



ISSN-1304-7280

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi

Journal of Faculty of Veterinary Medicine,
Erciyes University

Yılda 3 sayı yayımlanır
Published 3 issues per year

Bu dergi Web of Science- Zoological Records, EBSCO Host, CABI Abstracts, World Agricultural Economics and Rural Sociology Abstract, Global Health, Tübitak-Ulakbim TR Dizin ve Türkiye Atıf Dizini tarafından dizinlenmektedir.

This journal is reviewed by Web of Science- Zoological Records, EBSCO Host, CABI Abstracts, World Agricultural Economics and Rural Sociology Abstract, Global Health, Tubitak-Ulakbim TR Dizin and Turkey Citation Index.

Yıl / Year : 2022
Cilt / Volume : 19
Sayı / Number : 3

<http://ercivet.erciyes.edu.tr>

E-posta: ercvet@gmail.com

Baskı Tarihi: Aralık 2022

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi
Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University
Yılda 3 sayı yayımlanır
Published 3 issues per year

Sahibi / Owner

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Adına
Prof. Dr. Abdullah İNCİ (Dekan)

Baş Editör / Editor-in Chief

Prof. Dr. Bilal AKYÜZ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Editör Yardımcıları / Assistant Editors

Prof. Dr. Öznur ASLAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Seçil ABAY (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Doç. Dr. Emel ALAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Doç. Dr. Kanber KARA (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Dr. Öğr. Üyesi Fatih Doğan KOCA (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Dr. Öğr. Üyesi İmdat ORHAN (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Dergi Sekreterleri / Journal Secretary

Arş. Gör. Gamze YETİŞMİŞ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Arş. Gör. Mukaddes BAREL (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Yayın Kurulu / Editorial Consultants

Prof. Dr. Güner KÜÇÜK BAYRAM (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Berrin KOCAOĞLU GÜÇLÜ (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

İstatistik Danışmanı / Statistical Editor

Dr. Öğr. Üyesi Elif ÇELİK (İstatistik) (Erciyes Üniv. Vet. Fak.)

İngilizce Dil Danışmanı / Language Editor

Okt. Mustafa AKGÜL (Erciyes Üniv. Yabancı Diller YO.)

Danışma Kurulu / Advisory Board

Prof. Dr. Ali AYDIN (İstanbul Üniv. Cerrahpaşa Vet. Fak.)

Prof. Dr. Ayşe Arzu YİĞİT (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Aytekin GÜNLÜ (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Assoc. Prof. Dr. Corneliu BRASLASU (Univ. Agricultural Sci. Vet.Med,Bucharest)

Prof. Dr. Ender YARŞAN (Ankara Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Funda KIRAL (Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak.)

Dr. Gediminas VALKIUNAS (Nature Research Centre, Vilnius, Lithuania)

Prof. Dr. İ. Safa GÜRCAN (Ankara Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN (Kafkas Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Kadir YEŞİLBAĞ (Uludağ Üniv. Vet. Fak.)

Ass. Prof. Dr. Klaus RIEDELBERGER (University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria)

Prof. Dr. Korhan ALTUNBAŞ (Afyon Kocatepe Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Mehmet Bozkurt ATAMAN (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Mustafa GARİP (Selçuk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Münir AKTAŞ (Fırat Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Nuh KILIÇ (Adnan Menderes Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Oğuz KUL (Kırıkkale Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Oktay GENÇ (Ondokuz Mayıs Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Özcan ÖZGEL (Mehmet Akif Ersoy Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Rahşan ÖZEN (Fırat Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Sinan AKTAŞ (Atatürk Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Staffan BENSCH (University of Lund, Vilnius, Lithuania)

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI (Balıkesir Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Taylan AKSU (Yüzüncü Yıl Üniv. Vet. Fak.)

Prof. Dr. Thomas RÜLİCKE (University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria)

Prof. Dr. Thomas WITTEK (University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria)

Yazışma Adresi / Correspondence

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Dergisi Editörlüğü
38039-Kayseri / TÜRKİYE

http://ercivet.erciyes.edu.tr

E-posta : ercivet@gmail.com

Tel : 0 352 339 94 84

Fax : 0 352 337 27 40

Yayın Türü / Publication Type: Yaygın süreli ve hakemli/ Common term and peer reviewed

