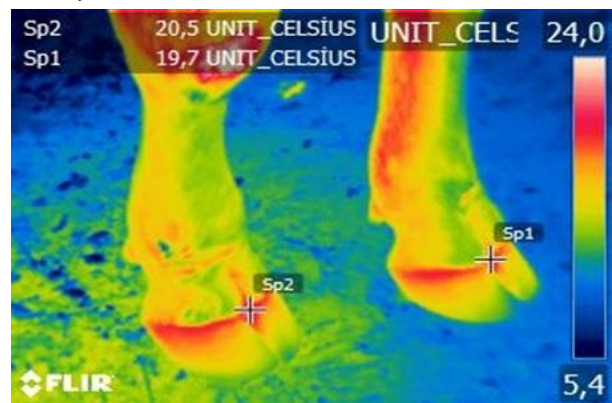
BULGULAR

Termografik ve Klinik Muayene Bulguları

İşletmelerde çalışmanın materyalini oluşturan 200 hayvan termal kamera ile muayene edilmiştir. Termal kamera ile yapılan kontrol sırasında hastalıklı olduğu düşünülen hayvanlar hakkında hayvan sahiplerinden anamnez alındı. Hayvan sahibi ya da bakıcısının hasta olduğunu belirttiği hayvanların klinik muayenesi yapıldı. Lezyonların olduğu ayakların görüntüsü ile sağlıklı ayakların görüntüsü arasında hem belirgin bir sıcaklık farkının hem de termogram arasında da önemli farkların olduğu görüldü.

Çalışmanın klinik bulguları incelendiğinde, muayene edilen 200 hayvanın 13'ünün ön sağ ayak, 20'sinin ön sol ayak, 29'unun arka sağ, 26'sının arka sol ayaklarında hastalık saptandı. Ayak hastalığı olan hayvanlardan, dört ayağında topallık olan 6, üç ayağında topallık olan 6, iki ayağında topallık olan 15 ve sadece bir ayağında topallık olan hayvan sayısının 17 olduğu belirlendi.

Termal kamera ile yapılan muayenelerde hayvanların 44'ünde ayak hastalıkları tespit edildi. Bu hayvanlardan 42'sinde hayvan sahiplerinden alınan anamnez bilgileri, topallığın gözlemlenmesi ve klinik muayene ile birleştirildiğinde ayak hastalıklarının varlığı doğrulanmıştır. Ancak söz konusu hayvanların ikisi ile ilgili hayvan sahiplerinden alınan anamnezde herhangi bir ayak hastalığının olmadığı yönünde bilgi alınmış, yapılan gözlemlerde topallığı olmadığı tespit edilmiş fakat klinik muayenede, her iki hayvanın termal kamera görüntülerini teyit eder biçimde hasta ayakların birinde tırnak çatlağı ve diğerinde ise digital dermatitise ait lezyonlar tespit edilmiştir.

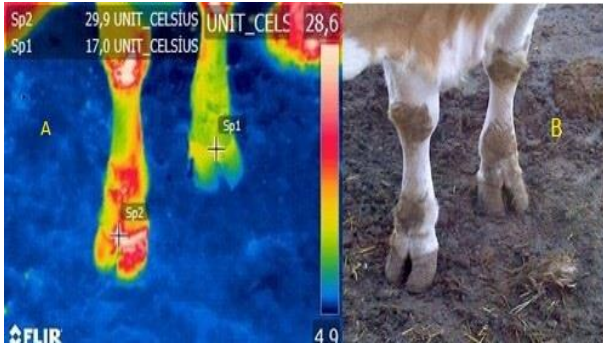


Şekil 1. Sağlıklı ayakların termal görüntüsü.

Figure 1. Thermal image of healthy feet.

Sağlıklı bir ayakta, corium limitans bölgesi ve interdigital aralığın, corium pariatale ve bukağlık derisinden daha sıcak ve kırmızı bir şerit şeklinde olduğu görülmektedir (Şekil 1). Bu bölgelerdeki renk dağılımında meydana gelebilecek bir değişiklik kırmızı rengin kapladığı alanın genişlemesi veya kırmızı rengin beyaz renge dönüşmesi, bu bölgede bir yangının ve enfeksiyonun var olduğunu

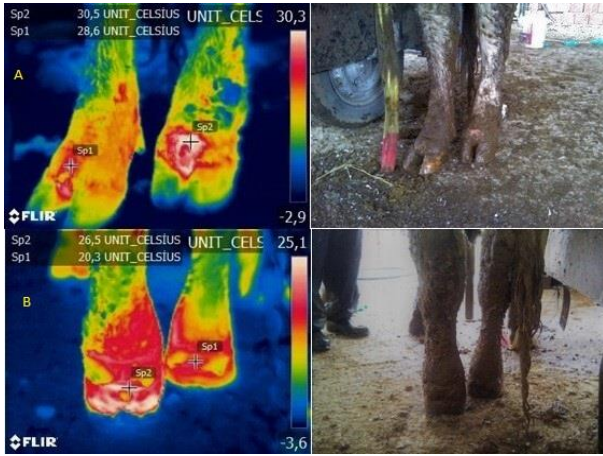
göstermektedir. Bununla birlikte görüntüleme sırasında dikkat edilecek husus renk dağılımı ile birlikte muayene edilen ayaklar arasındaki sıcaklık farkıdır.



Şekil 2. Ön sağ ayakta lezyonlu bölgenin termografik (A) ve inspeksiyon (B) görüntüsü.

Figure 2. Thermographic (A) and inspection (B) image of the lesioned area of the anterior right foot.

Ön ayakların muayenesi ayağın dorsalinden, corium coronarium ve interdigital aralığa odaklanılarak elde edilen görüntülerden, yangılı ayakta yangının şiddetine bağlı olarak beyaz parlak bir alanın oluştuğu, sağlıklı ayağın aksine kırmızı alanların genişlediği ve corium parietale üzerinde de kırmızı bir alanın oluştuğu saptanmıştır (Şekil 2A). Oysa sağlıklı ayakta bu görüntünün aksine corium coronarium bölgesinin, corium parietale ve bukağlık derisinden daha sıcak olduğu ve renk dağılımının normal sınırlar içinde olduğu ve iki ayak arasındaki sıcaklık farkı karşılaştırıldığında yaklaşık 13 °C bir sıcaklık farkının oluştuğu gözlenmiştir.



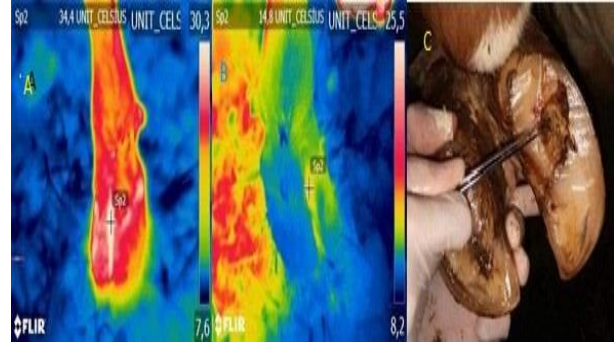
Şekil 3. Arka sol ayakta lezyonlu bölgenin dorsalden (A) ve plantardan (B) görünümü.

Figure 3. Dorsal (A) and plantar (B) view of the lesioned area of the posterior left foot.

Arka ayakların dorsalden yapılan muayenesinde lezyonun bulunduğu ayağın görüntüsünde yangılı bölgede sıcaklık artışına bağlı beyaz parlak alanların oluştuğu, anatomik bölgeler arasındaki renk dağılımının bozulduğu gözlenmiştir (Şekil 3A). Muayene sırasında herhangi bir temizlik işlemi ya da ortam sıcaklığına ilişkin herhangi bir müdahalede bulunulmamasına rağmen, termal kamera ile muayenede elde edilen görüntülerle lezyonun yeri hakkında isabetli sonuç elde edilmiştir.

Aynı ayakların plantarinden yapılan muayenesinde, dorsalden yapılan görüntülemeyi desteklemiştir ve lezyonun bulunduğu alan hakkında anlaşılır görüntüler sunmuştur (Şekil 3B). Arka ayakların dorsalden ve plantardan alınan termografik görüntüleri, lezyonun şekillendiği arka sol ayakta sıcaklık artışının olduğunu ve

buna bağlı olarak meydana gelen sıcak alanların alınan görüntülerde birbiriyle örtüştüğü görülmüştür.



Şekil 4. Hastalıklı (ön sol) (A) ve sağlıklı (ön sağ) (B) ayakların termografik görüntüsü ve hasta ayağın tabanında rusterholz sendromu (C).

Figure 4. Thermographic image of diseased (front left) (A) and healthy (anterior right) (B) feet and rusterholz syndrome (C) on sole of the sick foot.

Çalışma sırasında termal kamera ile ön ayakları muayene edilen bir hayvanda sağlıklı olan ön sağ ayakta sıcaklık 14.8 °C ve hastalıklı sol ayakta sıcaklık 34.4 °C olarak bulunmuştur. Hayvanın ayağının temizlenmesinden sonra inspeksiyon ve palpasyonla yapılan muayenesinde sol ayağın tabanında medialdeki trnakta rusterholz sendromunun varlığı görülmüştür. Termal kamerayla ön ayaklar dorsalden görüntülediği halde, ayak tabanında meydana gelen bir lezyona bağlı olarak şekillenen sıcaklık artışı tespit edilebilmiştir (Şekil 4A-B-C).



Şekil 5. Lezyonlu arka sağ ayağın termal görüntüsü (A) ile ayak temizlendikten sonra çatlak trnağın görüntüsü (B).

Figure 5. Thermal image (A) of the posterior right foot with lesion and image of the cracked nail (B) after foot cleaning.

Şekil 5'de bir hayvanın arka sağ ayağından alınan termal görüntüde (sol ayakta benzer görüntüye sahipti) ve görüntülenen alanda normal ayak görüntüsünün aksine parlak beyaz ve kırmızı alanların, coroner band boyunca ve trnağın üzerinde yayıldığı görülmüştür. Hayvan sahibinden alınan anamnezden topallık veya benzeri bir semptomun olmadığı öğrenilmiştir. Ancak ayağın temizlenmesi ile yapılan detaylı muayenesinde, trnakta bir çatlağın oluştuğu, çatlağın bulunduğu alanın termal görüntüdeki kırmızı-beyaz alanlarla örtüştüğü görülmüştür. Bunun üzerine hayvan sahibi söz konusu hayvanın yaklaşık 1.5 ay önce şap hastalığı geçirdiğini, ancak şimdiye kadar hayvanın ayaklarının tamamen iyileştiklerini düşündüklerini, topallık ya da benzeri bir durumu gözlemediklerini ifade etmiştir. Oysa termal

kamera ile elde ettiğimiz görüntü şap hastalığından sonra ayakta meydana gelen lezyonun izlenebileceği ve iyileşme seyrinin takip edilebileceğini göstermiştir.

Çalışmanın yapıldığı 12 işletmeden özellikle 1'inde işletmenin kapalı ve serbest dolaşım olduğu, işletmede dışkı temizliğinin düzenli olmadığı ve hayvan beslemenin bir programa bağlı olarak yapılmadığı ve ayak hastalıklarının oranının en yüksek bu işletmede var olduğu görüldü. Diğer işletmelerde ise zemin temizliğinin ve rasyonun ayak ve tırnak hastalıklarının doğrudan etkilediği, dolayısıyla hayvan refahının kötü olduğu işletmelerde ayak hastalıklarının arttığı gözlemlendi.

Sağlıklı ayakların sıcaklıklarının istatistikî değerlendirilmesi

Tablo 1'de Sağlıklı ön ve arka ayakların IRT ile ölçülen sıcaklıkları istatistik olarak değerlendirilerek ön ve arka ayakların korelasyon değerleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir

Table 1. Sağlıklı ön ve arka ayakların korelasyon değerleri.

Table 1. Correlation values of healthy fore and hind feet.

Pearson Korelasyon Analizi, N = 155 Prob > r under H0: Rho=0				
	Ön Sağ Ayak	Ön Sol Ayak	Arka Sağ Ayak	Arka Sol Ayak
Sıcaklık	0.73 (<.0001)	0.75(<.0001)	0.71(<.0001)	0.70(<.0001)
Ön Sağ Ayak		0.98(<.0001)	0.81(<.0001)	0.79(<.0001)
Ön Sol Ayak			0.83(<.0001)	0.81(<.0001)
Arka Sağ Ayak				0.98(<.0001)

Termal kamerayla ayak sıcaklıkları ölçülen 200 hayvandan 155'inin sağlıklı olduğu görülmüştür. Tablo 1 incelendiğinde; ortam sıcaklığıyla sağ ön ayak arasındaki korelasyon değeri %73.54, ortam sıcaklığı ile sol ön ayak arasındaki korelasyon değeri %75.15, ortam sıcaklığı ile sağ arka ayak arasındaki korelasyon değeri %71.12 ortam sıcaklığı ile sol arka ayak arasındaki korelasyon değeri %70.84 olup istatistikî olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.001).

Sağ ön ayak ile sol ön ayak arasındaki korelasyon değeri %98.81, sağ ön ayak ile sağ arka ayak arasındaki korelasyon değeri %81.51, sağ ön ayak ile sol arka ayak arasındaki korelasyon değeri %79.81, sol ön ayak ile sağ arka ayak arasındaki korelasyon değeri %83.45, sol ön ayak ile sol arka ayak arasındaki korelasyon değeri %81.98, sağ arka ayak ile sol arka ayak arasındaki korelasyon değeri %98.39 olarak bulunmuş olup istatistikî olarak tamamı anlamlı bulunmuştur (p<0.001). Bu korelasyon değerleri bize sağlıklı ön ayaklar ve arka ayakların sıcaklıklarının ortam sıcaklığıyla ve kendi aralarında uyumlu bir şekilde arttığını veya azaldığını göstermektedir.

Table 2. Ölçülen ortam sıcaklığı ile sağlıklı ön ve arka ayakların sıcaklık değerleri.

Table 2. Temperature values of healthy fore and hind feet with measured ambient temperature.

Değişkenler	n	Min	Mak	Ort	Stand. hata
Sıcaklık	155	6.00	23.00	14.55	0.34
Ön sağ ayak	155	10.60	35.00	23.77	0.58
Ön sol ayak	155	9.00	34.90	23.76	0.58
Arka sağ ayak	155	10.00	35.50	25.65	0.53
Arka sol ayak	155	11.00	35.70	25.69	0.53

Tablo 2'de termal kamera ile ortamın en düşük sıcaklığı 6 °C ve en yüksek sıcaklığı 23 °C olarak ölçülmüştür. Bu ölçümlerle uyumlu olarak ön sağ ayakların en düşük sıcaklığı 10.6 °C, en yüksek sıcaklığı 35 °C, ön sol ayakların en düşük sıcaklığı 9 °C, en yüksek sıcaklığı 34.9 °C, arka sağ ayakların en düşük sıcaklığı 10 °C, en yüksek sıcaklığı 35 °C, arka sol ayakların en düşük sıcaklığı 11 °C, en yüksek sıcaklığı 35.70 °C olarak ölçülmüştür.

Ölçümlerin yapıldığı ortamın ortalama sıcaklığı 14.55±4.32 °C, sağlıklı ön ayakların ortalama sıcaklığı 23.77±7.29 °C, sağlıklı ön sol ayakların ortalama sıcaklığı 23.76±7.31 °C, sağlıklı arka ayakların ortalama sıcaklığı 25.65±6.70 °C, sağlıklı sol arka ayakların ortalama sıcaklığı 25.69±6.68 °C olarak ölçülmüştür.

Hasta ve sağlıklı ayakların sıcaklıklarının istatistikî değerlendirilmesi

Sağlıklı ve hastalıklı hayvanların karşılaştırılması yapılırken, birey bazında değil, hasta ve sağlıklı ayak bazında değerlendirme yapılmıştır. Her ayak kendi arasında gruplandırılmıştır. Sağlıklı sağ ön ayak, hasta sağ ön ayakla, sağlıklı ön sol ayak, hasta sol ön ayakla, sağlıklı sağ arka ayak, hasta sağ arka ayakla ve sağlıklı sol arka ayak, hastalıklı sol arka ayakla karşılaştırılmıştır.

Table 3. Hastalıklı ve sağlıklı ayakların sayısı.

Table 3. Quantity of abnormal and healthy feet.

Grup	Frekans	Oran (%)	Toplam frekans	Toplam oran (%)
Hasta ön sağ ayak	13	6.50	13	6.50
Sağlıklı ön sağ ayak	187	93.50	200	100.00
Hasta ön sol ayak	20	10.00	20	10.00
Sağlıklı ön sol ayak	180	90.00	200	100.00
Hasta arka sağ ayak	29	14.50	29	14.50
Sağlıklı arka sağ ayak	171	85.50	200	100.00
Hasta arka sol ayak	26	13.00	26	13.00
Sağlıklı arka sol ayak	174	87.00	200	100.00

Tablo 3'de çalışmanın yapıldığı popülasyonda bulunan hastalıklı ve sağlıklı ayakların sayısı ve popülasyona oranları gösterilmiştir. Buna göre, sağ ayağında hastalık olan hayvan sayısı 13, sol ön ayağında hastalık olan hayvan sayısı 20, arka sağ ayağında hastalık olan hayvan sayısı 29 ve arka sol ayağında hastalık olan hayvan sayısı 26'dır.

Table 4. Hastalıklı ve sağlıklı ayakların sıcaklıklarının karşılaştırılması.

Table 4. Comparison of the temperatures of abnormal and healthy feet.

Metod	Varyans Analizi			
	Num DF	Den DF	F Değeri	Pr > F
Folded F				
Ön Sağ Ayak	187	13	4.62	0.0049
Ön Sol Ayak	180	20	2.74	0.0129
Sağ Arka Ayak	171	29	7.38	<.0001
Sol Arka Ayak	174	26	5.48	<.0001

Tablo 4'de sıcaklık bakımından hasta ve sağlıklı hayvanların karşılaştırması yapıldı. Buna göre hasta ve sağlıklı ayaklar sıcaklık bakımından istatistik olarak birbirlerinden anlamlı ölçüde farklılık göstermektedir (p<0.01).

Tablo 5. Hasta ayakların ve ortamın sıcaklığı.**Table 5.** The temperature of the abnormal feet and the environment.

Değişkenler	n	Min	Mak	Ort	Stand. hata
Ortam Sıcaklığı	13	6.00	18.00	11.23	1.30
Ön sağ ayak	13	24.10	35.20	31.03	0.95
Ortam Sıcaklığı	20	2.00	18.00	10.65	0.94
Ön sol ayak	20	19.60	36.10	30.85	1.01
Ortam Sıcaklığı	29	2.00	20.00	10.96	0.78
Arka sağ ayak	29	24.80	35.90	31.08	0.47
Ortam Sıcaklığı	26	2.00	18.00	10.07	0.76
Arka sol ayak	26	23.70	34.30	30.55	0.56

Tablo 5’de hasta ayakların sıcaklıklarına ilişkin temel istatistikler verilmiştir. Hasta ön sağ ayaklar için, ortamın ortalama sıcaklığı 11.23±4.71 °C olarak ölçülürken, ayakların ortalama sıcaklığı 31.03±3.45 °C olarak, hasta ön sol ayaklar için, ortamın ortalama sıcaklığı 10.65±4.24 °C, ayakların ortalama sıcaklığı 30.85±4.53 °C, hasta arka sağ ayaklar için, ortam sıcaklığı ortalama 10.96±4.20 °C, ayağın ortalama sıcaklığı 31.08±2.56 °C, hasta arka sol ayaklar için; ortamın ortalama sıcaklığı 10.07±3.89 °C, ayakların ortalama sıcaklığı 30.55±2.88 °C olarak ölçülmüştür.

Tablo 6. Sağlıklı ayakların ve ortamın sıcaklığı.**Table 6.** The temperature of healthy feet and the environment.

Değişkenler	n	Min	Mak	Ort	Stand. hata
Ortam sıcaklığı	187	2.00	23.00	13.94	0.33
Ön sağ ayak	187	10.60	35.00	22.75	0.54
Ortam sıcaklığı	180	2.00	23.00	14.11	0.33
Ön sol ayak	180	7.60	34.90	22.85	0.55
Ortam sıcaklığı	171	2.00	23.00	14.23	0.34
Arka sağ ayak	171	7.20	35.50	25.06	0.53
Ortam sıcaklığı	174	2.00	23.00	14.31	0.33
Arka sol ayak	174	11.00	35.70	25.25	0.51

Tablo 6’de sağlıklı ayakların sıcaklıklarına ilişkin temel istatistikler verilmiştir. Sağlıklı ön sağ ayaklar için, ortamın ortalama sıcaklığı 13.94±4.54 °C, ayakların ortalama sıcaklığı 22.75±7.41 °C, sağlıklı ön sol ayaklar için, ortamın ortalama sıcaklığı 14.11±4.50 °C, ayakların ortalama sıcaklığı 22.85±7.50 °C, sağlıklı arka sağ ayaklar için, ortamın ortalama sıcaklığı ortalama 14.23±4.49 °C, ayakların sıcaklığı 25.06±6.95 °C, sağlıklı arka sol ayaklar için; ortamın ortalama sıcaklığı 14.31±4.43 °C, ayağın sıcaklığı 25.25±6.75 °C olarak ölçülmüştür.

Tablo 7. Hasta ayaklar için regresyon analizi.**Table 7.** Regression analysis for abnormal feet.