Mizanpaj / Designer: Erhan GÜMÜŞ

Basım / Print: Erciyes Üniversitesi Matbaası, Melikgazi/KAYSERİ

ISSN-1304-728

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES

- Kadınların Eğitim Düzeyleri ile Hayvansal Gıdaları Satın Alma ve Pişirme Uygulamaları Arasındaki İlişki..... 160**
The Relationship between Women's Education Levels and Animal Foods Purchasing and Cooking Practices
H. ÖZLÜ
- Brucella ovis*'in Serolojik Tanısı Amacıyla Farklı Antijenlerin Kullanıldığı Bir In House Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Prototipinin Geliştirilmesi..... 168**
Development of an In House Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Prototype Using Different Antigens for Serological Diagnosis of *Brucella ovis*
O. KESKİN, A.M. SAYTEKİN, A. GÜLLÜ YÜCETEPE, O.Y. TEL, S. ERDENLİĞ GÜRBİLEK
- Histological Structure of Esophagus and Histochemical Profile of Mucins in Glands in Partridge (*Alectoris chukar*) 175**
Keklikte (*Alectoris chukar*) Özofagus'un Histolojik Yapısı ve Bezlerdeki Müsinlerin Histokimyasal Profili
N. AYDIN, M.E. AKBALIK, U. TOPALOĞLU, B. BAYRAM
- Evaluation of Oxidative Stress in Sheep with *Toxoplasma gondii* by Malondialdehyde, Glutathione Levels, Total Oxidant Status, Total Antioxidant Capacity and Oxidative Stress Index Markers..... 182**
Toxoplasma gondii'li koyunlarda Oksidatif Stresin Glutasyon, Malondialdehit Düzeyi, Oksidatif Stres İndeksi, Toplam Oksidan Durumu ve Toplam Antioksidan Kapasitesi Kullanılarak Değerlendirilmesi
N. ULAŞ, M.S. AKTAŞ, K.E. YANAR, Ö. AYDIN, M.S. EROĞLU, E. EREN
- Toplu Yemek Üretimi Yapan Bir İşletmede Personel ve Gıda Temas Yüzeylerinin Mikrobiyolojik Yönden Değerlendirilmesi..... 189**
Microbiological Evaluation of Personnel and Food Contact Surfaces in a Mass Meal Production Plants
N. GÜZEL, N. ERTAŞ ONMAZ
- Elazığ İlindeki Koyun Yetiştiricilerinin Sosyodemografik Durumu ve İşletmelerdeki Hayvan Sağlığı Faaliyetleri..... 195**
Sociodemographic Status of Breeders and Animal Health Features of Sheep Farms in Elazığ Province
S. KUL, İ. ŞEKER, A. KÖSEMAN
- Qualitative Determination of Bisphenol A and Phthalate Residues in Drinking Water Alternatives in Kayseri Province of Türkiye..... 203**
Türkiye'nin Kayseri İli İçme Suyu Alternatiflerinde Bisfenol A ve Ftalat Kalıntılarının Kalitatif Olarak Belirlenmesi
Ş. MERDİM, Y. YILDIRIM, İ. AYDIN
- Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Asidik Deri Yanıklarında Uygulanan Ozon Tedavisinin Klinik Etkinliğinin Araştırılması..... 210**
Investigation of the Clinical Effectiveness of Ozone Therapy on Experimental Acidic Skin Burns in Rats
N.E. ASLAN, H. EROL, E. BALCIOĞLU
- Sağlıklı ve İshalli Buzağılarda İndirekt Osilometrik Yöntemle Ölçülen Kan Basıncı Değerlerinin Karşılaştırılması..... 220**
Comparison of Blood Pressure Values Measured by Indirect Oscillometric Method in Healthy and Diarrheic Calves
Ö. DENİZ, G. EKİCİ, M. ÇİTİL

DERLEMELER / REVIEW ARTICLES

- Köpeklerde İmmun Aracılı Göz Hastalıkları..... 226**
Immune-Mediated Eye Diseases in Dogs
İ. ERGİN, K. G. ÇETİN
- Şap Hastalığında Taşıyıcılık..... 233**
Carrier Status in Foot-and-Mouth Disease
B. SAREYYÜPOĞLU



Kadınların Eğitim Düzeyleri ile Hayvansal Gıdaları Satın Alma ve Pişirme Uygulamaları Arasındaki İlişki

Hayrunnisa ÖZLÜ^{1,a}

¹Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Erzurum-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000 0002 5007 6121

Corresponding author: Hayrunnisa ÖZLÜ; E-posta: hayrunnisa@atauni.edu.tr

How to cite: Özlü H. Kadınların eğitim düzeyleri ile hayvansal gıdaları satın alma ve pişirme uygulamaları arasındaki ilişki. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):160-167

Öz: Süt, et, yumurta ve ürünleri gibi hayvansal gıdaların satın alınması ve pişirilmesi konusundaki bilgi, tutum ve uygulamalar, gıda kaynaklı hastalıkların oluşmasını önlemede anahtar faktörler olabilmektedir. Bu çalışmada günde en az bir kez evinde yemek yapan kadınların hayvansal gıdaları satın alma ve pişirme uygulamalarının eğitim düzeyleri ile ilişkisini belirlemek amaçlanmıştır. Bu kesitsel çalışmaya Erzurum ili'nin merkez ilçelerinde yaşayan toplam 400 kadın katılmıştır. İlkokul ve ortaokul mezunu kadınların gıda ürünü satın alımında önceliği ürünün fiyatı olarak belirlenirken üniversite mezunlarının ürünün markasına dikkat ettiği belirlenmiştir ($P<0.001$). Katılımcıların büyük çoğunluğu (%78.5) peynir satın alımında peynirin kalite özelliklerinden tat ve dokusunu önemli bir kalite kriteri olarak dikkate almıştır. Kadınların en çok tercih ettikleri et pişirme yöntemlerinin haşlama (%47.5) ve kavurma (%35.8) olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte et pişirmede üniversite mezunu kadınların en fazla tercih ettikleri yöntemin fırında pişirme, en az tercih ettikleri yöntemin ise kuru baklagillerle pişirme ($P<0.001$) olduğu ortaya konmuştur. Katılımcılardan üniversite mezunu kadınlar yumurtayı kayısı pişirmeyi, ortaokul mezunları rafadan pişirmeyi ve ilkököl mezunları çok katı pişirmeyi tercih ettikleri tespit edilmiştir. Bu çalışma, kadınların eğitim düzeyi ile gıdaları satın alırken dikkate aldıkları özellikler ve tercih ettikleri pişirme yöntemleri üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Çalışma sonucunda eğitim düzeyinin beslenme ile ilgili doğru tutum ve davranışlara yol açtığı saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Eğitim düzeyi, hayvansal gıdalar, satın alma, pişirme

The Relationship between Women's Education Levels and Animal Foods Purchasing and Cooking Practices

Abstract: Knowledge, attitudes and practices about purchasing and cooking animal foods such as milk, meat, eggs and their products can be main factors in preventing the occurrence of food borne diseases. In this study, it was aimed to determine the relationship between the educational levels of women who cook at home at least once a day and their practices of purchasing and cooking animal foods. A total of 400 women living in the central districts of Erzurum province participated in this cross-sectional study. It was determined that while the priority of primary and secondary school graduate women in purchasing food products was determined as the price of the product, university graduates paid attention to the brand of the product ($P<0.001$). The majority of the participants (78.5%) considered the taste and texture of cheese as an important quality criterion when purchasing cheese. It was detected that the most preferred meat cooking methods of women were boiling (47.5%) and roasting (35.8%). On the other hand, it has been revealed that the university graduate women's most preferred method of cooking meat is baking in the oven, and the least preferred method is cooking with dried legumes ($P<0.001$). Among the participants, it was determined that university graduate women preferred to cook eggs apricots; secondary school graduates preferred to boil them soft, and primary school graduates preferred to boil them very hard. This study has shown that women's educational level has an effect on the characteristics they consider when purchasing foods and the cooking methods they prefer. As a result of the study, it was determined that the level of education led to the right attitudes and behaviors related to nutrition.

Keywords: Animal foods, cooking, educational level, purchasing

Giriş

Hayvansal gıdalar; yüksek kaliteli protein, vitamin ve mineraller bakımından zengin olmalarından dolayı yeterli ve dengeli beslenmede önemli bir yere sahiptir (Williams, 2007). Bununla birlikte bu gıdalar yüksek besin içeriği ve yüksek su aktivitesi nedeniyle mikro-

organizmaların çoğalması için elverişli bir ortam oluşturur (Odeyemi ve ark., 2020). Dolayısıyla bu ürünlerin gıda güvenliğine uygun olmayan şekilde işlenmesi ve saklanması kolayca bozulmalarına, besin kayıplarına, tat, doku veya renk üzerinde olumsuz etkileri olan toksik bileşiklerin oluşumuna yol açabilir (Çetin ve Şahin, 2017).