Regresyon Analizi				
Hastalıklı ayaklar	Değişkenler	Parametre Tahmini	Standart Hata	Pr > t
Ön sağ ayak	Kesişim	27.16	2.36	<.0001
	Sıcaklık	0.34	0.19	0.1052
Ön sol ayak	Kesişim	27.40	2.74	<.0001
	Sıcaklık	0.32	0.23	0.1950
Arka sağ ayak	Kesişim	28.12	1.23	<.0001
	Sıcaklık	0.27	0.10	0.0160
Arka sol ayak	Kesişim	28.69	1.57	<.0001
	Sıcaklık	0.18	0.14	0.2190

Tablo 7’de hasta ayaklar için reg procedure ile regresyon analizi yapıldı. Hasta grup üzerinde ortam sıcaklığının

herhangi bir önemli açıklama miktarının olup olmadığı değerlendirilmiştir. Buna göre yukarıda yapılan analiz sonuçları için: Ortam sıcaklığındaki bir birim artış hasta hayvanların ön sağ ayağındaki sıcaklığı 0.34, ön sol ayağındaki sıcaklığı 0.32, arka sağ ayağındaki sıcaklığı 0.27 ve arka sol ayağındaki sıcaklığı 0.18 birim (°C) artırmaktadır. Ancak bu değişim istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Bu durum çalışmamızda termal kamera ile ölçümü yapılan hastalıklı ayakların ortam sıcaklığından istatistik olarak anlamlı bir şekilde etkilenmediğini, bunun nedeninin ayaklarda meydana gelen lezyonların şiddetinin ve hastalığın klinik seyrine bağlı olarak meydana gelen yansıl reaksiyona bağlı olduğu değerlendirilmiştir.

Tablo 8. Sağlıklı ön ayaklar için regresyon analizi.**Table 8.** Regression analysis for healthy forelimbs.

Regresyon Analizi				
Sağlıklı Ayaklar	Değişkenler	Parametre Tahmini	Standart Hata	Pr > t
Ön sağ ayak	Kesişim	6.17	1.20	<.0001
	Sıcaklık	1.18	0.08	<.0001
Ön sol ayak	Kesişim	5.08	1.21	<.0001
	Sıcaklık	1.25	0.08	<.0001
Arka sağ ayak	Kesişim	9.65	1.27	<.0001
	Sıcaklık	1.08	0.08	<.0001
Arka sol ayak	Kesişim	10.47	1.27	<.0001
	Sıcaklık	1.03	0.08	<.0001

Tablo 8’de sağlıklı ayaklar için regresyon analizi yapıldı. Sağlıklı olan ayakların sıcaklıkları üzerine ortam sıcaklığının etkisi regresyon analizi ile incelendi. Bu inceleme sonunda ortam sıcaklığındaki bir birim (°C) artışın ön sağ ayağındaki sıcaklığı, 1.18±0.08 °C, ön sol ayağındaki sıcaklığı 1.25±0.08 °C, arka sağ ayağındaki sıcaklığı 1.08±0.08 °C ve arka sol ayaklardaki sıcaklığı 1.03 ±0.08 °C artırdığı görülmüş ve bu değişim miktarı istatistik olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.001). Çalışmanın yapıldığı sığırlarda, sağlıklı ayakların sıcaklıklarının buldukları ortamdan önemli oranda etkilendiği görülmüştür.

Tablo 9. Hasta ayakların sıcaklığı ile ortam sıcaklığı arasındaki korelasyon.**Table 9.** Correlation between the temperature of the sick feet and the ambient temperature.

Pearson Korelasyon Analizi, Prob > r under H0: Rho=0	
Hasta Ayaklar	Sıcaklık
Ön sağ ayak	0.46
n=13	p=0.10
Ön sol ayak	0.30
n=20	p=0.19
Arka sağ ayak	0.44
n=29	p=0.16
Arka sol ayak	0.24
n=26	p=0.21

Tablo 9’a göre hasta olan hayvanlar için ortam sıcaklığının; ön sağ ayak sıcaklığı ile korelasyonu %46.98, ön sol ayak sıcaklığı ile korelasyonu %30.24, arka sağ ayak ile korelasyonu %44.32 ve arka sol ayak ile korelasyonu %24.95 olarak hesaplanmıştır. Ancak bu korelasyon istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Yapmış olduğumuz regresyon analiziyle benzer bir sonuç elde edilmiştir. Bu durum yaptığımız çalışmada ortam sıcaklığının, hasta ayaklardaki sıcaklık artışını önemli derecede etkilemediğini göstermiştir.

Tablo 10. Aynı bireylerde hasta ve sağlıklı ayakların sıcaklıklarının değerlendirilmesi.

Table 10. Evaluation of the temperature of sick and healthy feet in the same individuals.

Değişkenler	n	Min	Mak	Ort	Stand. sapma
Ön Ayaklar	17	4.7	19.9	11.75	5.03
Arka Ayaklar	15	3.2	18.2	10.96	4.45

Tablo 10'da ön ayaklarından biri hasta ve diğeri sağlıklı olan hayvanların ve arka ayaklarından biri hasta ve diğeri sağlıklı olan hayvanların ayak sıcaklıkları karşılaştırıldı. Ön ayaklarından biri hasta ve diğeri sağlıklı olan 17 sığırın, hasta ve sağlıklı ayakları arasındaki sıcaklık farkı ortalama 11.75 ± 5.03 °C olarak bulunurken arka ayaklar için hasta ve sağlıklı ayaklar arasındaki sıcaklık farkı ortalama 10.96 ± 4.45 °C olarak bulundu. Hasta ayakta meydana gelen yangının şiddetine bağlı olarak sıcaklık farkının 19.9 °C'ye kadar çıkabildiği gözlemlendi.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Topallık olgularında tanı işlemine iyi bir şekilde başlayabilmek için, iki önemli kuralı dikkate almak gerekir. Hastanın eksiksiz anamnezinin alınması, sistematik bir şekilde muayenenin yapılması (Samsar ve ark. 1996).

Sığır ayakta dururken ve yürürken bacakların ve bedenini aldığı pozisyonlar yakından izlenmelidir. Ekstremitelerin yapısına dikkat edilmelidir. İnceleme, palpasyon, oskültasyon, radyolojik muayenelerle; şüpheli durumlarda eklemlerin tam bir ekstensiyon ve fleksiyon gibi pasif hareketlerini yaptırarak topallayan bacağı ve topallığın lokalizasyonunu saptayabiliriz (Samsar ve ark. 1996).

Muayene için ayak hafif bir çabayla kaldırılır ve tüm kısımları gözden geçirilir. Bu anda baş ve kuyruk evvelce bildirilen gerek ve yöntemlere uyularak yardımcıları tutturulur. Bu işlemler yeterli değilse o zaman bir travayda veya hayvan yatırılarak muayene edilir. Hayvan uygun yöntemlerden birisiyle yatırıldıktan sonra temizlenen tırnak üzerinde bulunabilen çatlak, kırık ve yangısal bölgeler gözden geçirilir (Samsar ve ark. 1996).

Topallayan bacağın tespiti sonrasında ayağın kaldırılıp muayene edilmesi gerekir. Bunun için öncelikle hayvanın hareketsizliğinin sağlanması, klinisyenin ve hastanın güvenliği açısından önemlidir. Bu amaçla hastanın bir tırnak travayında muayenesi en ideal olanıdır. Şayet hayvan fiziksel tutma-bağlama yöntemi ile muayeneye izin vermeyecek olur ise o zaman hafif bir sedasyon yapılması gerekir (Çeçen 2014).

Ayrıca ineklerin aktivitelerini ölçen, inek aktivite tasmaları ve adım ölçerler de topallığın saptanmasında kullanılabilir (Çeçen 2014).

Ayak hastalıklarının tanısı konulurken genel olarak hayvan sahibinden alınan anamnez bilgisi, hayvanların travaya alınması, hayvanların yürütülerek ağırlı ayağın tespit edilmesi, ayağın palpasyonla muayenesi gibi yöntemler kullanılmaktadır. Çalışmamızda termal kamera ile yapılan muayenelerle ağrı, topallık, yürüyüş ve duruş bozuklukları gibi belirtiler ortaya çıkmadan önce hasta ayağın tanısı konulmuştur. Termal kameranın ayak hastalıklarının tanısında kullanılması, muayene edilecek hayvanların tespit edilmesi sırasında yaşanabilecek yaralanmaları ve hayvanın strese bağlı olarak gösterebileceği reaksiyonları önleyeceği düşünüldü.

Stokes ve ark. (2012) 41'i kontrol grubu olmak üzere 82 baş sığırda bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada sağım

sırasında sığırların ayakları termal kamerayla plantar yönden taranmış, ayakların temizlenmesine veya kaldırılıp düzeltilmesine gerek kalmadan DD'li ayakların lezyonlarının teşhis edilebileceğini ortaya koymuşlardır. Aynı çalışmada hastalıklı ayakların sıcaklığının 27 °C'nin üzerinde olduğunu, lezyonlu ayakların tespitinde 27 °C'lik sıcaklığın limit değer olduğunu ileri sürmüştür. Yapmış olduğumuz çalışmada ayak sıcaklıkları termal kamerayla ayakların dorsalinden ölçülmüş, ayakların temizlenmesi, kaldırılması kesilip düzeltilmesi için herhangi bir işlem uygulanmamıştır. Stokes ve ark. (2012) ile benzer bulgular ve sonuçlar elde edilerek, lezyonlu ayaklar ile sağlıklı ayaklar arasında önemli sıcaklık farklılıklarının olduğu görülmüştür. Termal kamera ile bütün ayakları sağlıklı 155 hayvanın ayaklarının sıcaklıklarının ölçüldüğü ortamların ortalama sıcaklığın 14.55 ± 4.32 °C'dir. Ön sağ ayakların ortalama sıcaklığı 23.77 ± 7.29 °C, sağlıklı ön sol ayakların ortalama sıcaklığı 23.76 ± 7.31 °C, sağlıklı arka ayakların ortalama sıcaklığı 25.65 ± 6.70 °C, sağlıklı sol arka ayakların ortalama sıcaklığı 25.69 ± 6.68 °C olarak ölçülmüştür. Ayrıca sağlıklı ayaklar için yapılan regresyon analizi sonucu, ortam sıcaklığında meydana gelecek 1 °C'lik değişikliğin, ön sağ ayaklarda 1.18 ± 0.08 °C, ön sol ayaklarda 1.25 ± 0.08 °C, arka sağ ayaklarda 1.08 ± 0.08 °C ve arka sol ayaklarda 1.03 ± 0.08 °C'lik bir değişikliğe yol açtığı görülmüş ve bu değişim miktarı istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$). Ulaştığımız bu sonuçlar, ortam sıcaklığının sağlıklı ayakların sıcaklığını önemli derecede etkilediğini bu nedenle lezyonlu olduğu tespit edilen ayaklarda sıcaklığın ortam sıcaklığına ve lezyonun şiddetine bağlı olarak 27 °C'nin altında olabileceğini ya da ortam sıcaklığının 23 °C olarak ölçüldüğü ortamda sağlıklı ayakların sıcaklığının 35 °C'ye kadar yükselebileceği belirlenmiş, hasta ve sağlıklı ayaklar arasında sıcaklık bakımından bir referans değer oluşturulacaksa mutlaka ortam sıcaklığının da göz önünde bulundurulması gerektiği düşünülmüştür.

Alsaod ve ark. (2014), 8 çiftlikte 149 sığır üzerinde yaptıkları çalışmada, coroner band ile coroner bandın proksimalinde yer alan ayak derisi sıcaklığının arasındaki farkı ölçerek, digital dermatitis tanısı konulabileceğini ortaya koymuşlardır. DD'li ayaklarda ayak derisinin, coroner band'dan daha sıcak olduğunu, bunun esas olarak kutanöz yüzeyin yakınında bulunan Spiroketler!den ileri geldiğini ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda da benzer sonuçlara ulaşıldı. Ayakların dorsalinden, interdigital aralıkta, deri ile coroner bandın birleşim yerinden en sıcak alanların ölçümleri yapıldı. Aynı hayvanların hasta ve sağlıklı ayakları arasındaki karşılaştırmada ön ayaklar için sıcaklık farkı ortalama 11.75 ± 5.03 °C olarak bulunurken arka ayaklar için sıcaklık farkı ortalama 10.96 ± 4.45 °C olarak bulundu. Yangının şiddetine bağlı olarak sağlıklı ve hasta ayaklar arasındaki sıcaklık farkının 19.9 °C'ye kadar çıkabildiği gözlemlendi. Ayrıca her iki ön ayakta, her iki arka ayakta ya da dört ayakta hastalık oluşması durumunda termal görüntülerin desenindeki düzensizlik, kırmızı, beyaz alanların yaygınlığı göz önünde bulundurularak tanının konulabileceği gözlemlendi.

Rainwater-Lovett ve ark. (2009) 53'ü sağlıklı olmak üzere 92 sığırla çalışma yapmışlardır. Çalışmada Şap hastalığının tanısında ve hastalığının seyrinin takibinde, IRT'nin kullanılabilirliği gösterilmiştir. Hasta hayvanlarda ağız ve ayaklarda veziküller görülmeden önce, termal kamerayla muayene edilen sığırlarda baş, vücut ve ayaklarda sıcaklığın arttığını ortaya koymuşlardır. Şap hastalıklı hayvanlarda ayak sıcaklıklarının 40.1 °C'ye kadar çıktığını gözlemlenmişlerdir.

Dunbar ve ark. (2009), deneysel olarak enfekte olmuş katır geyiklerinde (*Odocoileus hemionus*) Şap enfeksiyonu ile ilgili ısı değışikliklerini tespit etmek için IRT kullanımını değerlendirmişlerdir. Postokulyasyondan 24 saat sonra ve maruz kalmadan sonraki 48-96 saat içinde ağızda, ayağında veya her ikisinde erken veziküler lezyonlar gözlemlendi. İç sıcaklık sensörlerinde, hastalığa maruz kalan hayvanların vücut sıcaklığı, herhangi bir lezyon görülmeden bir gün önce başlayarak enfeksiyon öncesi vücut sıcaklığından (38.8 °C, p<0.01) önemli ölçüde yükseldiği gözlemlendi. Ayak termogramları için, iki gün öncesinden (27.3±1.9 °C) gelen en yüksek MMAX değerine, ilk ayak lezyonundan sonraki iki gün içinde ise (33.0±2 °C) günlük maksimum (MMAX) sıcaklığa ulaştığı gözlemlenmiştir. Bu gözlemlenen değışiklikler, IRT'nin bir Şap salgını sırasında şüpheli hayvanları Şap enfeksiyonu yönünden taramak yapmak için hızlı, uzak ve noninvaziv bir yöntem olabileceğini göstermektedir. Rainwater-Lovett ve ark. (2009) ve Dunbar ve ark. (2009), tarafından yapılan çalışmalar şap hastalığının tanısında da ayaklarda ve ağızda veziküller meydana gelmeden ayaklarda sıcaklık artışının meydana geldiğini göstermiştir.

BVD ve Şap hastalığıyla ilgili yapılan çalışmalar, baş, vücut ve ayaklardan yapılan termografik ölçümlerde, bu hastalıklarla ilgili klinik bulgular meydana gelmeden önce hayvanların baş, vücut ve ayaklarında sıcaklıkların arttığını göstermiştir. Çalışmamız sırasında elde ettiğimiz bulgularda ayaklarda yapılan ölçümlerde topallık ve ayak hastalıklarına ait klinik bulgular görülmeden önce termografik ölçüm yapılan ayaklarda sıcaklık artışı olduğu, yine çalışmamız sırasında bir olguda şap hastalığı geçiren bir sığırdan 1.5 ay sonra yapılan sıcaklık ölçümünde turnakta meydana gelen çatlağın varlığı ve hala iyileşmediği görüldü.

Church ve ark. (2014) çalışmalarında, erken hastalık tanı sistemleri ve hayvan refahı araştırma çalışmalarında, çevresel faktörlerin, IRT ile elde edilen sığır göz sıcaklıkları üzerine potansiyel etkileri değerlendirildi. Kamera mesafesi, rüzgar hızı, kamera ayarları (mesafe, emissivite ve nem) ve güneşin etkisi değerlendirildi. Yaklaşık 7 km/s rüzgar varlığında ortalama IRT göz sıcaklığı 0.43 ± 0.13 °C azaldı; daha yüksek rüzgar hızlarında (~12 km/s) sıcaklık 0.78 ± 0.33 °C azaldı. Doğrudan güneş ışığının IRT göz sıcaklığını 0.56 ± 0.36 °C arttırdığı bulundu. Çevresel faktörlerin IRT sıcaklık ölçümlerini önemli ölçüde etkilediği ve dolayısıyla tekrarlanabilir ve doğru okumaları sağlamak için bu faktörlerin kontrol edilmesi gerektiği saptanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışma, rüzgar, hava akımı ve güneşin meydana getirebileceği etkiler düşünülerek yürütüldü. Çalışma ortam sıcaklığı sabit tutulmaya çalışılmadı ancak ölçümler yapılırken rüzgar ve güneşin etki yaratmayacağı alanların seçilmesine özen gösterildi.

Karakuş (2016) akkaraman kuzularında elektronik küpelerin, metal ve plastik uçlu kulak küpelerine göre daha fazla yangısal reaksiyona neden olduğunu, plastik uçlu kulak küpelerinin daha az soruna yol açtığı için uygulamada metal uçlu geleneksel kulak küpelerine tercih edilebileceğini söylemiştir. Kızılötesi termografinin, kulak küpesi uygulamasının neden olduğu yangısal reaksiyonlar ve enfeksiyonun erken teşhisinde yararlı bir araç olarak kullanılabileceğini ifade etmiştir.

Schwartzkopf-Genswein ve ark. (1997), Spire ve ark. (1999), Karakuş (2016), tarafından IRT'nin hastalıkların erken tanısı ve değerlendirilmesinin yanında, hayvan refahının değerlendirilmesinde de kullanılabileceğini, hayvanlara yapılan çeşitli uygulamaların hayvanlarda

meydana getirebileceği yangısal reaksiyonların neler olabileceğini ortaya koymuştur. Termal kamera ile işletmelerde yaptığımız ölçümler, hayvanların ayak sağlığı ile ilgili veriler yanında, aslında ölçümlerin yapıldığı işletmenin durumu hakkında da bilgi vermiştir. İşletmelerde zeminin hayvan refahına uygun olmamasının, uygulanan hatalı rasyonların, ayak ve turnak bakımının yetersizliğinin ayak hastalıklarına neden olduğu görülmüş, bu tespitler aynı zamanda hayvanların refahı hakkında da bize bilgi sunmuştur.

Bu çalışmada sığırların en önemli cerrahi hastalıklarından olan ayak hastalıklarının tanısında, ayak sağlığının izlenmesi ve değerlendirilmesinde, termal kameranın kullanımını araştırılmıştır. Genel olarak termal kamera ile yapılan çalışmalarda, sabit sıcaklığın sağlandığı, hava akımının olmadığı, görüntülemelerde artefakt oluşumunu engelleyecek mekanik temizliğin yapıldığı alanlar tercih edilmiştir. Bu çalışmada ise sabit sıcaklık ortamının aksine farklı işletmelerde farklı sıcaklık ortamında, hayvanları bir odaya almadan, aynı zamanda strese sokmadan kendi ortamlarında ölçümler yapılmıştır. Yapılan ölçümlerden elde edilen görüntülerde, literatür çalışmalarına benzer görüntüler ve sonuçlar elde edilmiş, sağlıklı ve hastalıklı ayaklar arasında belirgin bir görüntü ve sıcaklık farkının olduğu tespit edilmiştir. Yine daha önce yapılan çalışmalara paralel bir biçimde bazı hayvanlarda topallık, iştahsızlık, süt veriminde azalma ya da duruş ve yürüyüş bozukluğu gibi belirtiler görülmeden hastalıklı ayaklarda yangıya bağlı sıcaklık artışları tespit edilmiş ve termal kamerayla erken tanının konulabileceği görülmüştür.

IRT ile yapılan ölçümlerde, ölçümlerin yapıldığı ortamın sıcaklığının, sıcaklık ölçümü yapılan ayak sıcaklığını doğrudan etkilediği görülmüştür. Farklı işletmelerde, farklı sıcaklık ortamlarında sıcaklık ölçümleri yapılan vücut bölgelerinin sıcaklığının, ortamın sıcaklığına bağlı olarak arttığı ya da azaldığı, bu nedenle hastalıklı ve sağlıklı ayakların ayırt edilmesinde belirli bir sıcaklık değerinin referans alınmayacağı düşünülmektedir. Yani sıcaklığın 2 °C olduğu bir ortamla, sıcaklığın 20 °C olduğu bir ortamda, sıcaklığı ölçülen sağlıklı ayakların sıcaklığı farklı olacağı değerlendirilmiştir.

Çalışmada öncelikle sağlıklı hayvanların ortam ve ayak sıcaklık ortalamaları incelenmiş ve sonrasında ön-arka-sağ-sol olmak üzere gruplandırılarak ortam sıcaklıklarına göre ayak sıcaklıkları ve aralarındaki anlamlılıklar ortaya konulmuştur.

Çalışmamız neticesinde elde ettiğimiz bulgular, hastalıklı ve sağlıklı ayakların karşılaştırılmasında, referans sıcaklık değerlerinin oluşturulabileceğini, ancak belirlenecek bu sıcaklık değerlerinin kesinlikle ortam sıcaklığından bağımsız olarak oluşturulamayacağını göstermiştir. Çalışmamızda elde etmiş olduğumuz sıcaklık değerleri ancak ölçümlerin yapılması olduğu ortam sıcaklığı için referans değerler olabilir ve bu sıcaklıkların üzerindeki sıcaklıklara sahip ayakların yangılı olabileceği öne sürülebilir.

Termal kamera ile hastalıklı ve sağlıklı ayakların ayırt edilmesinde sıcaklık değerleriyle birlikte, ölçüm yapılan bölgeye özgü, renk dağılımı ve termogramların da bilinmesi ve göz önünde bulundurulması gerekir. Normal renk dağılımında meydana gelen değışikliklerde; kırmızı, beyaz alanların artmasında yangı, hastalık, yara gibi olgular düşünülürken, normal görünümünün dışında, sarı, mavi ve yeşil alanların artması durumunda, ölçüm yapılan alanın ıslak olabileceği, hava akımına maruz kalmış olabileceği, kirli olabileceği ya da kan dolaşımının

durmasına yol açabilecek herhangi bir hastalığın ve lezyonun varlığı düşünülmelidir.

Elde edilen bu sonuçlar gelişen ve ucuzlayan termal kamera teknolojisinin öncelikle çiftlik hekimliğinde kullanımının oldukça yararlı olacağı, sağım sırasında ya da yemleme sırasında sığırlarda yapılacak rutin ölçümlerle ayaklarda hastalıklar ilerlemeden önlemler alınabilir, sürünün ayak sağlığı durumunun nasıl olduğu ortaya konulabilir. Böylece termal kameraların hayvan ve insan sağlığının korunmasında önemli bir koruyucu hekimlik aygıtı olabilecek, antibiyotik ya da diğer ilaçların kullanımının azaltılacaktır. Termal kamerayla erken tanının konulması sayesinde, hayvan refahının artırılması sağlanacaktır.

Erken tanı sayesinde hayvanlarda antibiyotik ve diğer ilaçların kullanımını azaltılarak, insanların tüketimine sunulan hayvansal ürünlerde kalıntı oluşumu azalacaktır. Büyük sürülerin bulunduğu işletmelerde ayak hastalıklarının bulguları görülmeden tespit edilmeleri oldukça zordur. Termal kamerayla bu hastalıkların semptomlarının ortaya çıkmadan tespit edilmesi, oluşacak verim kaybını önleyecektir.

Sağlıklı ayakların sıcaklık ölçümleri kullanılarak bir referans değerine ulaşmak mümkündür ancak ortam sıcaklığının da hesaba katılarak, ayak ve ortam sıcaklığı arasındaki korelasyonun hesaplanması gerekmektedir. Ayak hastalıklarında termal kamera ile yapılacak olan muayeneler ile klinik semptomlar ortaya tam olarak çıkmadan ayak hastalıklarının erken tanısının mümkün olabileceği düşünülmektedir. Termal kamera teknolojisinin gelişmesi ve ucuzlaması ile sadece hayvan hastaneleri veya gelişmiş çiftlikler değil, klinik veteriner hekimlik uygulamaları ile ayak hastalıklarının tanısında kullanımının veteriner klinik pratiğe katkı sağlayabileceği sonucuna varılmıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

TEŞEKKÜR VE BİLGİLENDİRME

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Proje Araştırmaları Başkanlığı tarafından 2011-SBE-D026 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

Bu çalışma sorumlu yazarın doktora tezinden özetlenmiştir.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: LA, AD
Denetleme/Danışmanlık: LA
Veri Toplama ve/veya İşleme: AD, LA
Analiz ve/veya Yorum: AD, LA
Makalenin Yazımı: AD, LA
Eleştirel İnceleme: AD, LA

KAYNAKLAR

- Alsaad M, Syring C, Dietrich J, Doherr MG, Gujan T (2014).** A field trial of infrared thermography as a non-invasive diagnostic tool for early detection of digital dermatitis in dairy cows. *Vet J*, 199 (2), 281-285.
- Antepioğlu H, Samsar E, Akın F, Güzel N (1992).** Sığır Ayak Hastalıkları 2. Baskı. AÜ Basımevi, Ankara.
- Church JS, Cook NJ, Schaefer AL (2009).** Recent applications of infrared thermography for animal welfare and veterinary research: everything from chicks to elephants. In: *Proceedings Inframation*, 10, pp. 215-224.
- Çalışan M, Türkoğlu İ (2011).** Termal kameralar ve uygulamaları. Elektrik-elektronik ve bilgisayar sempozyumu, Elazığ, Türkiye.
- Çeçen G (2014).** Sığırlarda Topallık ve Ayak Hastalıkları Tanı, Sağaltım Teknikleri ve Olgu Atlası. 1. Baskı. Sentez Yayıncılık, Bursa.
- Dolecheck K, Bewley J (2018).** Animal board invited review: Dairy cow lameness expenditures, losses and total cost. *Animal*, 12 (7), 1462-1474.
- Dunbar MR, Johnson SR, Ryan JC, Mccollum M. (2009).** Use of infrared thermography to detect thermographic changes in Mule Deer (*Odocoileus hemionus*) experimentally infected with foot-and mouth disease. *Zoo Wildl Med*, 40 (2), 296-301.
- Duru M, Şahin A (2004).** Türkiye'de sağlıklı ve güvenli hayvansal üretimin gerekliliği. *Hayvansal Üretim*, 45 (1), 36-41.
- Eddy AL, Van Hoogmoed LM, Snyder JR (2001).** The role of thermography in the management of equine. *Vet J*, 162 (3), 172-181.
- Erşahin O (2002).** Ekolojik tarım ne demektir? Erişim Tarihi: 01.11.2017. Erişim Adresi: http://www.alternatifenerji.com/info_articles01_09.htm.
- Kamiloğlu A (2014).** Çiftlik Hayvanlarında Ayak Hastalıkları 1. Baskı. Medipres, Malatya.
- Kafah H, Tanatmış AA (2003).** Uçak bakımında termografi yönteminin kullanılması. Bakım Teknolojileri Kongresi ve Sergisi, Denizli, Türkiye.
- Karakuş M (2016).** Kuzularda Kulak Küpesi Uygulamasının Refah Açısından Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, Türkiye.
- Knizkova I, Kunc P, Gürdil GAK, Pınar Y, Selvi KÇ (2007).** Applications of infrared thermography in animal production. *ÖMÜ Zir Fak Derg*, 22 (3), 329-336.
- Rainwater-Lovett K, Pacheco JM, Packer C, Rodriguez LL (2009).** Detection of foot-and-mouth disease virus infected cattle using infrared thermography. *Vet J*, 180 (3), 317-324.
- Samsar E, Akın F, Antepioğlu H (1996).** Klinik Tanı Yöntemleri ve Genel Cerrahi. 6. Baskı. Tamer Matbaacılık, Ankara.
- Schwartzkopf-Genswein KS, Stookey JM (1997).** The use of infrared thermography to assess inflammation associated with hot-iron and freeze branding in cattle. *Can J Anim Sci*, 77 (4), 577-583.
- Spire MF, Blasi DA, Drouillard JS, Sargeant JM (1999).** Implant quality assurance: detection of abscessed implants and their effect on feedlot performance of beef heifers. In: *Cattlemen's Day Conference Kansas State University, Manhattan, USA*.
- Stokes JE, Leach KA, Main DCJ, Whay HR (2012).** An investigation into the use of infrared thermography (irt) as a rapid diagnostic tool for foot lesions in dairy cattle. *Vet J*, 193 (3), 674-678.
- Yurdakul İ, Özdemir S (2012).** Sığır ayak hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı. *Atatürk Üniv Vet Bil Derg*, 7 (2), 147-153.



Changes in Hematology, Some Clinical Biochemical Parameters and Mineral Levels in Neonatal Calves with Sepsis due to Diarrhea

Enes AKYÜZ¹, *^{id} Mert SEZER¹^{id} Mushap KURU²^{id} Amir NASERİ³^{id}

¹ Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Kars, 36100, Turkey

² Kafkas University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Kars, 36100, Turkey

³ Selçuk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Konya, 42100, Turkey

Received: 31.01.2022

Accepted: 06.03.2022

ABSTRACT

In this study, it was aimed to evaluate hematology, some clinical and biochemical parameters, as well as mineral levels in calves with neonatal sepsis caused by diarrhea. In this study, 30 calves that were 0-10 days old, who did not receive any treatment and who met the criteria for diarrhea and sepsis within 24 hours at the latest, constitute the sepsis group, and 20 healthy calves in the same age group constitute the control group. Venous blood samples were taken from calves with sepsis before treatment and once from healthy calves. The mean heart rate per minute and respiratory rate were determined higher in the group with sepsis than in the control group. In addition, neutrophil counts were found to be higher in the sepsis group compared to the control group. Erythrocyte count and mean erythrocyte volume were found to be low. While the levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, urea and creatinine were statistically significantly higher in the group with sepsis compared to the control group, magnesium concentrations were lower ($p < 0.05$). As a result, it was determined that biochemical parameters increased and mineral levels decreased in relation to liver and kidney dysfunction in neonatal calves with diarrhea-induced sepsis. The reason for these data to appear may be the result of dehydration from diarrhea. For this reason, it is important in the treatment to ensure normal tissue perfusion, especially by adding minerals with low levels and performing appropriate fluid therapy. We think that the chance of survival of calves with sepsis will increase by ensuring tissue perfusion and restoring enzyme levels to normal.

Keywords: Calf, Minerals, Neonatal sepsis.

ÖZ

İshal Kaynaklı Sepsisli Neonatal Buzağlarda Hematoloji, Bazı Klinik Biyokimyasal Parametreler ve Mineral Düzeylerinin Değişimi

Sunulan çalışmada ishal kaynaklı neonatal sepsisli buzağlarda hematolojik, klinik biyokimyasal parametreler ve bazı mineral düzeylerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın hayvan materyalini 0-10 günlük yaşta, herhangi bir tedavi uygulanmamış ve sepsis kriterlerini sağlayan 30 ishallerli buzağı sepsisli grubu ve aynı yaş grubunda bulunan 20 sağlıklı buzağı kontrol grubunu oluşturdu. Sepsisli buzağlardan tedavi öncesi ve sağlıklı buzağlardan bir kez venöz kan örnekleri alındı. Sepsisli buzağların dakikadaki kalp frekansı ve solunum sayıları kontrol grubuna göre yüksek olduğu belirlendi. Hematolojik analizlerde sepsisli grupta nötrofil sayısı kontrole göre yüksek bulunurken, eritrosit sayısı ve ortalama eritrosit hacmi düşük bulundu. Biyokimyasal analizlerde ise sepsisli grupta alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, üre ve kreatinin düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli oranda yüksek, magnezyum konsantrasyonları düşüktü ($p < 0.05$). Sonuç olarak ishal kaynaklı sepsisli neonatal buzağlarda karaciğer ve böbrek disfonksiyonu ile ilişkili olarak biyokimyasal parametrelerin yükseldiği, mineral düzeylerinin düştüğü belirlendi. Elde edilen verilerin ortaya çıkmasında ishal kaynaklı dehidrasyonun etkili olabileceği öngörülmüştür. Bu nedenle tedavide özellikle seviyesi düşen minerallerin eklenmesi ve uygun sıvı tedavisi yapılarak normal doku perfüzyonunun sağlanması önemlidir. Doku perfüzyonu sağlanarak, enzim seviyelerinin normale döndürülmesi ile sepsisli buzağların yaşama şansının artacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Mineraller, Yenidoğan sepsisi.



INTRODUCTION

Serious fluid and electrolyte losses occur in calves with diarrhea, resulting in death (Fisher and De La Fuente 1972, Aydoğdu et al. 2018). Neonatal sepsis is a serious cause of mortality, especially in calves with insufficient colostrum intake. This situation poses a serious problem for calves in their early life stages (Akyüz et al. 2017; Basoglu et al. 2018; Akyüz et al. 2019; Akyüz and Gökçe 2021).

The etiology of sepsis is complex. Mortality usually results from diarrhea, respiratory distress, and multiple organ failure (Chatre et al. 2017). Neonatal calf diseases can be caused by a single factor, or they can occur in a mixed form as a result of the combination of many factors (Erkılıç et al. 2019; Akyüz 2020). Viral, bacterial, and protozoal factors are the most important agents in neonatal calves (Ok et al. 2009; Lorenz et al. 2011; Akyüz and Gökçe 2021; Akyüz and Kükürt 2021). Although these agents are orally transmitted, contamination with non-hygienic can also occur in the omphalogen or arogenous way (Trefz et al. 2013). It activates the live defense mechanisms against the inflammatory situation created by the infectious agents. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) against infectious agents as a defense response and sepsis as a complication may develop. Some symptoms develop after occurring sepsis. Some of these findings can be counted as decreased interest in the environment, anorexia, and diarrhea. Apart from these, the severity of symptoms may vary due to individual differences. Some of these findings can be listed as weakening of the sucking reflex, depression, lethargy, decrease in body temperature, increase in respiratory rate, changes in capillary refill time and dehydration (House et al. 2015; Bonelli et al. 2018; Akyüz 2020).

There are certain criteria when determining sepsis and SIRS. The presence of at least two of these criteria, including hypothermia or hyperthermia, tachycardia, tachypnea, increased arterial partial carbon dioxide pressure, leukopenia or leukocytosis, band neutrophil formation up to 10%, is considered as SIRS. If the presence of infection also accompanies SIRS, it is considered as sepsis (Fecteau et al. 2009; Sen and Constable 2013; Yıldız et al. 2018; Naseri et al. 2019; Beydilli and Gökçe 2019; Akyüz and Gökçe 2021). Bacteremia, viremia and endotoxemia can lead to organ failure and death. Bacterial infection (*Escherichia coli*), viral infections (rotavirus and coronavirus), and parasitic infection (cryptosporidiosis) can cause sepsis and increase the mortality rate in newborn calves (Chatre et al. 2017; Basoglu et al. 2018). Although different treatment options have been developed, the mortality rate in sepsis remains high (Novelli et al. 2010).

In this study, it was aimed to evaluate hematology, some clinical and biochemical parameters, as well as mineral levels in calves with neonatal sepsis caused by diarrhea. In addition, study data may give an idea in terms of determining the major factors causing diarrhea-related sepsis in neonatal calves.

MATERIAL AND METHODS

Ethical Declaration

This study was carried out after the approval (KAU-HADYEK 2022-014) of Kafkas University Animal Experiments Local Ethics Committee.

Animals

Septic calves

Thirty calves, 0-10 days old were enrolled in the study. All the calves included in the study met the criteria for diarrhea and sepsis within 24 hours. Calves with congenital abnormalities, asphyxia, received any treatment were excluded from the study.

Healthy calves

Twenty healthy calves 0-10 days old enrolled in the study. Calves with congenital abnormalities, asphyxia, diarrhea, and infection suspicion were excluded from the study.

Procedures

Rapid test kit (BoviD-5 Ag Test Kit®, Bionote Inc., Korea) was used to detect the etiological agent in the feces of calves suspected of neonatal sepsis. SIRS and sepsis criteria were evaluated after initial examination for establishing depression, diarrhea, decreased or no sucking reflex, dehydration, constant urge to lie down. According to this evaluation, neonatal calf SIRS criteria are stated below (Fecteau et al. 2009; Sen and Constable 2013; Yıldız et al. 2018; Akyüz and Gökçe 2021); body temperature >39.5 °C or <37 °C, Heart rate (HR) <100 or >160 per minute, respiratory rate (RR) >45 per minute, leukocyte count $>12 \times 10^3/\mu\text{L}$ or $<4 \times 10^3/\mu\text{L}$. The presence of at least 2 of the specified criteria with presence or suspicion of infection was considered as sepsis and included in the study. Blood samples were taken from the calves with sepsis before treatment and in healthy calves once by using Vena jugularis holder and compatible sterile needle tip (Vacuette®, Greiner Bio-One GmbH, Austria). Blood samples were taken into vacuum gel serum tubes (BD Vaktainer®, BD, UK) for serum biochemistry analyses, and vacuum EDTA blood tubes for hematological measurements (BD Vaktainer®, BD, UK). All hematological analyzes were performed within 15 minutes by using a complete blood count device (VG- MS4e®, Melet Schloeing, France). Blood samples taken into vacuum gel serum tubes were kept at room temperature for about 1 hour and then centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes (Hettich Rotina 380R®, Hettich, Germany) to extract serum samples. Calcium (mg/dL), magnesium (mg/dL), phosphorus (mg/dL), urea (mg/dL), creatine (mg/dL), lactate dehydrogenase (IU/L), alanine aminotransferase (IU/L), aspartate aminotransferase (IU/L), and alkaline phosphatase (IU/L) concentrations were measured by fully automatic biochemistry device (Mindray BS120®, Mindray Medical Technology, Istanbul, Turkey).

Statistical Analysis

SPSS 25 (IBM Corp® 2017) statistical program was used to evaluate the data. The Shapiro-Wilk test was used to determine the normality of variables and the homogeneity of variances. All variables had not normal distribution. To compare the data of calves with sepsis and healthy calves Mann-Whitney U test was preferred and data were presented as median (min, max) and mean \pm standard error of mean (SEM). Statistical significance was considered as $p < 0.05$.

RESULTS

In the present study, according to the rapid test kits results which were applied on stool samples of calves with sepsis; *E. coli* in 12 calves, coronavirus in 7 calves, rotavirus in 3 calves, cryptosporidium in 1 calf, *E. coli* + coronavirus in 2 calves, *E. coli* + rotavirus in 1 calf, coronavirus + rotavirus in 3 calves and *E. coli* + coronavirus + rotavirus mixed in 1

calf were detected. It was determined that all of the calves in the sepsis group had varying degrees of dehydration, mental depression, no sucking reflex, and the calves could not stand up and had a weak interest in the environment. In addition, it was recorded that 12 of the calves in the sepsis group did not receive enough or no colostrum intake.

The clinical findings, hematology, some clinical biochemical parameters, and mineral levels of the calves with sepsis and control group were presented in Table 1. HR and RR were found to be significantly higher in the sepsis group than in the control group ($p=0.001$, $p=0.002$, respectively; Table 1). In addition, although there was no statistical significance, the rectal temperature values of the sepsis group were higher than the control group (Table 1).

Among the hematological parameters, the granulocyte count was found to be significantly higher in the sepsis group compared to the control group ($p=0.005$), while the erythrocyte count and mean erythrocyte volume were found to be significantly lower ($p=0.044$, $p=0.001$, respectively; Table 1).

Among biochemical parameters; alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, urea and creatine concentrations were found to be statistically higher in the sepsis group compared to the control group ($p=0.001$, Table 1). Although calcium, magnesium and phosphorus concentrations were lower in the calves with sepsis compared to the healthy calves, a statistically significant difference was found only for magnesium concentration ($p=0.005$). No statistically significant difference was found in other parameters in our study.

Table 1. Clinical and hematological findings, some clinical biochemical parameters and mineral levels of calves with sepsis and control group.

Parameters	Sepsis (n=30) Mean \pm SEM (Min-Max)	Control (n=20) Mean \pm SEM (Min-Max)	p value
Clinical Findings			
Rectal temperature ($^{\circ}$ C)	39.40 \pm 0.38 (35.20-41.20)	38.55 \pm 0.18 (38.20-39.10)	0.100
Heart beats/min	132.00 \pm 8.26 (72.00-220.00)	80.00 \pm 4.70 (66.00-120.00)	<0.001
Breaths/min	51.00 \pm 4.05 (24.00-82.00)	30.00 \pm 1.77 (24.00-40.00)	0.002
Hematology			
Total leukocytes count ($\times 10^3/\mu$ L)	11.39 \pm 1.16 (5.61-21.16)	8.03 \pm 1.65 (7.04-14.22)	0.067
Lymphocytes count ($\times 10^3/\mu$ L)	1.97 \pm 0.25 (1.22-5.70)	3.34 \pm 0.51 (1.24-4.58)	0.091
Monocytes count ($\times 10^3/\mu$ L)	0.29 \pm 0.07 (0.20-1.12)	0.32 \pm 0.12 (0.13-1.10)	0.948
Granulocytes count ($\times 10^3/\mu$ L)	9.21 \pm 0.87 (3.66-16.11)	4.78 \pm 1.46 (1.90-7.40)	0.005
Red blood cell count ($\times 10^6/\mu$ L)	6.06 \pm 0.37 (4.17-8.86)	7.84 \pm 0.27 (6.46-9.51)	0.044
Mean red cell volume (fL)	41.80 \pm 0.38 (37.70-43.80)	43.90 \pm 0.91 (35.90-47.70)	<0.001
Hematocrit (%)	28.90 \pm 2.18 (16.20-39.20)	37.15 \pm 2.04 (23.10-47.10)	0.074
Hemoglobin (g/dL)	7.50 \pm 0.60 (5.30-12.40)	9.80 \pm 0.42 (6.80-11.70)	0.076
Platelet count ($\times 10^3/\mu$ L)	340 \pm 32.46 (68-525)	401 \pm 23.73 (203-677)	0.109
Clinical Biochemical Parameters			
Alanine aminotransferase (IU/L)	39.75 \pm 5.71 (29.30-139)	15.25 \pm 1.11 (8.10-19.60)	<0.001
Aspartate aminotransferase (IU/L)	102.10 \pm 11.71 (64.10-285.00)	40.65 \pm 5.04 (14.80-66.30)	<0.001
Alkaline phosphatase (IU/L)	182.20 \pm 13.86 (83.60-380.20)	190.10 \pm 29.40 (80.40-333.20)	0.846
Creatine (mg/dL)	3.50 \pm 0.19 (2.20-5.50)	1.45 \pm 0.08 (1.30-2.00)	<0.001
Urea (mg/dL)	63.30 \pm 7.51 (39.02-139.02)	27.39 \pm 3.91 (18.12-51.36)	<0.001
Lactate dehydrogenase (IU/L)	758.15 \pm 35.06 (428.30-1026.60)	822.30 \pm 82.12 (560.80-1419.20)	0.214
Minerals			
Calcium (mg/dL)	10.12 \pm 0.23 (9.07-11.45)	10.38 \pm 0.36 (8.98-12.47)	0.846
Phosphorus (mg/dL)	5.60 \pm 0.50 (4.53-7.41)	7.01 \pm 0.45 (4.06-8.49)	0.198
Magnesium (mg/dL)	2.76 \pm 0.13 (2.51-4.32)	3.60 \pm 0.18 (2.89-5.29)	0.005

SEM: Standard error of mean. n: Number of calves in the groups. Min: Minimum value within the group. Max: Maximum value within the group. $p<0.05$: Statistically significant.