Bilgi eksikliği ve yanlış alışkanlıkların eşlik ettiği hijyenik olmayan bir mutfakta, gıdaların sağlıklı bir şekilde

hazırlanması, pişirilmesi ve saklanması imkansızdır (Önay Derin ve ark., 2016). Gıda kaynaklı hastalık veri toplama sistemleri, genellikle seyrek görülen ev kaynaklı enfeksiyonları dikkate almamış olsa da, birçok gıda kaynaklı hastalık vakasının tüketicilerin gıdaları kendi mutfaklarında uygun olmayan yöntemler kullanarak gıdaları hazırlamaları sonucu meydana geldiği kabul edilmektedir (Byrd-Bredbenner ve ark., 2013).

Gıdaların hazırlanması ve pişirilmesi sırasında yapılan yanlış uygulamalar gıda kaynaklı hastalıkların yanı sıra gıdaların besin içeriği ve duyuşsal özelliklerinde de istenmeyen değişikliklere neden olabilmektedir (Leygonie ve ark., 2012). Yanlış ısı uygulamaları gıdada proteolize, lipolize, lipid oksidasyonuna, ısıya ve oksidasyona duyarlı vitaminlerin veya suda çözünen minerallerin kaybına sebep olabilir (Juárez ve ark., 2010). Buna karşın gıdanın yapısına uygun pişirme yönteminin uygulanması gıdanın besin kaybını azaltmakta, duyuşsal özelliklerini iyileştirmekte ve hijyenik kalitesini artırmaktadır (Dong ve ark., 2018).

Gıdaların satın alınması ve pişirilmesi cinsiyete, eğitim durumuna, yaşanan bölgeye ve çalışma durumuna göre farklılıklar göstermektedir (Ayaz ve Bilici, 2007; Flagg ve ark., 2014). Ancak çok az sayıda çalışma direkt cinsiyet ve eğitim üzerine odaklanmıştır. Günümüzde kadının eğitim ve işgücü piyasasına daha etkin bir şekilde katılıyor olması gıdaları satın almanın yansıya ev ve mutfaktaki geleneksel sorumluluğunu azaltmamıştır. Pek çok toplumda kadınların, uygun yiyecek işleme ve saklama yöntemleri konusunda erkeklerden daha fazla bilgiye sahip oldukları ve eğitim seviyelerindeki artışla birlikte gıda güvenliği konusunda farkındalığın da arttığı görülmüştür (Unusan, 2007).

Kadının mutfakta yemek hazırlama, pişirme vb. işlemleri üstlenmesiyle birlikte kadın ailede ortaya çıkabilecek gıda kaynaklı hastalıklardan sorumlu kişi haline getirmiştir (Sanlier ve Baser, 2020). Mutfakta kadının gıdaları hazırlarken yapacağı yanlış uygulamalar yiyeceklerin besin öğelerinde kayıplara, aile bireylerinin yetersiz ve dengesiz beslenmesine, gıda kaynaklı hastalıklara ve ekonomik kayıplara neden olma riskini daha da artırmıştır (Byrd-Bredbenner ve ark., 2013; Zhou ve ark., 2010) Bütün bu endişelere rağmen ev mutfaklarında gıda güvenliği ile ilgili araştırmalar oldukça yetersizdir.

Bu çalışmada ailenin beslenmesinde önemli bir yere sahip olan kadınların mutfak öncesi ve mutfak pratiklerini belirleyerek yanlış yöntem ve uygulamalarına karşı tedbir ve önerileri ortaya koymak için Erzurum ilinde farklı eğitim düzeyine sahip kadınların hayvansal gıdaları satın alma ve pişirme uygulamaları hakkındaki bilgi, tutum ve davranışları incelenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Tanımlayıcı ve kesitsel tipte planlanan bu çalışma Ocak 2020-Mayıs 2020 tarihleri arasında Erzurum merkez ilçelerindeki kentsel alanlarda yaşayan kadınlarla yüz yüze anket yöntemiyle gerçekleştirildi. Çalışma evreni 2019 yılı TÜİK verilerine göre Erzurum merkez ilçelerindeki 214902 kadından oluşmaktadır. Kadınların %50'sinin mutfak pratikleri hakkında bilgi sahibi olabileceği varsayılarak örneklem büyüklüğü %95 güven aralığı, %5 hata payı ile 384 kişi olarak belirlendi. Ancak ankete katılımın tam olarak gerçekleşmeyeceği düşünülerek katılımcı sayısı 400 olarak belirlendi ve bütün katılımcılarla görüşme gerçekleştirildi. Anket formu iki bölümden oluşmakta olup ilk bölümde katılımcılara ait demografik bilgileri belirlemeye yönelik sorular bulunmaktadır. İkinci bölüm ise katılımcıların gıdaları satın alma ve pişirme uygulamalarını ortaya koymak için farklı sorularda oluşmaktadır. Ayrıca anket formunun ikinci bölümde katılımcıların gıda ürünlerini satın alınırken dikkate aldıkları faktörleri belirlemek amacıyla beşli Likert ölçeği (1: Önemli Değil, 2: Biraz Önemli, 3: Ne Önemli Ne De Önemli, 4: Önemli, 5: Çok Önemli) tercih edildi.