DISCUSSION AND CONCLUSION

Infective agents such as *E. coli*, rotavirus, coronavirus, and cryptosporidium that leading to sepsis isolating more frequently in neonatal calves with diarrhea. They can cause sepsis alone or in a mixed form. It has been reported that in the development of sepsis, in addition to these factors, failure to comply with hygiene rules, insufficient cleaning of equipment contaminated with the infective agent, insufficient colostrum or poor quality may lead to sepsis (Tyler et al. 1999; Ok et al. 2009; Lorenz et al. 2011; Çitil and Gökçe 2013; Akyüz and Gökçe 2021). In the present study, the determination of *E. coli*, rotavirus, coronavirus, and cryptosporidium agents in the results obtained from the fecal samples of the calves in the sepsis group, and the information that 40% (12/30) did not receive adequate amounts of colostrum were found to be compatible with other studies.

According to the previous studies, clinical findings such as depression, decreased interest in the environment, increase in respiratory and heart rates, increase, or decrease in body temperature, decrease in appetite were reported to occur in sepsis (Aldridge et al. 1993; Fecteau et al. 1997; Çitil and Gökçe 2013; Akyüz et al. 2016; Akyüz 2020; Naseri and Ider 2021; Akyüz and Gökçe 2021). Similarly, findings such as the absence of sucking reflex, depression, decreased interest in the environment, and inability to stand were found in calves with sepsis in our study. In addition, respiratory and heart rates were found to be significantly higher, and the rectal temperature was found to be lower in the sepsis group compared to the control group. These findings were consistent with the results of other studies. Host defense and immune mechanisms and trying to compensate for the decreased amount of fluid in the body as a result of sepsis and dehydration (Naseri 2017; Akyüz and Gökçe 2021) can explain this situation.

While leukocytosis or leukopenia may occur in calves with sepsis, sometimes there may be no change in the total leukocyte count (Naseri 2017; Akyüz and Gökçe 2021). In the present study, the total leukocyte count of the sepsis group was found to be higher than the control group, although there was no statistical difference. The reason for the increase in total leukocytes was thought to be due to the increase in the number of granulocytes because of widespread inflammation.

In neonatal calves, especially in the case of diarrhea, there may be significant changes in hematological and serum biochemistry (Uzlu et al. 2010). Severe fluid loss occurs in sepsis due to loss of appetite and decreased water intake, and diarrhea. Renal dysfunction occurs due to fluid loss and sepsis. As a result of impaired kidney function, serum urea and creatinine values increase (Gökçe and Woldehivet 1999). Fluid loss in calves with diarrhea is the most important reason for increased serum urea and creatinine levels (Dratwa-Chalupnik et al. 2012). In the present study consistent with other studies, urea, and creatinine concentrations of calves in the sepsis group were found to be considerably higher than the control, because of the presence of dehydration, decreased fluid intake due to lack of appetite, and impaired renal function due to the sepsis.

Serum alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase concentrations are elevated in neonatal calves with diarrhea (Baser and Civelek 2013; Naseri 2017; Bozukluhan et al. 2017). We thought that the reason for the higher serum alanine aminotransferase and

aspartate aminotransferase concentrations in calves with sepsis in our study compared to healthy calves may be due to the deterioration of liver functions due to sepsis. In addition, multi-organ dysfunction caused by sepsis may have caused this increase (Akyüz and Gökçe 2021).

One of the first clinical findings in diseased animals is anorexia. Loss of appetite can also occur in serious diseases such as sepsis. Calcium, magnesium, and phosphorus decreases are generally directly related to anorexia (Martin and Lumsden 1987). Magnesium deficiency usually occurs with diarrhea, gastrointestinal disorders, and reduced dietary intake (Elin 1994). In our study, we believe that the low level of these minerals in the sepsis group compared to the control group was related to severe anorexia.

In conclusion, severe liver and kidney dysfunctions caused by SIRS and dehydration in calves with sepsis adversely affect the prognosis. Our findings especially increase in urea, creatinine, alanine, and aspartate aminotransferase concentrations support it. In our acknowledgement it is important to regain impaired kidney and liver functions with appropriate fluid therapy. In addition, we believe that the chance of recovery will be increased by adding calcium, magnesium, and phosphorus to the treatment in the sepsis group.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Idea / Concept: EA
Supervision / Consultancy: EA, MK
Data Collection and / or Processing: EA, MS
Analysis and / or Interpretation: EA, AN
Writing the Article: EA, MS, MK, AN
Critical Review: EA, MS, MK, AN




REFERENCES

- Akyüz E, Coşkun A, Şen, İ (2016). Deneysel endotoksemi oluşturulan buzağılarda sıvı tedavisinin hemodinamik parametreler üzerine etkisi. *Eurasian J Vet Sci*, 32 (4), 246-254.
- Akyüz E, Naseri A, Erkiş EE et al. (2017). Neonatal buzağı ishalleri ve sepsis. *KAUFBED*, 10 (2), 181-191.
- Akyüz E, Uzlu E, Sezer M, Kuru M, Gökçe G (2019). Changes in calcium, phosphorus and magnesium concentrations in neonatal sepsis suspected calves. 4th International Congress on Advances of Veterinary Sciences and Techniques (ICAVST), Kiev, Ukraine.
- Akyüz E (2020). Kars Bölgesindeki Neonatal Buzağılarda Sıklıkla Karşılaşılan İshal Kaynaklı Sepsis Nedenleri. Ayvazoğlu Demir P (Ed). Tüm Yönleri İle Kuzey Doğu Anadolu Bölgesinde Hayvancılık (s. 401-423). İksad Yayınevi, Ankara, Türkiye.
- Akyüz E, Gökçe G (2021). Neopterin, procalcitonin, clinical biochemistry, and hematology in calves with neonatal sepsis. *Trop Anim Health Prod*, 53 (3), 354.
- Akyüz E, Kükürt A (2021). Evaluation of oxidative stress index and some biochemical parameters in neonatal calves with diarrhea. *Acta Sci Vet Sci*, 3 (9), 58-63.
- Aydogdu U, Yıldız R, Guzelbektes H et al. (2018). Effect of combinations of intravenous small-volume hypertonic sodium chloride, acetate Ringer, sodium bicarbonate, and lactate Ringer solutions along with oral fluid on the treatment of calf diarrhea. *Pol J Vet Sci*, 21 (2), 273-280.
- Aldridge BM, Garry FB, Adams R (1993). Neonatal septicemia in calves: 25 cases (1985-1990). *J Am Vet Med Assoc*, 203 (9), 1324-1329.
- Başer DF, Civelek T (2013). Akut ishalleri neonatal buzağılarda venöz asit baz durumu ve renal fonksiyon arası korelasyon. *Kocatepe Vet J*, 6 (1), 25-31.
- Basoglu A, Sen I, Meoni G, Tenori L, Naseri A (2018). NMR-Based plasma metabolomics at set intervals in newborn dairy calves with severe sepsis. *Mediat Inflamm*, 2018:8016510, 1-12.

- Beydilli Y, Gökçe H (2019).** Sepsisli Neonatal buzağlarda bazı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin araştırılması. *Mehmet Akif Ersoy Univ Sağlık Bilim Enst Derg*, 7 (2), 55-67.
- Bonelli F, Meucci, V, Divers TJ et al. (2018).** Plasma procalcitonin concentration in healthy calves and those with septic systemic inflammatory response syndrome. *Vet J*, 234, 61-65.
- Bozukluhan K, Merhan O, Gokce HI et al. (2017).** Alterations in lipid profile in neonatal calves affected by diarrhoea. *Vet World*, 10 (7), 786-789.
- Chatre L, Verdonk F, Rocheteau P et al. (2017).** A novel paradigm links mitochondrial dysfunction with muscle stem cell impairment in sepsis. *Biochim Biophys Acta-Mol Basis Dis*, 1863 (10), 2546-2553.
- Çitil M, Gökçe E (2013).** Neonatal sepsisemi. *Türkiye Klinik Vet Bil Derg*, 4 (1), 62-70.
- Dratwa-Chalupnik A, Herosimczyk A, Lepczyński A, Skrzypczak WF (2012).** Calves with diarrhoea and a water-electrolyte balance. *Med Weter*, 68 (1), 5-8.
- Erkılıç EE, Merhan O, Kırmızıgül AH et al. (2019).** Salivary and serum levels of serum amyloid a, haptoglobin, ceruloplasmin and albumin in neonatal calves with diarrhoea. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 25 (4), 583-586.
- Elin RJ (1994).** Magnesium: the fifth but forgotten electrolyte. *Am J Clin Pathol*. 102 (5), 616-622.
- Fecteau G, Paré J, Van Metre DC et al. (1997).** Use of a clinical sepsis score for predicting bacteremia in neonatal dairy calves on a calf rearing farm. *Can Vet J*, 38 (2), 101-104.
- Fecteau G, Smith PB, George LW (2009).** Septicemia and meningitis in newborn calf. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 25 (1), 195-208.
- Fisher EW, De la Fuente GH (1972).** Water and electrolyte studies in newborn calves with particular reference to effects of diarrhoea. *Res Vet Sci*, 13 (4), 315-322.
- Gökçe HI, Woldehivet Z (1999).** The effects of ehrlichia (cytoecetes) phagocytophilia on the clinical chemistry of sheep and goats. *J Vet Med*, 46 (2), 93-103.
- House JK, Smith GW, McGuirk SM, Gunn AA, Izzo M (2015).** Manifestations and Management of Disease in Neonatal Ruminants. Smith BP. (Ed.). *Large Animal Internal Medicine 5th* (s. 302-338). Elsevier Saunders, St. Louis, USA.
- Lorenz I, Fagan J, More SJ (2011).** Calf health from birth to weaning. II. management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Irish Vet J*, 64 (9), 1-6.
- Martin SW, Lumsden JH (1987).** The relationship of hematology and serum biochemistry parameters to treatment for respiratory disease and weight gain in ontario feedlot calves. *Can J Vet Res*, 51 (4), 499-505.
- Naseri A (2017).** Doğal gelişen şiddetli sepsisli ve septik şoklu buzağlarda sol ventriküler sistolik fonksiyonların ve bu fonksiyonların uygulanan tedaviye bağlı değişimlerin ekokardiyografi ile değerlendirilmesi; longitudinal çalışma. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Naseri A, Sen I, Turgut K, Guzelbektes H, Constable PD (2019).** Echocardiographic assessment of left ventricular systolic function in neonatal calves with naturally occurring sepsis or septic shock due to diarrhoea. *Res Vet Sci*, 126, 103-112.
- Naseri A, Ider M (2021).** Comparison of blood gases, hematological and monitorization parameters and determine prognostic importance of selected variables in hypotensive and non-hypotensive calves with sepsis. *Eurasian J Vet Sci*, 37 (1), 1-8.
- Novelli G, Ferretti G, Poli L et al. (2010).** Clinical results of treatment of postsurgical endotoxin-mediated sepsis with polymyxin-b direct hemoperfusion. *Transplant Proc*, 42 (4), 1021-1024.
- Ok M, Güler L, Turgut K et al. (2009).** The studies on the etiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. *Zoonoses Public Health*, 56 (2), 94-101.
- Sen I, Constable PD (2013).** General overview to treatment of strong ion (metabolic) acidosis in neonatal calves with diarrhoea. *Eurasian J Vet Sci*, 29 (3), 114-120.
- Trefz FM, Lorch A, Feist M, Sauter-Louis C, Lorenz I (2013).** The prevalence and clinical relevance of hyperkalaemia in calves with neonatal diarrhoea. *Vet J*, 195 (3), 350-356.
- Tyler JW, Hancock D, Thorne JG, Clive CG, Gay JM (1999).** Partitioning the mortality risk associated with inadequate passive transfer of colostral immunoglobulins in dairy calves. *J Vet Intern Med*, 13 (4), 335-357.
- Uzlu E, Karapehlivan M, Çitil M, Gökçe E, Erdoğan HM (2010).** İshal semptomu belirlenen buzağlarda serum sialik asit ile bazı biyokimyasal parametrelerin araştırılması. *YYÜ Vet Fak Derg*, 21 (2), 83-86.
- Yıldız R, Beslek M, Beydilli Y, Özçelik M, Biçici Ö (2018).** Evaluation of platelet activating factor in neonatal calves with sepsis. *Vet Hekim Der Derg*, 89 (2), 66-73.



Comparative Study between Ewe and Goats Milk Fatty Acid Profile and Some Healthy Index in the First 30 Days of Lactation

Mehmet Hanifi AYSÖNDÜ¹  Selçuk ÖZYÜREK^{2,*}  Doğan TÜRKİYILMAZ³ 

¹ Malatya Turgut Ozal University, Akcadag Vocational School, Department of Veterinary, 44100, Malatya, Turkey

² Erzincan Binali Yildirim University, Cayirli Vocational School, Department of Veterinary, 24100, Erzincan, Turkey

³ Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, 25100, Erzurum, Turkey

Received: 04.02.2022

Accepted: 03.03.2022

ABSTRACT

Fatty acid composition in milk has a vital importance in the early lactation period when lambs are milking. In this study, the change in milk fatty acid composition of Akkaraman ewe and Hair goats fed under the same conditions in the first 30 days of lactation was investigated. 10 Akkaraman ewe and 10 Hair goats were used in 2-5 parities. Ewe and goats were born in February. The animals were kept to the same feeding indoor, while experiment was going on. In addition to 1 kg of barley per animal, wheat straw was given ad libitum. Individual milk samples were taken from each animal on 0th, 1st, 3rd, 7th, 15th and 30th of lactation days. While C16:1, C18:3n3 were found more in goat milk ($p < 0.05$), C20:5n3 (EPA) was found mostly in ewe milk ($p < 0.01$). The mean CLAC9t11 was 0.378 ± 0.1 g/100 in ewe milk and 0.426 ± 0.1 g/100 in goat milk throughout the 30-day lactation. Contrary to the general literature information, the highest CLA ratio in milk was found in goat milk and most lipid health indexes were determined in favor of goats. Omega 6/3 ratio was determined as 7.90 ± 2.5 g/100 g in fatty acids in Akkaraman ewe milk and 10.35 ± 4.7 g/100 g in fatty acids in Hair goat milk ($p < 0.05$). It is an important issue which should be emphasized that the ratios of SFA, MUFA, PUFA, MUFA/SFA, PUFA/SFA and UFA/SFA only in goat milk change in the first 30 days of lactation.

Keywords: Conjugated linoleic acids, Fatty acid, Goat, Sheep.

öz

Laktasyonun İlk 30 Gününde Koyun ve Keçi Sütündeki Yağ Asidi Profili ile Bazı Sağlık İndekslerinin Karşılaştırılması

Kuzuların süt emdiği laktasyon başı dönemde sütteki yağ asidi kompozisyonunun hayati önemi vardır. Bu çalışmada, aynı koşullarda beslenen Akkaraman koyunu ve Kıl keçilerinin laktasyonun ilk 30 gününde süt yağ asidi kompozisyonundaki değişim araştırılmıştır. 2-5 laktasyon arasında 10 Akkaraman koyunu ve 10 Kıl keçisi kullanılmıştır. Doğumlar şubat ayında gerçekleşmiş olup, hayvanlar kapalı ortamda aynı beslenmeye alınmıştır. Çalışma süresince hayvan başına 1 kg arpayı ek olarak buğday samanı ad libitum olarak verilmiştir. Laktasyonun 0, 1, 3, 7, 15 ve 30. günlerinde her bir hayvandan ayrı ayrı süt örnekleri alınmıştır. Çalışmanın sonucunda C16:1, C18:3n3 keçi sütünde daha fazla bulunurken ($p < 0.05$), C20:5n3 (EPA) en fazla koyun sütünde ($p < 0.01$) bulunmuştur. Ortalama CLAC9t11, 30 günlük laktasyon boyunca koyun sütünde 0.378 ± 0.1 g/100 ve keçi sütünde 0.426 ± 0.1 g/100 olarak bulunmuştur. Aterojenik ve trombojenik indeks değerleri keçi sütü lehine bulunmuştur. Omega 6/3 oranı koyun ve keçi sütünde sırasıyla 7.90 ± 2.5 ve 10.35 ± 4.7 g/100 g olarak belirlenmiştir ($p < 0.05$). Laktasyonun ilk 30 gününde sadece keçi sütündeki SFA, MUFA, PUFA, MUFA/SFA, PUFA/SFA ve UFA/SFA oranlarının değişmesi keçilerin beslenme fizyolojisindeki farkı ortaya koyması açısından üzerinde durulması gereken önemli bir konudur.

Anahtar Kelimeler: Keçi, Konjuge linoleik asitler, Koyun, Yağ asidi.

INTRODUCTION

According to 2019 FAO data, there are 10 922 427 goats and 35 194 972 ewes in Turkey (FAO 2019). In the coastal areas of the country, small ruminant breeding is generally carried out in the direction of milk production, while breeding activities in the direction of meat production are

common in the interior. Approximately 200 different cheeses are produced from ewe and goat milk in Turkey. The goat breed used in the study is Hair goat, which constitutes approximately 99% of the country's goat population. In 180-220th days of lactation, there is a milk yield of 80-150 liters with 3-4% fat. Akkaraman ewe breed constitutes approximately 50% of the country's ewe stock.



In addition, lactation milk yield and lactation period are reported to be 96.4 kg and 198.8 days, respectively (Aşkan and Aygün 2020).

It is thought that saturated fatty acids and trans fatty acids, which are concentrated in milk fat, have negative effects on the health of consumers. However, numerous studies have shown that whole milk is more effective than skim milk in preventing cardiovascular disease in humans. The reason for this is attributed to the functionality of the fatty acids (FA) found in the fat of whole milk. Cholesterol is an oily carrier that is found in the cell structure and blood circulation of all mammals, including humans, and is necessary for vital activities. HDL (high-density lipoprotein), known as good cholesterol, ensures the transport of cholesterol from tissues and vessels to the liver, while LDL (low-density lipoprotein), known as bad cholesterol, is responsible for transporting cholesterol in the tissue to the areas where it is needed in the body. So, omega-3 fatty acids lower LDL in the blood and increase the level of HDL, which has an important role in preventing cardiovascular diseases; reduces hypertension, regulates hormonal secretions and stimulates nerve cell growth in children. Studies on animal models have shown that CLA has anticancer effects, prevents obesity, and has antioxidant properties (Rubino et al. 2006).

In recent years, studies on components with important health benefits (dietary FA) such as Omega-3, PUFA and CLA have been increasing. Recent studies have reported that milk composition and fatty acid composition vary according to species. Conjugated linoleic acid (CLA) refers to the generality of many conjugated isomers of linoleic acid, which is an essential and omega-6 fatty acid for the body, has 18 carbon atoms and two double bonds (Köknaçoğlu 2007). The emergence of the importance of conjugated linoleic acid in terms of health has led researchers to this subject and studies have been conducted examining the effects of diet, species and season on CLA (Talpur and Bhanger 2005; Tsiplakou et al. 2006; Talpur et al. 2009). However, there is no study comparing two different species and lactation period at the same time. The general aim of the study is to determine the milk fatty acid composition of different species in the period of lambs suckling, and in this way to reveal the difference between species in determining the growth performance of lambs before weaning in the future. The special aim of the study, the change in milk fatty acid composition of ewe and goats fed under the same conditions in the first 30 days of lactation was investigated.

MATERIAL AND METHODS

This study has been approved by the Local Ethics Committee of Inonu University (decision date 07.02.2022 and numbered 142751).

General Procedure of the Study

The present study was carried out in a typical mountainous highland of Turkey, the province of Erzincan, Kemaliye (sea level at 950, 39.26" north latitudes and 38.49" east longitudes). In this study, 10 Akkaraman ewe and 10 Hair goats were used in 2-5 parities. Ewe and goats were born in February. The animals were kept to the same feeding indoor, while experiment was going on. In addition to 1 kg of barley per animal, wheat straw was given ad libitum. Individual milk samples were taken from each animal 0th, 1st, 3rd, 7th, 15th and 30th of the lactation days. The milk samples were put in 50 ml plastic tubes and then kept at + 4 °C and brought to the milk analysis laboratory.

Fat was extracted from the collected milk samples, and then methylation was performed to determine the fatty acid composition in the GC-FID. Extraction and methylation processes of fat from milk samples were performed as reported by Cebi and Ozyurek (2021).

Fatty acids were analyzed by Perkin Elmer Clarus 500 Chromatography; FID (flame ionization detector) and Restek (Rtx-2330) capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.2 µm) were used. The operating conditions of the GC was as follows (Cebi and Ozyurek 2021).

A mixture of methyl esters of 37 fatty acids was used as standard in the identification of fatty acids (Food Industry FAME Mix-Restek). The standard of Cayman Chemical was used to determine the CLA. The fatty acid composition was expressed as percent amount (%) of fatty acid per total fatty acids (Mel'uchová et al. 2008). A total of 29 different fatty acids were identified in the analysis.

Statistical Analysis

The data were first transferred to Microsoft Excel 2010 and then SPSS 22.0 package program was used. Independent samples t-test was used to determine the effect of species on milk fatty acid composition, and ANOVA test was used to determine the effect of lactation days on milk fatty acid composition. Duncan statistics were computed for the post hoc analysis. $p \leq 0.05$ was assumed as the significant level.

RESULTS

The milk fatty acid composition of Hair goat and Akkaraman ewe breeds is presented in Table 1. In the study; C12:0, C14:0, C16:0, C18:0 and C18:1n9c are the most abundant fatty acids in milk for both species. Only three fatty acids (C16:1, C18:3n3 and C20:5n3 (EPA)) were statistically different between species. While C16:1, C18:3n3 were found more in Hair goat milk ($p < 0.05$), C20:5n3 (EPA) was found most in Akkaraman ewe milk ($p < 0.01$).

The mean CLAC9t11 was 0.378 ± 0.1 g/100 in Akkaraman ewe milk and 0.426 ± 0.1 g/100 in Hair goat milk throughout the 30-day lactation. CLAc10t12 was detected at the same ratio (0.178 ± 0.0 g/100 g) for both species. C16:1, C18:2n6t, C18:3n3, C22:2n6 and C22:6n3 (DHA) were affected by the day factor at statistically different levels in both species (Table 1). In addition, while 14 fatty acids in Hair goat milk were statistically different between days, 8 fatty acids in Akkaraman ewe milk changed statistically according to the days. CLAC9t11 was found to differ by days only in Hair goat milk ($p < 0.05$). The lowest CLAC9t11 rate in Hair goat milk was determined on the 3rd day, and the highest CLAC9t11 rate was determined on the 10th day.

SFA, MUFA, PUFA, MUFA/SFA, PUFA/SFA and UFA/SFA were statistically different between days ($p < 0.05$) only in Hair goat milk (Table 2). Omega 6/3 ratio was determined as 7.902 ± 2.5 g/100 g in fatty acids in Akkaraman ewe milk and 10.35 ± 4.7 g/100 g in fatty acids in Hair goat milk, and this difference is statistically significant. No differences were found between species for AI and TI. However, TI in Hair goat milk was different according to days ($p < 0.05$). 16:1/16 was found to be different both between species and days in Akkaraman ewe milk ($p < 0.05$). On the other hand, 18:1/18 was affected by the day factor only in Hair goat milk ($p < 0.001$).

Table 1: Amount of fatty acids (g/100 g) in milk fat of Akkaraman Ewe and Hair goat.

Fatty acids		General Mean	0. day Mean	1. day Mean	3. day Mean	7. day Mean	10. day Mean	15. day Mean	30. day Mean	p	
										Species	Day
C10:0	Ewe	3.079±1.0	3.633	3.438	4.199	2.987	1.891	2.397	2.977	ns	ns
	Goat	2.538±1.0	2.869 ^b	3.424 ^b	3.849 ^b	1.287 ^a	1.821 ^a	2.490 ^a	1.942 ^a		*
C12:0	Ewe	6.919±5.0	10.372	7.052	7.770	10.189	2.444	2.376	8.888	ns	ns
	Goat	6.844±4.6	6.806 ^b	11.106 ^b	11.902 ^b	3.367 ^a	2.418 ^a	6.507 ^{ab}	5.266 ^{ab}		*
C13:0	Ewe	4.469±1.3	3.742	4.976	5.182	4.977	3.706	3.834	5.068	ns	ns
	Goat	3.761±1.2	4.498	4.375	4.834	3.254	2.712	3.675	2.965		ns
C14:0	Ewe	11.40±1.8	9.104	10.465	11.265	12.878	13.213	11.694	11.136	ns	ns
	Goat	10.93±2.7	12.980 ^{ab}	9.648 ^a	9.946 ^a	15.323 ^b	9.247 ^a	10.329 ^a	9.177 ^a		*
C14:1	Ewe	0.255±0.0	0.227	0.266	0.272	0.249	0.344	0.257	0.137	ns	ns
	Goat	0.224±0.0	0.222	0.241	0.278	0.264	0.191	0.113	0.285		ns
C15:0	Ewe	0.840±0.2	0.658	1.089	0.868	1.037	0.690	0.691	0.856	ns	ns
	Goat	0.706±0.2	0.929	0.809	0.826	0.458	0.688	0.645	0.639		ns
C15:1n5	Ewe	0.261±0.0	0.190	0.258	0.314	0.266	0.261	0.244	0.315	ns	ns
	Goat	0.245±0.0	0.208	0.272	0.263	0.143	0.250	0.291	0.302		ns
C16:0	Ewe	28.72±3.1	25.861	28.700	27.988	30.425	31.279	29.409	26.709	ns	ns
	Goat	27.04±2.2	29.121 ^b	25.610 ^a	24.421 ^a	30.318 ^b	28.459 ^b	25.662 ^a	26.108 ^a		***
C16:1	Ewe	1.402±0.4	1.321 ^b	1.316 ^b	1.328 ^b	0.748 ^a	1.957 ^c	1.782 ^{bc}	1.350 ^b	*	**
	Goat	1.713±0.7	1.335 ^{ab}	1.224 ^{ab}	0.963 ^a	2.644 ^c	2.152 ^c	1.448 ^{bc}	2.294 ^c		**
C17:1	Ewe	0.667±0.2	0.493	0.528	0.478	0.478	0.888	1.006	0.867	ns	ns
	Goat	0.688±0.3	0.368 ^a	0.498 ^a	0.554 ^a	0.433 ^a	0.948 ^b	1.023 ^b	0.986 ^b		**
C18:1n9	Ewe	0.461±0.2	0.422	0.118	0.559	0.524	0.581	0.565	0.458	ns	ns
	Goat	0.552±0.3	0.551	0.491	0.183	0.682	0.777	0.594	0.612		ns
C18:0	Ewe	8.456±2.8	9.625	10.694	6.659	6.884	7.404	8.746	9.548	ns	ns
	Goat	9.308±2.7	7.917	10.531	12.245	6.060	8.882	10.255	8.557		ns
C18:1n9c	Ewe	24.79±5.1	26.010	23.010	25.014	20.095	26.854	28.361	23.887	ns	ns
	Goat	27.12±5.0	22.967 ^a	23.815 ^a	22.127 ^a	27.027 ^{ab}	32.950 ^{ab}	28.857 ^b	32.518 ^b		*
C18:2n6t	Ewe	0.484±0.2	0.294 ^a	0.284 ^a	0.382 ^a	0.477 ^{ab}	0.670 ^b	0.664 ^b	0.691 ^b	ns	*
	Goat	0.511±0.2	0.413 ^a	0.344 ^a	0.286 ^a	0.512 ^a	0.596 ^a	0.544 ^a	1.018 ^b		*
C18:2n6c	Ewe	2.022±0.2	1.909	2.064	2.110	1.821	2.055	2.252	1.905	ns	ns
	Goat	2.173±0.2	2.159	1.898	2.175	2.432	2.307	2.120	2.088		ns
CLA _{c10t12}	Ewe	0.178±0.0	0.155	0.202	0.209	0.192	0.162	0.150	0.181	ns	ns
	Goat	0.178±0.0	0.200	0.172	0.211	0.196	0.178	0.151	0.134		ns
C18:3n6	Ewe	0.494±0.1	0.643	0.513	0.491	0.321	0.504	0.557	0.402	ns	ns
	Goat	0.549±0.1	0.612	0.515	0.463	0.376	0.712	0.656	0.522		ns
CLA _{c9t11}	Ewe	0.378±0.1	0.369	0.325	0.324	0.314	0.485	0.495	0.315	ns	ns
	Goat	0.426±0.1	0.388 ^{ab}	0.321 ^a	0.231 ^a	0.487 ^c	0.587 ^c	0.485 ^c	0.500 ^c		*
C18:3n3	Ewe	0.044±0.0	0.033 ^{ab}	0.029 ^a	0.033 ^{ab}	0.036 ^{ab}	0.067 ^c	0.064 ^c	0.054 ^{ab}	*	***
	Goat	0.056±0.0	0.039 ^a	0.030 ^a	0.024 ^a	0.085 ^{bc}	0.077 ^{bc}	0.062 ^b	0.080 ^{bc}		***
C20:2n6	Ewe	0.038±0.0	0.028	0.042	0.048	0.049	0.029	0.030	0.048	ns	ns
	Goat	0.038±0.0	0.049	0.032	0.050	0.049	0.032	0.028	0.025		ns
C20:3n3	Ewe	0.025±0.0	0.029 ^a	0.059 ^b	0.017 ^a	0.013 ^a	0.017 ^a	0.022 ^a	0.016 ^a	ns	*
	Goat	0.029±0.0	0.043	0.015	0.015	0.020	0.020	0.075	0.022		ns
C20:4n6	Ewe	0.219±0.0	0.186	0.194	0.180	0.197	0.286	0.277	0.212	ns	ns
	Goat	0.223±0.0	0.243 ^{ab}	0.191 ^a	0.156 ^a	0.347 ^b	0.254 ^{ab}	0.142 ^a	0.244 ^{ab}		*
C23:0	Ewe	0.010±0.0	0.008	0.011	0.006	0.013	0.009	0.013	0.015	ns	ns
	Goat	0.010±0.0	0.008	0.007	0.014	0.018	0.013	0.004	0.005		ns
C22:2n6	Ewe	0.075±0.0	0.102 ^c	0.089 ^c	0.075 ^{ab}	0.055 ^{ab}	0.081 ^{ab}	0.073 ^c	0.046 ^a	ns	*
	Goat	0.070±0.0	0.112 ^c	0.094 ^{bc}	0.069 ^{ab}	0.057 ^{ab}	0.063 ^{ab}	0.055 ^{ab}	0.048 ^a		*
C24:0	Ewe	0.072±0.0	0.005 ^a	0.068 ^b	0.066 ^b	0.096 ^b	0.091 ^b	0.091 ^b	0.098 ^b	ns	*
	Goat	0.066±0.0	0.035	0.047	0.073	0.046	0.077	0.088	0.106		ns
C20:5n3 (EPA)	Ewe	0.174±0.1	0.143	0.121	0.147	0.098	0.372	0.204	0.115	**	ns
	Goat	0.086±0.0	0.052 ^a	0.126 ^b	0.084 ^{ab}	0.089 ^{ab}	0.121 ^b	0.050 ^a	0.064 ^a		**
C24:1n9	Ewe	0.013±0.0	0.003 ^a	0.005 ^a	0.055 ^b	0.003 ^a	0.016 ^a	0.006 ^a	0.008 ^a	ns	**
	Goat	0.066±0.1	0.423	0.069	0.025	0.017	0.021	0.005	0.007		ns
C22:5n3	Ewe	0.155±0.0	0.171	0.170	0.172	0.151	0.153	0.137	0.121	ns	ns
	Goat	0.170±0.0	0.297	0.164	0.117	0.195	0.212	0.136	0.088		ns
C22:6n3 (DHA)	Ewe	0.087±0.0	0.198 ^c	0.125 ^b	0.066 ^a	0.046 ^a	0.073 ^a	0.047 ^a	0.045 ^a	ns	***
	Goat	0.069±0.0	0.227 ^b	0.092 ^a	0.033 ^a	0.042 ^a	0.052 ^a	0.040 ^a	0.048 ^a		**

Means with different superscript in each column (a, b, c) differ significantly; ns; not significant; *, p<0.05, **, p<0.01, ***, p<0.001.

Table 2: Nutritional indexes of Akkaraman ewe and Hair goat milk samples (g/100 g).

Fatty acids		General Mean	0. day Mean	1. day Mean	3. day Mean	7. day Mean	10. day Mean	15. day Mean	30. day Mean	p	
										Species	Day
SFA	Ewe	63.97±5.7	63.010	66.493	64.003	69.486	60.727	59.250	65.296	ns	ns
	Goat	61.21±6.1	65.162 ^b	65.556 ^b	68.110 ^b	60.131 ^{ab}	54.319 ^a	59.655 ^{ab}	54.765 ^a		*
MUFA	Ewe	27.85±5.6	28.666	25.501	28.019	22.362	30.901	32.221	27.022	ns	ns
	Goat	30.61±5.9	26.072 ^a	26.610 ^a	24.394 ^a	31.209 ^{ab}	37.289 ^{ab}	32.329 ^b	37.005 ^b		*
PUFA	Ewe	4.379±0.6	4.260	4.218	4.253	3.769	4.953	4.974	4.152	ns	ns
	Goat	4.583±0.6	4.835 ^{ab}	3.994 ^a	3.914 ^a	4.887 ^{ab}	5.211 ^b	4.543 ^{ab}	4.882 ^{ab}		*
MUFA /SFA	Ewe	0.446±0.1	0.457	0.392	0.455	0.334	0.512	0.545	0.418	ns	ns *
	Goat	0.513±0.1	0.411 ^a	0.406 ^a	0.363 ^a	0.528 ^{ab}	0.687 ^{ab}	0.546 ^b	0.676 ^b		
PUFA /SFA	Ewe	0.069±0.0	0.068	0.063	0.069	0.056	0.082	0.084	0.064	ns	ns
	Goat	0.076±0.0	0.076 ^b	0.061 ^{ab}	0.058 ^a	0.082 ^b	0.096 ^c	0.076 ^b	0.089 ^c		*
UFA /SFA	Ewe	0.515±0.1	0.525	0.456	0.523	0.390	0.594	0.629	0.482	ns	ns
	Goat	0.590±0.1	0.487 ^a	0.467 ^a	0.421 ^a	0.610 ^{ab}	0.782 ^b	0.622 ^{ab}	0.765 ^b		*
Omega 3	Ewe	0.486±0.1	0.573	0.505	0.434	0.345	0.681	0.474	0.351	ns	ns
	Goat	0.412±0.1	0.659	0.428	0.273	0.430	0.482	0.362	0.302		ns
Omega 6	Ewe	3.514±0.4	3.318	3.388	3.496	3.111	3.786	4.004	3.486	ns	ns
	Goat	3.743±0.4	3.788	3.245	3.411	3.970	4.142	3.696	4.080		ns
Omega 6/3	Ewe	7.902±2.5	5.902	6.985	8.411	9.248	5.928	9.546	9.998	*	ns
	Goat	10.35±4.7	6.433	7.575	16.189	9.244	8.736	10.541	13.529		ns
AI	Ewe	2.655±0.8	2.229	2.735	2.644	3.790	2.441	2.118	2.620	ns	ns
	Goat	2.314±0.7	2.942	2.468	2.809	2.717	1.597	2.023	1.625		ns
TI	Ewe	3.176±0.8	2.775	3.522	3.049	4.130	2.929	2.716	3.087	ns	ns
	Goat	2.820±0.5	3.393 ^c	3.034 ^b	3.388 ^c	2.966 ^b	2.239 ^a	2.555 ^a	2.127 ^a		*
16:1/16	Ewe	0.049±0.0	0.051 ^b	0.048 ^{ab}	0.048 ^{ab}	0.025 ^a	0.063 ^b	0.061 ^b	0.051 ^b	*	*
	Goat	0.062±0.0	0.046	0.048	0.040	0.087	0.075	0.056	0.088		ns
18:1/18	Ewe	2.905±0.7	2.699	2.219	2.905	3.040	3.624	3.248	2.601	ns	ns
	Goat	3.132±0.9	2.864 ^{ab}	2.265 ^a	1.978 ^a	4.499 ^d	3.837 ^{bc}	2.814 ^{ab}	3.803 ^{bc}		***

Means with different superscript in each column (a, b, c) differ significantly; ns; not significant; *, p<0.05, **, p<0.01, ***, p<0.001 SFA (Saturated fatty acids) = C14:0 + C15:0 + C16:0 + C18:0 + C20:0 + C22:0 + C23:0 + C24:0, MUFA (monounsaturated fatty acids)= C14:1 + C15:1 + C16:1 + C17:1 + C18:1, PUFA (polyunsaturated fatty acids)=C18:2n6c + C18:2n6t + C18:3n6 + C18:3n3 + CLA + C20:2 + C20:3n6 + C20:4 + C20:5, UFA (unsaturated fatty acids) = PUFA+MUFA, AI (The atherogenic index): (12:0 + 4 × 14:0 + 16:0) / (MUFA + PUFA), TI (Thrombogenic index): (C14:0 + C16:0 + C18:0) / (0.5 × MUFA + 0.5 × PUFA_{n-6} + 3 × PUFA_{n-3} + PUFA_{n-3} / PUFA_{n-6}) (Ulbricht and Southgate 1991).

DISCUSSION AND CONCLUSION

In both Akkaraman ewe and Hair goat milk, the fatty acid profile in milk affects the quality, texture, aroma and flavor of milk and dairy products (Yurchenko et al. 2018). Depending on the column structure used in the GC-FID, 29 different fatty acids from C10:0 to C22:6n3 (DHA) were detected.

Considering that Capric acid (C10:0), which is among the medium-chain fatty acids, plays a major role in the unique odor of goat milk, the continuous decrease in the C10:0 ratio in goat milk shows that the aroma change in goat milk is higher than ewe milk (Park and Haenlein 2010).

α -linolenic acid (C18:3n3) is a fatty acid that must be taken into the body with food. Moreover, in recent scientific studies, it has been stated that consumption of α -linolenic acid reduces the risk of cardiovascular heart disease and prostate cancer in men (Erkkilä et al. 2008). Contrary to what was reported by Talpur et al. (2009) the ratio of C18:3n3 (α -linoleic acid) found in both Hair goat and Akkaraman ewe milk is statistically different between species. In addition, the data obtained for both Akkaraman ewe and Hair goats in C18:3n3 were found to be lower than those reported by Alonso et al. (1999), Sevi et al. (2002), Bernard et al. (2005) and Atti et al. (2006). It is thought that this difference between the studies may be due to the breed and feeding factor.

Although PUFAs are present in small concentrations in milk fat, they exert several health-promoting effects, including anticarcinogenic, antimutagenic, hypocholesterolemic, and anti-atherosclerotic properties (Jahries et al. 1999; Jensen 2002). The difference in PUFA ratio in ewe and goat milk in our study is consistent with the Talpur et al. (2009) reports but not with the Tsiplakou et al. (2006). The content of PUFAs may have been affected by changes in the composition of the supplement meals. It is also known that the increase in the ratio of unsaturated fatty acids in the diet is also effective on PUFA (Ozyurek et al. 2020).

In our study, even if the C16:0 ratio in goat's milk was irregular, it was affected by the lactation period (p<0.001), and in this respect, it is similar to Yakan et al. (2019) and Alizadehasl and Unal (2021). Again, the change in SFA, MUFA and PUFA in goat's milk was the same as determined by Goetsch et al. (2011). The effect of lactation on SFA, MUFA and PUFA in ewe's milk was not the same as determined by Tsiplakou et al. (2006).

The total ratio between Omega 6/3, which is one of the indexes used to evaluate the nutritional value of oils, should not exceed 4.0 (Ulbricht and Southgate 1991). It was found above this limit in both species in this study. It is thought that feeding the animals with feeds with high dry matter content and not feeding them with green fresh plants during the study period reveals this situation. It was also found above the value that Park and Haenlein (2010), Yurchenko et al. (2018) and Yakan et al. (2019), found for goat's milk.

Milk containing high levels of unsaturated fatty acids has low AI and TI. In other words, it is accepted that the lower the AI and TI of milk and dairy products, the lower the risk of cardiovascular diseases. Consumption of milk and products with low AI has a lowering effect on total cholesterol and LDL cholesterol (Poppitt et al. 2002). However, both AI and TI values found in the current study were noted to be above the desired value of 1 during the lactation period (Ulbricht and Southgate 1991). The ratio of fatty acids in milk is mostly under the influence of feeding. The barley and wheat straw used in feeding can cause this situation.

Chilliard et al. (2002) and Kondyli et al. (2012) found the CLAC9t11 ratio in ewe milk to be higher in contrast to our study. Some differences in CLA content of milk fat seen between individual animals consuming more or less similar rations are thought to be due to differences in the ability of the ewe/goat to produce CLA from trans-11 C18:1. In this study, the fact that the ratio of C16:1/C16:0 was statistically different in both animal species confirms our opinion. It can also be explained by the fact that C18:0 is the most preferred substrate for Δ -9 desaturase in the mammary gland (Chilliard et al. 2000).

In the study, the changes in fatty acid profile and some lipid health indices in Akkaraman ewe and Hair goat milk during the first 30 days of lactation were investigated. Contrary to the general literature information, the highest CLA ratio in milk was found in Hair goat milk and most lipid health indexes were determined in favor of Hair goats. It is an important issue that should be emphasized that the ratios of SFA, MUFA, PUFA, MUFA/SFA, PUFA/SFA and UFA/SFA only in Hair goat milk change in the first 30 days of lactation.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors report no conflicts of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Idea / Concept: MHA, SÖ

Supervision / Consultancy: DT

Data Collection and / or Processing: MHA, SÖ

Analysis and / or Interpretation: MHA, SÖ, DT

Writing the Article: MHA, SÖ

Critical Review: MHA, SÖ, DT

REFERENCES

- Alizadehasl M, Ünal N (2021). The investigation of milk yield, composition, quality, and fatty acids in Angora goats based on rangeland feeding conditions. *Large Anim Rev*, 27 (2), 83-90.
- Alonso L, Fontecha J, Lozada L, Fraga MJ, Juarez M (1999). Fatty acid composition of caprine milk: Major branched-chain and trans fatty acids. *J Dairy Sci*, 82 (5), 878-884.
- Aşkan R, Aygün T (2020). Determination of Milk Yield Traits and Some Components of Milk in Akkaraman Crossbred Ewes Maintained at Rural Conditions. *J Anim Prod*, 61 (1), 23-31.
- Atti A, Rouissi H, Othmane MH (2006). Milk production, milk fatty acid composition and conjugated linoleic acid (CLA) content in dairy ewes raised on feedlot or grazing pasture. *Livest Sci*, 104, 121-127.

- Bernard L, Rouel J, Leroux C et al. (2005). Mammary lipid metabolism and milk fatty acids secretion in Alpine goats fed vegetable lipids. *J Dairy Sci*, 88 (4), 1478-1489.
- Cebi K, Ozyurek S (2021). Influence of Grazing Period on Milk Fatty Acids Composition in Akkaraman Ewe and Hair Goat. *J Anim Plant Sci*, 31 (3), 690-697.
- Chilliard Y, Ferlay A, Mansbridge RM, Doreau M (2000). Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann Zootech*, 49 (3), 181-205.
- Chilliard Y, Ferlay A, Looor J, Rouel J, Martin B (2002). Trans and conjugated fatty acids in milk from cows and goats consuming pasture or receiving vegetable oils or seeds. *Ital Anim Sci* 1 (4), 243-254.
- Erkkilä AV, De Mello DF, Riserus U, Laaksonen DE (2008). Dietary fatty acids and cardiovascular disease: an epidemiological approach. *Prog Lipid Res*, 47, 172-187.
- FAO (2019). Crops and livestock products. 01 Mart 2022. Erişim Adresi: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Goetsch AL, Zeng SS, Gipson TA (2011). Factors affecting goat milk production and quality. *Small Rumin Res*, 101 (1-3), 55-63.
- Jahries GJ, Fritsche J, Mockel P et al. (1999). The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9 trans -11 C18:2 in milk of different species: Cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutr Res*, 19 (10), 1541-1549.
- Jensen RG (2002). The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *J Dairy Sci*, 85 (2), 295-350.
- Köknaeroğlu H (2007). The effect of nutrition on conjugated linoleic acid content of cattle meat *J Anim Prod*, 48 (1), 1-7.
- Kondyli E, Svarnas C, Samelis J, Katsiari MC (2012). Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds. *Small Rumin Res*, 103 (2-3), 194-199.
- Meluchová B, Blaško J, Kubinec R et al. (2008). Seasonal variations in fatty acid composition of pasture forage plants and CLA content in ewe milk fat. *Small Rumin Res*, 78 (1-3), 56-65.
- Ozyurek S, Cebi K, Balci C, Genc N, Turkyilmaz D (2020). Fatty acid profile and health lipid indices in the milk of ewes feeding with soybean oil. *Erzincan Univ J Sci Techno*, 13 (2), 948-955.
- Park YW, Haenlein GFW (2010). Milk Production. Goat Science and Production. I. Edition. Wiley-Blackwell, New York.
- Poppitt SD, Keogh GF, Prentice AM et al. (2002). Long-term effects of ad libitum low-fat, high-carbohydrate diets on body weight and serum lipids in overweight subjects with metabolic syndrome. *Am J Clin Nutr*, 75 (1), 11-20.
- Rubino F, Forgione A, Cummings DE et al. (2006). The mechanism of diabetes control after gastrointestinal bypass surgery reveals a role of the proximal small intestine in the pathophysiology of type 2 diabetes. *Ann Surg*, 244 (5), 741.
- Sevi A, Rotunno T, Di Caterina R, Muscio A (2002). Fatty acid composition of ewe milk as affected by solar radiation and high ambient temperature. *J Dairy Res*, 69 (2), 181-194.
- Talpur FN, Bhangar MI (2005). Conjugated linoleic acid: A mixture of bio-active fatty acids in milk fat of ruminants. *Pak J Anal Environ Chem*, 6 (1), 6.
- Talpur FN, Bhangar MI, Memon NN (2009). Milk fatty acid composition of indigenous goat and ewe breeds from Sindh, Pakistan. *J Food Compos Anal*, 22 (1), 59-64.
- Tsiplakou E, Mountzouris KC, Zervas G (2006). Concentration of conjugated linoleic acid in grazing sheep and goat milk fat. *Livest Sci*, 103 (1-2), 74-84.
- Ulbricht TLV, Southgate DAT (1991). Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338 (8773), 985-992.
- Yakan A, Özkan H, Eraslan Şakar A et al. (2019). Milk yield and quality traits in different lactation stages of Damascus goats: Concentrate and pasture based feeding systems. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 66 (2), 117-129.
- Yurchenko S, Sats A, Tatar V et al. (2018). Fatty acid profile of milk from Saanen and Swedish Landrace goats. *Food Chemist*, 254, 326-332.



The Hidden Potential of Herbal Remedies and Nutraceuticals in Canine and Feline Behavioural Disorders

Umud Burak AĞAN^{1*}  Saba HOSSEINPOUR RAOUF¹  Büşra UZUN¹  Yücel MERAL¹ 

¹ Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, 55000, Samsun, Turkey

Received: 22.06.2021

Accepted: 10.10.2021

ABSTRACT

Veterinary practitioners may encounter a wide variety of behavioral problems such as aggression, anxiety, compulsive behaviours, inappropriate elimination and cognitive dysfunction in daily practice. With the advance of scientific researches regarding usage of herbs and nutraceuticals in order to treat these behavioural problems, veterinarians and animal owners look for reliable sources to gain knowledge about that therapeutics. As elucidated by many published researches, neurotransmitters such as GABA, serotonin, dopamine and norepinephrine act in pathology of many psychiatric disorders and most of the modern drugs show their mechanism of action by regulating these neurochemicals. There is increasing evidence that herbal extracts and nutraceuticals act in a similar way with the conventional therapeutics however, lots of conventional medicines have remarkable side effect unlike herbal and nutraceutical therapeutics. Despite the increasing number of studies, the mechanism of action of these therapeutics has not been fully elucidated. This review aims to introduce recent scientific knowledge on herbal and nutraceutical remedies, that may be alternative treatment models in dog and cat behavioural problems.

Keywords: Behavioral disorders, Dietary supplements, Herbal, Serotonin.

öz

Kedi ve Köpeklerin Davranış Bozukluklarında Bitkisel Remedilerin ve Nutrasötiklerin Gizli Potansiyeli

Veteriner Hekimler günlük pratikte agresyon, anksiyete, kompulsif davranışlar, uygunsuz eliminasyon ve bilişsel işlev bozukluğu gibi çok çeşitli davranışsal problemlerle karşılaşmaktadırlar. Bu davranış problemlerini tedavi etmek için bitkisel remedilerin ve nutrasötiklerin kullanımına ilişkin bilimsel çalışmaların ilerlemesiyle, Veteriner Hekimler ve hayvan sahipleri bu terapötikler hakkında bilgi edinmek için güvenilir kaynaklar aramaktadır. GABA, serotonin, dopamin ve norepinefrin gibi nörotransmitterler birçok psikiyatrik bozukluğun patolojisinde rol oynar ve modern ilaçların çoğu bu nörokimyasalları düzenleyerek etki mekanizmalarını gösterirler. Bitkisel ekstraktlar ve nutrasötiklerin geleneksel terapötiklerle benzer şekilde etki ettiğine dair artan kanıtlar vardır, ancak birçok geleneksel ilacın bitkisel ve nutrasötik terapötiklerin aksine dikkate değer yan etkileri vardır. Artan sayıda çalışmaya rağmen, bu terapötiklerin etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu derleme, köpeklerin ve kedilerin davranış problemlerinde alternatif tedavi modeli olabilecek bitkisel ve nutrasötik remedilerle ilgili güncel bilimsel verileri tanıtmayı amaçlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Bitkisel, Davranış bozuklukları, Diyet ürünleri, Serotonin.

INTRODUCTION

Demand for etiology-based treatment options is increasing parallel to the growing behavioural problems in dogs. A recent study by Didehban et al. demonstrated that dog behavioural problems are one of the leading reasons for consulting a veterinarian and 86% of the dogs included in the study had at least one behavioural problem (Didehban et al. 2020). Veterinary practitioners may encounter a wide variety of behavioural problems such as aggression, anxiety, compulsive behaviours, inappropriate elimination

and cognitive dysfunction in daily practice. Every animal presented with behavioural complaints need to be assessed in terms of overall health and a detailed history should be taken to determine whether the behaviour is normal, abnormal or is it an underlying medical condition (Seibert and Landsberg 2008).

In human medicine, patients that suffer from anxiety, tend to seek alternative therapies due to adverse side effects of medications and collective prejudices (Liu et al. 2017). Similar tendency for alternative therapies and prejudice



for medical psychoactives are prevalent in dog owners. The Perception of dog owners against psychoactive medications and non-prescription alternative treatments was investigated and a significant majority of attendants remarked that they felt the highest comfort level with herbal and nutritional supplements, compared to medical options (van Haaften et al. 2020).

There is increasing evidence that herbal extracts can reduce anxiety symptoms through the regulation of neurotransmitters (Alex and Srivastava 2019). Anxiety and stress have similar development and results in humans and dogs regarding many aspects. Neurotransmitters such as GABA, serotonin, dopamine and norepinephrine mainly partake in the pathogenesis of anxiety disorders. GABA modulating phytochemicals may be an alternative to anxiolytic medications (Savage et al. 2018). Antidepressive effects of some herbal remedies via monoamine Oxidase-A enzyme (MAO) inhibition, are similar to the effects of tricyclic antidepressants (Zhang 2004).

Although rare, problems related to drug interactions and previous pathologies existing in animals should be considered when using herbal medicines in veterinary medicine. Quality, extraction method, concentration and purity have vital importance for the reliability of herbal remedies. Adverse effects due to remedies containing environmental pollutants such as heavy metals and mycotoxins also must be considered (Eritja 2014).

This review aims to introduce recent scientific knowledge on herbal and nutraceutical remedies, that may be alternative treatment models in dog and cat behavioural problems.

Herbal Remedies

Souroubea spp.

S. sympetala has been used in folk medicine to treat depression-like symptoms. Preclinical studies of *souroubea* spp. have shown an anxiolytic effect on rodents. Betulinic acid (BA) is one of the active metabolites of *Souroubea* spp. and anxiolytic effect of the herb is mainly attributed to BA. A commercial preparation which is composed of 55/45 mixture of *Souroubea* spp./ *Plantus* spp, which is equal to 1mg/kg BA for a 10kg dog has provided dose dependent decrease of plasma cortisol levels and significant anxiolytic effect on dogs (Liu et al. 2017). Chewable tablets consisting of a mixture of *souroubea* and *plantanus* at a dose of 1 mg/kg were used in the thunderstorm noise-induced fear and anxiety model of dogs, and their effectiveness in reducing anxiety in dogs was evaluated. This blind, placebo-controlled study showed that anxiety symptoms and blood cortisol levels decreased in a dose-dependent manner (Masic et al. 2021).

Canabis Sativa (Hemp)

Canabis sativa has been used by various cultures in traditional medicine for ages. *Canabis sativa* contains numerous physiologically active phytochemicals such as tetrahydrocannabinol (THC), cannabidiol (CBD), cannabigerol (CBG), and cannabichromene (CBC) (Lipnik-Štangelj & Razinger, 2020). THC binds with the cannabinoid 1 (CB1) receptors in the brain, resulting with euphoria, so it is the undesired metabolite. According to EU regulations, THC content cannot exceed 0.2% in veterinary products and hemp products are widely prescribed in USA and EU. Mechanism of action of CBD is not yet to be understood completely, but it is known that CBD modulates CB-1 receptor function, GABA, dopamine levels and serotonin function. Several human studies have shown its effectiveness on anxiety and psychotic

symptoms and it can be considered as a safe molecule (Ayati et al. 2020). Although it is used empirically, many veterinarians successfully use cannabis derivatives in many pathologies such as pain management, mood disorders, anxiety, depression, and seizures in dogs and cats (della Rocca and Di Salvo 2020). In a study on shelter dogs, effects of CBD on stress related behaviours were investigated and the results, although not statistically significant, demonstrated decrease in aggressive behaviours toward humans (Corsetti et al. 2021).

Withania Somnifera (Ashwagandha)

Withania somnifera, also known as Indian Ginseng has been studied for its neuroprotective, adaptogenic, anxiolytic and antidepressant effects. A randomized clinical trial has demonstrated the effectiveness of *withania* root extract on depression, anxiety and social dysfunction (Ayati et al. 2020). Glycowithanolides (WSG), extracted from the root of *Withania somnifera* has been used as an anxiolytic by Indians. It is thought *Withania somnifera* exhibits an effect by inhibiting protein oxidation and lipid peroxidation (Zhang 2004). Rodents treated with *Withania* presented reduced anxiety and this reduction was found similar to the effects of benzodiazepines (Alex and Srivastava 2019).

Pasiflora incarnata (Passion Flower)

Pasiflora incarnata, also known as Passion Flower is a perennial herb. Studies indicate that passion flower has effects on anxiety, reactivity, insomnia and depression-like behaviours comparable to benzodiazepines (Fonseca et al. 2020). *Pasiflora* is one of the herbal remedies that can be used to reduce stress in animals and there is no report about adverse effects, such as memory loss and collapse of psychometric functions relating to the administration of passion flower (Janda et al. 2020). A mixture containing dry extracts of *Crataegus oxyacantha*, *Passiflora incarnata*, and *Valeriana officinalis* was studied toxicologically on dogs, mice, and rats, and LD50 dose was indicated as 5g/kg and possibly more, also acute and chronic toxicity trials were conducted for 180 days and no signs of toxicity were observed at the end of the study, even with high doses and long-term use (Tabach et al. 2009). Due to the low toxicity profile and benzodiazepine like effects of the herb, Passion Flower could be a first-line therapeutic option for mild to moderate anxieties in dogs.

Hypericum Perforatum (St John's wort)

Hypericum perforatum, one of the most studied herbs due to its antidepressant effects and the herb has many active metabolites. Its possible mechanism of action is attributed to inhibition of monoaminergic reuptake and inhibition of Monoamine Oxidase A (MAO-A) and MAO-B activity (Zhang, 2004). Numerous clinical studies and animal experiments demonstrated that *H.perforatum* exerts its effect through a mechanism similar to tricyclic antidepressants or serotonin reuptake inhibitors (Alex and Srivastava 2019). In a striking study comparing hypericin (one of the active ingredients of *Hypericum perforatum*, 0.05 mg/kg) and fluoxetine (1 mg/kg) in 18 dogs with tail chasing behaviour, hypericin was found to have superior clinical effects compared to fluoxetine (Mosallanejad et al. 2015). Data in human medicine has demonstrated that *hypericum perforatum* may lead to drug interaction when used concurrently with cyclosporine and many other drugs due to common enzymatic metabolism. Furthermore it could lead to serotonin syndrome when used with SSRIs and side effects such as nausea, photosensitivity, and rash, although not frequent were observed (Ng et al. 2017).

***Camelia Sinensis* (Green Tea)**

Green tea has been used by traditional medical applications and it has various pharmacological and physiological functions. It has been well documented that, L-theanine, that is a main constituent of green tea has stress and anxiety reducing, neuroprotective and antioxidant effects (Saeed et al. 2017). A study has compared the effects of a nutraceutical (green tea extract, L-tryptophane) and control diet, on stress and neuroendocrine parameters of dogs. Results of the study revealed that plasma serotonin, dopamine and beta endorphin levels of dogs in the study group were significantly higher than the control group and plasma noradrenaline and cortisol levels were significantly lower in the study group (Sechi et al. 2017).

***Melissa Officinalis* (Lemon Balm)**

Melissa officinalis has been used historically due to its anxiolytic effects. Studies performed with aqueous extract of the herb on mice, has demonstrated increased explanatory activity and sedation (Zhang 2004). In another study performed on mice, *Melissa officinalis* extract administration has shown dose dependent decrease of serum corticosterone levels, additionally increased GABA levels in mouse dentate gyrus (Yoo et al. 2011).

***Matricaria Recutita* (Chamomile)**

Matricaria is also commonly called as German Chamomile and it is a very popular herb for various diseases. It is known that among the other effects, chamomile has anxiolytic, anti-stress and anti-depressive effects. In according to the results of an animal study, chamomile extract has alleviated the anxiety and depression related to the scopolamine injection (Ioniță et al. 2019).

***Centella Asiatica* (Gotu Kola)**

Centella Asiatica has been used by Indians due to its beneficial effects on cognition and anxiety. Extracts of the herb have shown GABA receptor modulating activity, neuroprotective features and memory enhancement effect (Ceremuga et al. 2015). A study had investigated the effectiveness of Gotu kola extract for ameliorating vascular cognitive impairment (VCI) after stroke and compared its effectiveness against folic acid. Gotu kola has been found superior to folic acid in terms of memory improving and as effective as folic acid for in improvement of post-stroke VCI (Farhana et al. 2016). As suggested by Wynn and Fougère (2007), 25%-40% ethanolic extract of gotu kola may be efficient for cognitive impairment of dogs and cats in a dose range of 0.4-1.5 ml per 10 kg.

***Bacopa Monniera* (Bacopa)**

As an Ayurvedic plant Bacopa has been used for centuries. Several studies have investigated antidepressant and anxiolytic activity of the plant and show that Bacopa has anxiolytic activity without adverse effects like amnesia as in benzodiazepines and has significant antidepressant effects (Gohil and Patel 2010). It is known that Bacopa has a norepinephrine decreasing effect and increasing 5-hydroxytryptamine in brain zones such as hippocampus and amygdala (Russo and Borrelli 2005). In a rat study, Bacopa extract orally at different durations of 20 to 80 mg/kg has been shown to improve memory and learning (Vollala et al. 2010).

***Valeriana Officinalis* (Valerian)**

Valerian has been used in traditional and ayurvedic medicine due to a relaxant and sleep-promoting effects. Nearly 150-200 chemical metabolites have been found in valerian. Some of these constituents have been found to

have potential therapeutic effects in Alzheimer, Parkinson and epilepsy diseases. Root extract of valerian has shown cognitive enhancing and corticosterone reducing effects, in aged mice (Nandhini et al. 2018). In a study conducted on cats, responses to the use of valerian root for environmental enrichment as an olfactory stimulant were evaluated and 47% of cats responded. Results suggest that usage of valerian root may improve the quality of life in cats (Bol et al. 2017). In another study conducted on shelter dogs, the effect of olfactory stimuli on behavior was evaluated and it was shown that valerian and other olfactory stimulants significantly affect behavior, reduce vocalization and movement. Reduced vocalization and movement may be associated with reduced stress provided by the use of olfactory stimulants (Binks et al. 2018).

***Lavandula Officinalis* (Lavender)**

L. officinalis has antidepressive and sedative usage besides its various medical advantages. A study which is conducted on rats showed that extract of aerial parts of *Lavandula* possess antidepressive-like effects, anxiety and scopolamine induced memory impairment reducing effects (Rahmati et al. 2017). A study conducted on 16 cats has assessed the aromatherapeutic potential of lavender oil in reducing anxiety in cats. The study group received lavender oil by inhalation for 30 minutes. As the result, a statistically significant decrease in stress and anxiety-related behaviors was observed in the study group (Goodwin and Reynolds 2018). Due to its non-invasiveness and promising results, lavender oil can be used in cats as an additional treatment option in anxiety management.

Ginkgo Biloba

Ginkgo biloba is frequently used by humans to ameliorate age-related cognitive impairments. It is one of the most studied herbs due to its neurological effects. It is known that ginkgo has various effects on the brain including enhancement of neuronal plasticity, memory improving and protecting against ischemic neuronal death (Singh et al. 2019). A study performed on aged beagle dogs has shown that a nutraceutical preparation composed of phosphatidylserine, Ginkgo biloba, Vitamin E and pyridoxine enhanced the short-term memory performance of dogs. Along with the benefits of other substances, the study indicated that Ginkgo may possess the promote short-term retention of spatial memory thereby enhancing cognitive functions in animals (Araujo et al. 2008). In another study conducted on 46 dogs, a commercial preparation which is containing phosphatidylserine and Ginkgo biloba standardized extract has evaluated for its effectiveness and tolerability. At the end of the 3 months treatment 66% of the subjects responded to treatment with improved signs in terms of the general activity, sleep/awake cycle, house soiling, disorientation and social interactions (Cane et al. 2005).

Other Herbs

Piper methysticum is a well-known herb due to its anxiolytic effect. The main active constituent of the herb has shown the various mechanism of action such as increase of GABA-A receptor functioning, inhibition of excitatory neurotransmission and inhibition of norepinephrine uptake (Zhang 2004).

Ziziphus jujube has been used in Traditional Chinese Medicine (TCM) and laboratory studies have revealed that extract of the herb act as an anxiolytic at lower doses and sedative at higher doses (Peng et al. 2000).

Extract of the *Apocynum venetum* has an antidepressant effect and it is thought that mechanism of action of the herb is related to its effect on the central monoaminergic system, as in conventional antidepressants (Meizhu et al. 2014).

Constituent of *Atecha catechu's* nut has shown significant inhibitory effect on GABA uptake and in-vitro studies carried out with the phenolic compounds of the herb had stimulated the catecholamine release (Zhang 2004).

Table 1. Recommended herbals and nutraceuticals for behavioural problems of dogs and cats.

Herbals and Nutraceuticals	Effects on Behavioural Conditions	Potential Indications	References
Pasiflora incarnata	Stress reducing and benzodiazepin-like effects	Canine and Feline Anxiety Insomnia Depressive Behaviours	(Janda et al. 2020) (Fonseca et al. 2020)
Hypericum perforatum	Inhibition of monoaminergic reuptake and inhibition of (MAO)-A and MAO-B activity	Depressive Behaviours Anxiety Tail-Chasing	(Zhang 2004) (Alex and Srivastava 2019) (Mosallanejad et al. 2015) (Ng et al. 2017)
Matricaria recutita	Anxiolytic, Antidepressive and Anti-stress	Depressive Behaviours Anxiety	(Ioniță et al. 2019).
Withania somnifera	Anxiolytic, Adaptogen and Antidepressive	Depressive Behaviours Anxiety	(Alex and Srivastava 2019) (Ayati et al. 2020) (Zhang 2004)
Canabis Sativa (CBD) I	Alteration of CB-1 receptor function, GABA and dopamine levels, and serotonin function	Depressive Behaviours Canine Aggression	(della Rocca and Di Salvo 2020) Ayati et al. 2020) (Corsetti et al. 2021)
Camelia Sinensis	Neuroprotective, stress and anxiety reducing effects	Anxiety	(Saeed et al. 2017) (Sechi et al. 2017)
Melissa officinalis	Decrease serum corticosterone levels and increase dentate gyrus GABA levels	Cognitive dysfunction Anxiety	(Zhang 2004) (Yoo et al. 2011)
Gotu Kola	GABA receptor modulation Memory enhancement and Neuroprotective	Cognitive dysfunction Anxiety	(Ceremuga et al. 2015) (Farhana et al. 2016) (Wynn and Fougère 2007)
Bacopa monniera	Increase brain serotonin and decrease brain norepinephrine Anxiolytic and Antidepressive	Cognitive dysfunction Depressive behaviours Anxiety	(Gohil and Patel 2010) (Russo and Borrelli 2005) (Vollala et al. 2010)
Lavandula officinalis	Antidepressive Anxiety reducing	Depressive Behaviours Anxiety	(Rahmati et al. 2017) (Goodwin and Reynolds 2018)
Valeriana officinalis	Relaxant, Sleep promoting, Sedative	Insomnia Feline Hyperesthesia Stress	(Nandhini et al. 2018) (Bol et al. 2017) (Binks et al. 2018)
Ginkgo biloba	Neuroprotective, Memory Improving,	Cognitive dysfunction	(Singh et al. 2019) (Araujo et al. 2008) (Cane et al. 2005)
Bovine Milk Protein derivates	Stress reducing Anxiolytic	Anxiety Depressive Behaviours	(Orlando 2018) (Beulens et al. 2004) (Beata et al. 2007)
Apoaequorin	Neuroprotective effect by intracellular calcium regulation	Cognitive Dysfunction	(Milgram et al. 2015) (Orlando 2018)
MCTs	Support brain energy metabolism	Cognitive Dysfunction Neuroprotection	(Pan et al. 2010) (Orlando 2018)
Omega-3	Neuroprotective and neuronal development	Cognitive Dysfunction	(Orlando 2018) (Kaur et al. 2020)
SAME	Cellular metabolism regulation, Cell membrane stability	Cognitive Dysfunction	(Orlando 2018)
Tryptophan	Precursor serotonin synthesis	Phobias Aggression Anxiety	(Orlando 2018)

Nutraceuticals

Bovine milk protein derivates include alpha caseozepine and alpha-lactalbumin, these compounds greatly reduced anxiety signs and plasma cortisol levels in dogs besides reduced social anxiety in cats (Orlando 2018). In a study,

rats fed with alpha-lactalbumin enriched diets have shown increased serotonin levels and increased activity levels. In the same study alpha lactalbumin has found superior to casein in terms of profitable effects on mood (Orosco et al. 2004).

It is known that a high ratio of tryptophan to other large neutral amino acids (LNAAs) in the diet is important for serotonin synthesis. Alpha-lactalbumin enriched diets increaseserum tryptophan to LNAAs ratio (Beulens et al. 2004). Numerous commercial diets that include bovine milk protein derivatives have already been available in the market. A study that compares the effectiveness of alpha-casozepine and selegiline on anxiety disorders in dogs have shown that alpha-casozepine is equivalently effective as selegiline and during the study no adverse effects were recorded regarding the use of alpha-casozepine (Beata et al. 2007).

Apoaequorin is a protein derived from jellyfish and it has a better improvement effect on cognitive functions in aged beagle dogs compared to selegiline (Orlando 2018). Apoaequorin has calcium buffering properties and thus protects against pathologies related to calcium dysregulation and excitotoxicity. In a placebo-controlled study, 23 aged beagle dogs have treated with apoaequorin and the study group has shown enhanced cognitive results. In a second study, 10 mg apoaequorin administration has been shown as effective as selegiline treatment for canine cognitive dysfunction (Milgram et al. 2015).

Medium-chain triglycerides (MCT), it is known that in aged dogs brain glucose metabolism is altered. MCTs act as a second energy source in the form of ketones to support brain energy metabolism when given as a food additive. Beta-hydroxybutyrate, a ketone body, levels were found significantly higher in the MCT supplemented dogs (Pan et al. 2010). In a study performed on aged beagle dogs, feeding with a proportion of 5.5% MCT added diet improved cognitive test scores. In another study performed on owned dogs, 6.5% MCT containing diet has shown significant amelioration of the clinical signs of cognitive dysfunction in one month (Orlando 2018).

Omega-3 fatty acids are polyunsaturated fatty acids that are essential for the canine diet. They have beneficial properties for various conditions of dogs such as epilepsy, cardiovascular diseases, and dermatological problems (Kaur et al. 2020). Docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) are omega-3 fatty acids usually derived from fish oil. It is known that DHA play a crucial role in the neurological and cognitive development of puppies (Orlando 2018).

SAME (S-Adenosylmethionine) plays vital roles in cellular metabolism, cell membrane stability and neurotransmitter functions. In a study, dogs and cats with cognitive dysfunction syndrome treated with SAME have shown improvement in cognitive abilities (Orlando 2018). In cats with mild cognitive dysfunction syndrome, the administration of SAME has shown an improvement in cognitive abilities (Sordo and Gunn-Moore 2021).

Tryptophan is a dietary amino acid used in the production of serotonin. In addition to the amount in the diet, the ratio to other large neutral amino acids is also important. Owner-directed aggression score has been found higher in dogs fed with high protein diets and in fearful dogs, increased levels of plasma tryptophan metabolites and decreased levels of tryptophan have been found (Orlando 2018).

Vitamin B-6, Vitamin E, resveratrol, alpha-tocopherol, and L-carnitin are other substances that might be used to ameliorate cognitive dysfunction in dogs and cats (Sordo and Gunn-Moore 2021).

CONCLUSION

Herbal and nutraceutical remedies have many advantages in veterinary medicine such as low cost, availability and positive owner attitude, etc. Alas, people generally fixed at the opinion that, herbal remedies have no side effects. This is a crucial fault, as many herbs have various and vital side effects. The dilemma in herbal and nutraceutical remedies can be solved by choosing the right extraction, suitable dose and indication. Still there are promising therapeutic potentials in these remedies with the advances in phytochemical researches, that must be considered in veterinary medicine.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors report no conflicts of interest.

ACKNOWLEDGMENT

We would like to thank Prof. Dr. Duygu Dalgin, a faculty member of Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, for her support at every step of this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Idea / Concept: UBA

Supervision / Consultancy: YM

Data Collection and / or Processing: UBA

Analysis and / or Interpretation: SHR, BU

Writing the Article: UBA

Critical Review: SHR, BU

REFERENCES

- Alex A, Srivastava A (2019). Nutraceuticals for Calming and Stress. Gupta RC, Srivastava A, Lall R (Ed). Nutraceuticals in Veterinary Medicine, 417-425, Springer, Switzerland.
- Araujo JA, Landsberg GM, Milgram NW, Miolo A (2008). Improvement of short-term memory performance in aged beagles by a nutraceutical supplement containing phosphatidylserine, Ginkgo biloba, vitamin E, and pyridoxine. *Can Vet J*, 49 (4), 379-385.
- Ayati Z, Sarris J, Chang D, Emami SA, Rahimi R (2020). Herbal medicines and phytochemicals for obsessive-compulsive disorder. *Phytother Res*, 34 (8), 1889-1901.
- Beata C, Beaumont-graff E, Diaz C et al. (2007). Effects of alpha-casozepine (Zylkene) versus selegiline hydrochloride (Selgian, Anipryl) on anxiety disorders in dogs. *J Vet Behav*, 2 (5), 175-183.
- Beulens JWJ, Bindels JG, De Graaf C, Alles MS, Wouters-Wesseling W (2004). Alpha-lactalbumin combined with a regular diet increases plasma Trp-LNAA ratio. *Physiol Behav*, 81 (4), 585-593.
- Binks J, Taylor S, Wills A, Montrose VT (2018). The behavioural effects of olfactory stimulation on dogs at a rescue shelter. *Appl Anim Behav Sci*, 202, 69-76.
- Bol S, Caspers J, Buckingham L et al. (2017). Responsiveness of cats (Felidae) to silver vine (Actinidia polygama), Tatarian honeysuckle (Lonicera tatarica), valerian (Valeriana officinalis) and catnip (Nepeta cataria). *BMC Vet Res*, 13 (1), 1-15.
- Cane NEL, Pilota S, Colangeli R et al. (2005). Di Un Nutraceutico Neuroprotettivo Contenente Fosfatidilserina E Ginkgo Biloba Sui Segni Clinici Di Invecchiamento Cerebrale. 2005(October), 13-18.
- Ceremuga TE, Valdivieso D, Kenner C et al. (2015). Evaluation of the anxiolytic and antidepressant effects of asiatic acid, a compound from Gotu kola or Centella asiatica, in the male Sprague Dawley rat. *AANA J*, 83 (2), 91-98.
- Corsetti S, Borruso S, Malandrucchio L et al. (2021). Cannabis sativa L. may reduce aggressive behaviour towards humans in shelter dogs. *Sci Rep*, 11 (1), 1-10.
- della Rocca G, Di Salvo A (2020). Hemp in Veterinary Medicine: From Feed to Drug. *Front Vet Sci*, 7 (387), 1-11.
- Didehban N, Pourmahdi Borujeni M, Avizeh, R, Mosallanejad B (2020). Problematic behaviors in companion dogs: A survey of their prevalence and associated factors. *J Vet Behav*, 39, 6-13.

- Eritja R (2014).** Natural Product Communications: Preface. *Nat Prod Commun*, 9 (8).
- Farhana KM, Malueka RG, Wibowo S, Gofir A (2016).** Effectiveness of Gotu Kola Extract 750 mg and 1000 mg Compared with Folic Acid 3 mg in Improving Vascular Cognitive Impairment after Stroke. *Evid-based Complement Altern*, 2016, 2795915.
- Fonseca LRd, Rodrigues R de A, Ramos A de S et al. (2020).** Herbal Medicinal Products from Passiflora for Anxiety: An Unexploited Potential. *Sci World J*, 2020, 6598434.
- Gohil KJ, Patel JJ (2010).** A review on Bacopa monniera: Current research and future prospects. *Int J Green Pharm*, 4 (1), 1–9.
- Goodwin S, Reynolds H (2018).** Can aromatherapy be used to reduce anxiety in hospitalised felines. *The Veterinary Nurse*, 9 (3), 167-171.
- Ioaniță R, Postu PA, Cioancă O et al. (2019).** Anxiolytic and antidepressant effects of matricaria chamomilla hydroalcoholic extract in a rat model of scopolamine. *Farmacologia*, 67 (1), 68-72.
- Janda K, Wojtkowska K, Jakubczyk K, Antoniewicz J, Skonieczna-zydecka K (2020).** Passiflora incarnata in neuropsychiatric disorders—a systematic review. *Nutrients*, 12 (12), 1-17.
- Kaur H, Singla A, Singh S, Shilwant S, Kaur R (2020).** Role of Omega-3 Fatty Acids in Canine Health: A Review. *Int j curr microbiol*, 9 (3), 2283-2293.
- Lipnik-Štangelj M, Razinger B (2020).** A regulatory take on cannabis and cannabinoids for medicinal use in the European Union. *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 71 (1), 12-18.
- Liu R, Ahmed F, Cayer C et al. (2017).** New Botanical Anxiolytics for Use in Companion Animals and Humans. *AAPS J*, 19 (6), 1626-1631.
- Masic A, Landsberg G, Milgram B et al. (2021).** Efficacy of Souroubea-Platanus Dietary Supplement Containing Triterpenes in Beagle Dogs Using a Thunderstorm Noise-Induced Model of Fear and Anxiety. *Molecules*, 26 (7), 2049.
- Meizhu Z, Yuqiu L, Dongfang S, Chunming L, Jimin Z (2014).** Antidepressant-like effects of flavonoids extracted from Apocynum venetum leaves in mice: the involvement of monoaminergic system in mice. *Afr J Pharmacy Pharmacol*, 8 (29), 765-774.
- Milgram NW, Landsberg G, Merrick D, Underwood MY (2015).** A novel mechanism for cognitive enhancement in aged dogs with the use of a calcium-buffering protein. *J Vet Behav*, 10 (3), 217-222.
- Mosallanejad B, Najafzadeh Varzi H, Avizeh R, Pourmahdi M, Khalili F (2015).** Comparative evaluation between hypericin (hypiran) and fluoxetine in treatment of companion dogs with tail chasing. *Vet Res Forum*, 6 (2), 167-172.
- Nandhini S, Narayanan KB, Ilango K (2018).** Valeriana Officinalis: a Review of Its Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacology. *J Pharm Clin Res*, 11 (1), 36.
- Ng QX, Venkatanarayanan N, Ho CYX (2017).** Clinical use of Hypericum perforatum (St John's wort) in depression: A meta-analysis. *J Affect Disord*, 210, 211–221.
- Orlando JM (2018).** Behavioral Nutraceuticals and Diets. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 48 (3), 473-495.
- Orosco M, Rouch C, Beslot F et al. (2004).** Alpha-lactalbumin-enriched diets enhance serotonin release and induce anxiolytic and rewarding effects in the rat. *Behav Brain Res*, 148 (1–2), 1-10.
- Pan Y, Larson B, Araujo JA et al. (2010).** Dietary supplementation with medium-chain TAG has long-lasting cognition-enhancing effects in aged dogs. *Br J Nutr*, 103 (12), 1746-1754.
- Peng WH, Hsieh MT, Lee YS, Lin YC, Liao J (2000).** Anxiolytic effect of seed of Ziziphus jujuba in mouse models of anxiety. *J Ethnopharmacol*, 72 (3), 435-441.
- Rahmati B, Kiasalari Z, Roghani M, Khalili M, Ansari F (2017).** Antidepressant and anxiolytic activity of Lavandula officinalis aerial parts hydroalcoholic extract in scopolamine-treated rats. *Pharm Biol*, 55 (1), 958-965.
- Russo A, Borrelli F (2005).** Bacopa monniera, a reputed nootropic plant: An overview. *Phytomedicine*, 12 (4), 305-317.
- Saeed M, Naveed M, Arif M et al. (2017).** Green tea (Camellia sinensis) and L-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans—A comprehensive review. *Biomed Pharmacother*, 95 (September), 1260-1275.
- Savage K, Firth J, Stough C, Sarris J (2018).** GABA-modulating phytochemicals for anxiety: A systematic review of preclinical and clinical evidence. *Phytother Res*, 32 (1), 3-18.
- Sechi S, Fiore F, Cocco R et al. (2017).** Effects in dogs with behavioural disorders of a commercial nutraceutical diet on stress and neuroendocrine parameters. *Vet Rec*, 180 (1), 18.
- Seibert LM, Landsberg GM (2008).** Diagnosis and Management of Patients Presenting with Behavior Problems. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 38 (5), 937-950.
- Singh SK, Srivastav S, Castellani RJ, Plascencia-Villa G, Perry G (2019).** Neuroprotective and Antioxidant Effect of Ginkgo biloba Extract Against AD and Other Neurological Disorders. *Neurother*, 16 (3), 666-674.
- Sordo L, Gunn-Moore DA (2021).** Cognitive Dysfunction in Cats: Update on Neuropathological and Behavioural Changes Plus Clinical Management. *Vet Rec*, 188 (1), 30-41.
- Tabach R, Rodrigues E, Carlini EA (2009).** Preclinical toxicological assessment of a phytotherapeutic product – CPV (based on dry extracts of Crataegus oxyacantha L., Passiflora incarnata L., and Valeriana officinalis L.). *Phytother Res*, 23, 33-40.
- Van Haften KA, Grigg EK, Kolus C, Hart L, Kogan LR (2020).** A survey of dog owners' perceptions on the use of psychoactive medications and alternatives for the treatment of canine behavior problems. *J Vet Behav*, 35, 27-33.
- Vollala VR, Upadhyaya S, Nayak S (2010).** Effect of Bacopa monniera Linn. (brahmi) extract on learning and memory in rats: A behavioral study. *J Vet Behav*, 5 (2), 69-74.
- Wynn SG, Fougère B (2007).** Veterinary herbal medicine. Elsevier Health Sciences, Missouri.
- Yoo DY, Choi JH, Kim W et al. (2011).** Effects of Melissa officinalis L. (Lemon Balm) extract on neurogenesis associated with serum corticosterone and GABA in the mouse dentate gyrus. *Neurochem Res*, 36 (2), 250-257.
- Zhang ZJ (2004).** Therapeutic effects of herbal extracts and constituents in animal models of psychiatric disorders. *Life Sci*, 75 (14), 1659-1699.



Bir Teke (*Capra hircus*)'de *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae)'dan Kaynaklanan Preputial Myiasis Olgusu

Gökhan EREN¹ * Mustafa AÇICI¹ Ali Tümay GÜRLER¹ Cenk Soner BÖLÜKBAŞ¹
Şinasi UMUR¹

¹ Ondokuz Mayıs University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, 55000, Samsun, Turkey

Received: 12.11.2021

Accepted: 01.03.2022

ÖZ

Myiasis terimi özellikle Calliphoridae, Muscidae ve Sarcophagidae gibi bazı diptera türlerinin ergin formlarının parazit olmadığı halde, larva formlarının insan ve omurgalı hayvanların nekrotik, canlı veya ölü dokularıyla ya da vücut dokularındaki sıvılar veya sindirilmiş gıdalarda beslenmesi sırasında meydana gelen bir hastalıktır. Özellikle sığır, koyun ve keçi yetiştiriciliğinin yaygın olduğu tropik ve subtropik ülkelerin kırsal kesimlerinde myiasis insanlarda ve hayvanlarda ciddi ekonomik kayıplara ve sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Myiasis olgusu parazit-konak ilişkilerine veya yerleştikleri doku ve organlara göre birçok şekilde sınıflandırılmaktadır: konakların deri yüzeyine yerleşirse eksternal myiasis; iç organlara veya vücut boşluklarına yerleşirse internal myiasis gibi. Kurbanlık bir tekenin prepusiyumundan toplanan diptera larvaları teşhis amacıyla %70'lik etil alkol içerisinde parazitoloji laboratuvarına getirilmiştir. Yapılan mikroskopik incelemede örnekler *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae)'nın üçüncü dönem larvaları olarak belirlenmiştir. Bu çalışma bir tekede Türkiye'de ilk *W. magnifica* kaynaklı preputial myiasis olgusu bildirimini ile birlikte, Türkiye'de eksternal ve internal myiasis olgularının toplu bir şekilde sunumu amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Keçi, Miyaz, Parazitoloji.

ABSTRACT

A Case of Preputial Myiasis Caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) in a Domestic Male Goat (*Capra hircus*)

Myiasis is a disease that occurs when adult forms of some diptera species are non-parasitic, while larval forms (Diptera: Calliphoridae, Muscidae and Sarcophagidae) feed on necrotic, living, or dead tissues of humans and vertebrates or fluids from body tissues or ingested food. Myiasis causes serious economic losses and health problems in humans and animals, especially in rural areas of tropical and subtropical countries where cattle, sheep and goat breeding are common. The case of myiasis is classified in many ways according to the parasite-host relationships or the tissues and organs in which the diptera larvae located: external myiasis if it settles on the skin surface of the hosts; internal myiasis if it settles in organs or body cavities. Diptera larvae collected from the preputium of a sacrificial goat were brought to the parasitology laboratory in 70% ethanol for identification. According to the microscopic examination, third instar larvae of *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) were detected in samples. The aim of this study was to present the cases of external and internal myiasis in Turkey, together with the first case of preputial myiasis of goat caused by *W. magnifica* in Turkey.

Keywords: Goat, Myiasis, Parasitology.

GİRİŞ

Myiasis (myia: sinek/fly + iasis: hastalık/disease) bazı Diptera larvalarının insan ve omurgalı hayvanların canlı veya ölü dokularında meydana getirdiği hastalık olarak bilinir (Zumpt 1965). Bu olgu birçok araştırmacı tarafından konak parazit ilişkileri veya yerleştikleri doku ve organlara göre farklı tiplerde sınıflandırılmıştır. Parazit-konak ilişkilerine göre: zorunlu/obligatör,

istemli/fakültatif ve rastlansal/aksidental olarak; yerleştikleri doku ve organlara göre ise anal, eksternal, furunkular, gastrointestinal, gingival, internal, kutanöz, oküler/oftalmik, oral, travmatik, preputial, respiratörük, umbilikal, üriner ve vulvar myiasis gibi birçok şekilde tanımlanmıştır (Dinçer 1997; Dinçer ve ark. 2000; Dik ve ark. 2012; Pezzi ve ark. 2019).

Diptera takımında bulunan *Calliphoridae*, *Cuterebridae*, *Gasterophilidae*, *Hypodermatidae*, *Muscidae*, *Oestridae*,



Phoridae, *Piophilidae*, *Psychodidae*, *Sarcophagidae* ve *Syrphidae* gibi birçok aileye ait myiasis bildirimi olsada, esas olarak *Calliphoridae*, *Muscidae* ve *Sarcophagidae* ailelerinde bulunan türler insan ve evcil hayvanlarda travmatik myiasis için önem arz etmektedir (Zumpt 1965; Dik ve ark. 2012; Bonacci ve ark. 2013).

Türkiye’de günümüze kadar yapılan çalışmalarda evcil ve yabani hayvanlarda 19 diptera türüne ait myiasis bildirimi yapılmış olup, özellikle *Lucilia sericata* (Diptera: *Calliphoridae*) ve *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: *Sarcophagidae*) larvaları myiasis olgularında baskın türler olarak dikkat çekmektedir (Tablo 1). Eski dünya et sineği olarak da bilinen *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner 1862), Paleartik bölgenin özellikle sıcak bölgelerinde hem insanlarda hem de evcil hayvanlarda en yaygın zorunlu travmatik myiasis etkenlerindedir (Hall ve Wall 1995; Bonacci ve ark. 2013). Dünyada ve Türkiye’de *W. magnifica*’ya bağlı kedi, köpek, koyun, keçi, at, tavşan, domuz ve insanda birçok myiasis olgusu bildirilmiştir (Dik ve ark. 2012; Bonacci ve ark. 2020).

Bu çalışmada bir tekede *W. magnifica* kaynaklı preputial myiasis olgusunun Türkiye’deki ilk bildirimi ve Türkiye’de evcil ve yabani hayvanlardaki eksternal ve internal myiasise sebep olan türlerin çeşitliliği değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Türkiye’de evcil ve yabani hayvanlardan bildirilen eksternal ve internal myiasis türleri.

Table 1. External and internal myiasis species reported from domestic and wild animals in Turkey.

Aile	Tür	Konak	Referans	
Calliphoridae	<i>Calliphora vicina</i>	Sığır	25	
	<i>Calliphora vomitoria</i>	Köpek	5	
	<i>Chrysomya albiceps</i>	Köpek	35	
	<i>Lucilia sericata</i> , <i>Lucilia</i>	Baykuş,	7,12,16,18,	
	sp	Ceylan, Kedi,	19,21,23,24,	
		Koyun, Keçi,	27,29,30,32,	
	Köpek, Tavşan	34		
Muscidae	<i>Phormia regina</i>	Kedi	28	
	<i>Musca domestica</i>	Köpek	33	
	<i>Cephalopina titillator</i>	Deve	20	
Oestridae	<i>Hypoderma (H) bovis</i> , <i>H. lineatum</i>	Sığır	1,6,9,14	
	<i>Gasterophilus (G) haemorrhoidalis</i> , <i>G. inermis</i> , <i>G. intestinalis</i> , <i>G. nasalis</i> , <i>G. pecorum</i>	At	2,15,22	
	<i>Oestrus ovis</i>	Koyun	10,17	
	<i>Przhevalskiana silenus</i>	Koyun, Keçi	4,9,30	
	<i>Rhinoestrus purpureus</i>	At, Eşek	3	
	Sarcophagidae	<i>Wohlfahrtia magnifica</i>	Köpek, Koyun, Keçi, Sığır	8,11,13,19, 25,26,32,36
		<i>Eristalis tenax</i>	Köpek	25

Kurtpınar 1947 (1); Alibaşoğlu ve Yalçınar 1965 (2); Sayın 1967 (3); Sayın 1973 (4); Samsar ve ark. 1986 (5); Gülanber ve ark. 2000 (6); Sevgili ve ark.

2004 (7); Şaki 2004 (8); Özdal ve Değer 2005 (9); Uslu ve Dik 2006 (10); Ütük 2006 (11); Gökçen ve Sevgili 2007 (12); Aydenizöz ve Dik 2008 (13); Karatepe ve Karatepe 2008 (14); Gökçen ve ark. 2008 (15); Yücel ve ark. 2008 (16); Arslan ve ark. 2009 (17); Sevgili ve ark. 2009 (18); İpek ve Şaki 2010 (19); Dinçer ve ark. 2010 (20); Eren ve ark. 2010 (21); Özdal ve ark. 2010 (22); İpek ve İpek 2012 (23); Aldemir ve ark. 2012 (24); Dik ve ark. 2012 (25); Kılıç ve ark. 2013 (26); Yılmaz ve Köse 2014 (27); Pekmezci ve ark. 2014 (28); Işık ve Dik 2015 (29); Gökpınar 2017 (30); İpek ve ark. 2017 (31); Gökpınar ve Karlı 2018 (32); Dik ve ark. 2018 (33); İlhan ve ark. 2018 (34); Ceylan ve ark. 2019 (35); Davulcu ve ark. 2020 (36).

MATERYAL VE METOT

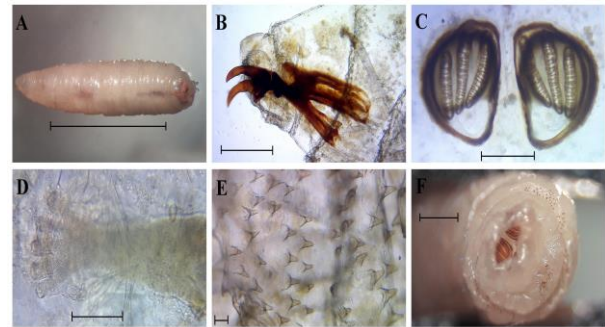
Bu çalışmada araştırmacılar tarafından hasta sahibinden 12.11.2021 tarihinde “aydınlatılmış hasta sahibi onam formu” alınmıştır.

Çalışmanın materyalini Artvin ili Borçka ilçesinde bulunan kurbanlık bir tekenin prepusiyumundan toplanan Diptera larvaları oluşturmaktadır. Küt uçlu pens yardımıyla veteriner hekim tarafından toplanan larvalar teşhis amacıyla %70’lik etil alkol içerisinde Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim dalına gönderilmiştir. Üçüncü dönem larvalar teşhis amacıyla stereo mikroskop (Nikon SMZ1500, Nikon, Tokyo, Japan) altında diske edilerek anterior ve posterior stigmaları ile birlikte cephaloskeleton ortaya çıkartılmış, daha sonra saydamlaşması için %10’luk KOH’de 48 saat süre ile bekletilmiştir. İlgili literatürden (Bonacci ve ark. 2013) yararlanarak örnekler ışık mikroskobu (Nikon Eclipse 80i, Nikon, Tokyo, Japan) altında tanımlanmış ve mikroskoba bütünleşik kamera (Mshot Mdx4-t, Guangzhou, China) ile fotoğraflanmıştır.

BULGULAR

Yapılan mikroskobik incelemede örnekler (n:12) *W. magnifica*’nın üçüncü dönem larvaları olarak teşhis edilmiştir.

Wohlfahrtia magnifica 3. dönem larva uzunlukları 11-14 mm arasında değişmekte (Şekil 1A); yoğun sklerotizasyona sahip olan sefalo-faringeal iskeletin ön kısmı aşağı doğru kıvrık ve sivri uçlu sonlanmıştır (Şekil 1B); solunum delikleri düz (Şekil 1C); anterior stigma 5 dallı (Şekil 1D); gövde segmentleri üzerinde düzensiz sıralı ve koyu renkte geriye dönük sivri uçlu dikenler mevcut (Şekil 1E); posterior stigma son segmentin içine gömülü şekilde (Şekil 1F).



Şekil 1. *Wohlfahrtia magnifica*. A. Üçüncü dönem larva (çubuk: 1000 µm); B. Cephaloskeleton (çubuk: 200 µm); C. Posterior stigma (çubuk: 200 µm); D. Anterior stigma (çubuk: 25 µm); E. Gövde üzerinde bulunan dikenler (çubuk: 10 µm); F. Posterior stigma (çubuk: 500 µm).

Figure 1. *Wohlfahrtia magnifica*. A. Third instar larva (scale bar: 1000 µm); B. Cephalo-pharyngeal skeleton (scale bar: 200 µm); C. Posterior spiracle (scale bar: 200 µm); D. Anterior spiracle (scale bar: 25 µm); E. Spines on body (scale bar: 10 µm); F. Posterior spiracle (scale bar: 500 µm).



Şekil 2. Prepisyum içerisinde enfestasyona neden olan Diptera larvaları.

Figure 2. Larvae of Diptera causing infestation in the preputium.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Myiasis olguları, özellikle tropikal ve subtropikal iklimlere sahip ülkelerde hayvancılık endüstrisinde et ve süt veriminde azalma, deri kalitesinde bozulma, ürünler bozukluklara, topallığa ve hatta ölüme bile neden olarak ciddi ekonomik kayıplara neden olabilmektedir (Kalkan 1963; Hall ve ark. 2016). Bununla birlikte kırsal kesimlerde ve özellikle de hayvanlarla yakın temasta olan insanlarda da myiasis olguları yaygın halk sağlığı sorunlarından biri olarak görülmektedir (Dinçer 1997). Diptera larvalarının bu denli olumsuz etkilerinin yanı sıra adli entomoloji, veteriner ve tıbbi hekimlikte larva terapisi (maggot) gibi olumlu kullanım alanları da vardır (Hall ve ark. 2016).

Wohlfahrtia magnifica kaynaklı myiasis olguları birçok evcil ve yabani hayvanda bildirilmiş olsa da esas olguların görüldüğü konak grubu koyun ve keçilerdir (Bonacci ve ark. 2020). Bu türün larvalarının dokular üzerindeki zararlı etkileri ilk kez 1770'de tespit edilmiş olmasına rağmen, insan ve hayvanlar için hala bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (Sotiraki ve ark. 2010). Türkiye'de günümüze kadar süre gelen çalışmalarda şu ana kadar keçi (İpek ve Şaki 2010; Dik ve ark. 2012; Davulcu ve ark. 2020), koyun (Aydenizöz ve Dik 2008; İpek ve Şaki 2010; Dik ve ark. 2012), köpek (Şaki 2004; Ütük 2006; Dik ve ark. 2012; Kılınç ve ark. 2013; Gökpınar ve Karşlı 2018), sığır (İpek ve Şaki 2010; Dik ve ark. 2012) ve insanlarda (Büyükkurt ve ark. 2008; Çevik ve ark. 2014; Ekşi ve ark. 2014) *W. magnifica* türüne ait myiasis olguları bildirilmiştir. Keçilerde ayrıca *Lucilia sericata* (İpek ve Şaki 2010), *Przhevalskiana silenus* (Sayın 1973; İpek ve ark. 2017) türleri de Türkiye'den bildirilmiştir.

Sonuç olarak baktığımızda bu çalışma ile birlikte Türkiye'de ilk defa bir teke de *W. magnifica* kaynaklı preputial myiasis olgusu rapor edilmiştir. Travmatik myiasis etkenlerinden biri olan *W. magnifica*'ya karşı Türkiye'de gerekli önlemlerin alınabilmesi için türün dağılımının ve myiasis fenolojisinin belirlenmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra küresel iklim değişiklikleri ve küresel anlamda ticari ve insani faaliyetler Dipteraların dağılım alanlarını etkileyebilmektedir. Dolayısıyla da tıbbi ve veteriner hekimlik açısından önem arz eden myiasis etkenlerinin Türkiye açısından haritalanması, ergin sineklere karşı mücadele yöntemlerinin geliştirilmesi ve riskli alanlarda bulunan insanların bilinçlendirilmesinde yarar görülmektedir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

YAZAR KATKILARI

Fikir/Kavram: GE, MA
Denetleme/Danışmanlık: MA, ŞU, ATG, CSB
Veri Toplama ve/veya İşleme: GE, MA
Analiz ve/veya Yorum: GE, MA, ATG, CSB
Makalenin Yazımı: GE, MA
Eleştirel İnceleme: MA, ŞU, ATG, CSB

KAYNAKLAR

- Aldemir OS, Ural K, Aysul N ve ark. (2012).** Bir köpekte travmatik myiasis olgusu. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 36(2), 109-111.
- Alibaşoğlu M, Yalçın S (1965).** 1933-1961 Yılları Arasında Ankara ve yöresinde atlarda görülen hastalıklara toplu bir bakış. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 12 (01.02), 98-111.
- Arslan MO, Kara M, Gıcık Y (2009).** Epidemiology of *Oestrus ovis* infestations in sheep in Kars province of north-eastern Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 41 (3), 299-305.
- Aydenizöz M, Dik B (2008).** Bir kuzuda *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae)'dan kaynaklanan gingival miyaz olgusu. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 32 (1), 79-81.
- Bonacci T, Greco S, Whitmore D, Curcio U (2013).** First data on myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Schiffner, 1862) (Insecta: Diptera: Sarcophagidae) in Calabria, southern Italy. *Life Excit Biol*, 1 (4), 197-201.
- Bonacci T, Curia G, Scapoli C, Pezzi M (2020).** Wohlfahrtiosis in Italy: a case in a puppy and overview of geographical distribution. *Acta Vet Brno*, 89 (2), 171-177.
- Büyükkurt MC, Miloğlu Ö, Nalbantoğlu S ve ark. (2008).** Oral myiasis in a child due to *Wohlfahrtia magnifica*: original image. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci*, 28 (5), 782-785.
- Ceylan O, Dik B, İlhan C, İder M, Gülersoy E (2019).** The first case of anal myiasis caused by *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) in a dog infested with *Rhiphicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) ticks suspected to cause paralysis in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 25 (5), 721-724.
- Çevik C, Kaya ÖA, Akbay E ve ark. (2014).** An unusual *Wohlfahrtia magnifica* myiasis case localized in cutaneous and subcutaneous tissues in a patient with head-neck cancer. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 38 (2), 135-137.
- Davulcu DS, Yılmaz S, Ceylan O, Dik B (2020).** Perianal traumatic myiasis in a goat caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner 1862) (Diptera: Sarcophagidae) in Konya Province of Turkey. *Int J Med Parasitol Epid Sci*, 1 (3), 73-75.
- Dik B, Uslu U, Işık N (2012).** Myiasis in animals and human beings in Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 18 (1), 37-42.
- Dinçer Ş (1997).** İnsan ve hayvanlarda myiasis. Özcel MA, Daldal N (Ed). Parazitoloji'de Artropod Hastalıkları & Vektörler (s. 169-235). Türkiye Parazitoloji Derneği Yayın No:13, İzmir.
- Dinçer Ş, Yıldız K, Nalbantoğlu S (2000).** Türkiye'de develerde (*Camelus dromedarius*) ilk *Cephalopina titillator* (Diptera: Oestridae) larvası. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 24 (3), 311-312.
- Gökçen A, Sevgili M (2007).** Türkiye'de bir ceylanda (*Gazella subgutturosa*) kutanöz miyaz vakası. *Ataturk Univ Vet Bilim Derg*, 2 (3), 96-98.
- Gökçen A, Sevgili M, Altaş MG, Camkerten İ (2008).** Presence of *Gasterophilus* species in Arabian horses in Sanliurfa region. *Türkiye Parazitoloj Derg*, 32 (4), 337-339.
- Gökpınar S (2017).** Bir baykuşta travmatik myiasis olgusu. *Eurasian J Vet Sci*, 33 (3), 198-201.
- Gökpınar S, Karşlı B (2018).** Traumatic myiasis associated with *Wohlfahrtia magnifica* and *Lucilia sericata* larvae in dog. *Van Vet J*, 29 (1), 55-57.
- Gülenber A, Tuzer E, Gargili A ve ark. (2000).** A survey of hypodermosis in cattle slaughtered in Thrace (Trakya) Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 24 (5), 429-430.
- Hall M, Wall R (1995).** Myiasis of humans and domestic animals. *Adv Parasitol*, 35, 257-334.
- Hall MJR, Wall, RL, Stevens JR (2016).** Traumatic myiasis: a neglected disease in a changing world. *Ann Rev Entomol*, 61 (1), 159-176.
- İlhan C, Dik B, Zamirbekova N (2018).** A traumatic myiasis case in a cat caused by *Lucilia sericata*. *Eurasian J Vet Sci*, 34 (2), 131-134.
- İpek DNS, Şaki CE (2010).** Diyarbakır ve yöresinde sığır, koyun ve keçilerde eksternal myiasisler. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 1 (1), 1-7.

- İpek DNS, İpek P (2012).** A case of traumatic myiasis in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) caused by *Lucilia sericata*. *Türkiye Parazitol Derg*, 36 (1), 54-56.
- İpek DNS, Ünver Ö, İpek P (2017).** Diyarbakır İlinde Mezbahada Kesilen Keçilerde Keçi Nokrasının Prevalansı. *Dicle Üniv Vet Fak Derg*, 10 (2), 103-106.
- Işık N, Dik B (2015).** Bir köpekte *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae)'dan kaynaklanan travmatik myiasis olgusu. *Eurasian J Vet Sci*, 31 (4), 242-244.
- Kalkan A (1963).** Hypodermosis' in hayvan endüstrisinde sebep olduğu kayıplar. *Etlık Vet Mikrobiyol Derg*, 2 (1), 30-37.
- Karatepe M, Karatepe B (2008).** Hypodermosis in cattle slaughtered in Nigde province, Turkey. *Trop Anim Health Prod*, 40 (6), 383-386.
- Kılınç ÖO, Oğuz B, Sona A ve ark. (2013).** Bir köpekte *Wohlfahrtia magnifica* Schiner, 1862; Diptera: Sarcophagidae larvalarından ileri gelen travmatik myiasis olgusu. *Anim Hlth Prod Hyg*, 2 (2), 209-211.
- Kurtpınar H (1947).** Anadolu Ehli Hayvanlarında Görülen *Hypoderma* Nevileri, İktisadi Önemi ve Mücadelesine Dair En Uygun Tedbirler Üzerinde Araştırmalar. 1. Baskı. Yüksek Ziraat Enstitüsü Basımevi, Ankara.
- Özdal N, Değer S (2005).** Van Belediye mezbahasında kesilen sığır, koyun ve keçilerde hypodermosis. *Van Vet J*, 16 (2), 23-25.
- Özdal N, Biçek K, Orunç Ö, Değer S (2010).** Presence of *Gasterophilus* species in horses in Van region. *Van Vet J*, 21 (2), 87-90.
- Pekmezci D, Pekmezci GZ, Açıcı M, Gökalp G, Tütüncü M (2014).** A case of auricular, anal and umbilical myiasis caused by the larvae of *Phormia regina* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) in neonatal kittens. *Türkiye Parazitol Derg*, 38 (1), 71-75.
- Pezzi M, Bonacci T, Leis M ve ark. (2019).** Myiasis in domestic cats: a global review. *Parasites & Vectors*, 12 (1), 1-14.
- Samsar E, Güzel N, Karaer Z, Yavru N, Gürkan M (1986).** *Calliphora vomitoria* in a dog eye. *Eurasian J Vet Sci*, 2 (1), 167-170.
- Sayın F (1967).** Çukurova Harası ve civarındaki merkepler üzerinde *Rhinoestrus purpureus* enfestasyonu ile ilgili bir araştırma. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 14 (4), 535-540.
- Sayın F (1973).** Ankara keçisi hypodermosis'i üzerinde araştırmalar. *Ankara Univ Vet Fak Derg*, 20 (2.3), 262-276.
- Sevgili M, Şaki CE, Gökçen A (2004).** Bir ceylanda genital myiasis olgusu. *Türkiye Parazitol Derg*, 28 (34), 202-204.
- Sevgili M, Altaş MG, Gökçen A (2009).** Bir köpekte oral myiasis olgusu. *Türkiye Parazitol Derg*, 33 (1), 92-94.
- Sotiraki S, Farkas R, Hall MJR (2010).** Fleshflies in the flesh: epidemiology, population genetics and control of outbreaks of traumatic myiasis in the Mediterranean Basin. *Vet Parasitol*, 174 (1-2), 12-18.
- Şaki CE (2004).** Elazığ'da köpeklerde tespit edilen travmatik myiasisler. *Fırat Üniv Sağlık Bil Dergisi*, 18 (1), 29-33.
- Uslu U, Dik B (2006).** Bir koyunda çok sayıda *Oestrus ovis* (Linnaeus, 1761, Diptera: Oestridae) larvasından kaynaklanan kavikol myiasis olgusu. *Türkiye Parazitol Derg*, 30 (2), 132-134.
- Ütük AE (2006).** Bir köpekte travmatik miyazis olgusu. *Fırat Üniv Sağlık Bil Dergisi*, 20 (1), 97-99.
- Yılmaz O, Köse M (2014).** Vulvo-vaginal myiasis in a queen caused by *Lucilia sericata* (Diptera: Nematocera: Calliphoridae). *Eurasian J Vet Sci*, 30 (2), 108-110.
- Yücel Ş, Çiçek H, Kar S, Eser M (2008).** Bir kedide genital myiasis olgusu. *Türkiye Parazitol Derg*, 32 (3), 241-243.
- Zumpt F (1965).** Myiasis in Man and Animals in the Old World. I. Edition. Butterwoths & Co. Ltd., London.