Anket formları vasıtasıyla elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS 26.0 paket programı kullanıldı. Verilerin frekans, yüzde dağılımları, aritmetik ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanarak tablolarda verildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu çarpıklık ve basıklık değerleri, histogram ve Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Normal dağılış göstermeyen değişkenlere KruskalWallis testi, normal dağılış gösteren değişkenlere Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) uygulanarak gruplar arasında fark olup olmadığı belirlendi. İki den fazla gruplar arası karşılaştırmada Post Hoc testlerinde eşit örneklem sayısı ilkesini gerektirmediği için homojen gruplarda Tukey testi, homojen olmayan gruplarda Tamhane's T2 testi kullanıldı. Kategorik değişkenler için Pearson Chi-Square Testi (χ^2) kullanıldı. Anlamli ilişki bulunan test sonuçlarında ikili karşılaştırmalarda Bonferroni testi yapıldı. Hata düzeyi 0.05'ten küçük değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Katılımcıların sosyodemografik özelliklerinin eğitim düzeyine göre dağılımı Tablo 1'de verildi. Bu çalışma 21-66 yaş aralığında 400 kadınla yapıldı. Kadınların yaş ortalaması 37.44 ± 10.08 olup yalnızca %8'i 50 yaş üzerindedir. Elli yaş üzerindeki kadınların çoğunluğu (%15.5) ilkökul mezunu, 21-30 yaş aralığındaki kadınların büyük çoğunluğu ise (%71.4) üniversite mezunuydu. Ankete katılan kadınların %80'inden fazlasının evli olduğu ve en yüksek evlilik oranı %94 ile ilkökul mezunlarında görüldü. Katılımcıların ailelerindeki birey sayısı en az iki, en fazla dokuz kişiden oluşmaktaydı. Katılımcıların yaklaşık %75'inin ailelerindeki birey sayısının 3-5 aralığında olduğu ve en

yüksek birey sayısı %31.0 ile ilkökul mezunu kadınların ailelerinde olduğu tespit edildi. Katılımcıların yarıdan fazlasının (%55.0) aylık geliri 2000-4000 TL arasında olduğu görüldü. Aylık geliri 6000 TL'nin üzerinde olan üniversite mezunu oranı %13.2 iken ilkökul mezunlarının yalnızca %2.4'ünün aylık gelirlerinin 6000 TL'nin üzerinde olduğu belirlendi. İlkokul mezunu kadınların %90.5'i ücret karşılığı herhangi bir işte çalışmazken üniversite mezunu olanların yalnızca %27.5'i çalışmamaktaydı (Tablo 1).

Katılımcıların gıdaları satın almalarında etkili olan faktörler Tablo 2'de, hayvansal gıdaları satın alırken dikkate aldıkları özellikler Tablo 3'te ve hayvansal gıdaların pişirilmesine yönelik uygulamalar Tablo 4'te verildi.

Tablo 1. Katılımcıların sosyodemografik özelliklerinin eğitim düzeyine göre dağılımı

Özellik	Ölçüt	Eğitim Düzeyi									
		İlkokul (n=84)		Ortaokul (n=92)		Lise (n=133)		Üniversite (n=91)		Toplam (n=400)	
		Frekans	%	Frekans	%	Frekans	%	Frekans	%	Frekans	%
Yaş aralığı	21-30	2	2.4	22	23.9	38	28.6	65	71.4	127	31.8
	31-40	22	26.2	32	34.8	53	39.8	16	17.6	123	30.8
	41-50	47	56.0	28	30.4	38	28.6	5	5.5	118	29.5
	50<	13	15.5	10	10.9	4	3.0	5	5.5	32	8.0
Medeni durumu	Evli	79	94.0	82	89.1	117	88.0	43	47.3	321	80.3
	Bekar	5	6.0	10	10.9	16	12.0	48	52.7	79	19.8
Gelir düzeyi	<2000 TL	22	26.2	30	32.6	14	10.5	13	14.3	79	19.8
	2001-4000	52	61.9	54	58.7	86	64.7	28	30.8	220	55.0
	4001-6000	8	9.5	8	8.7	29	21.8	38	41.8	83	20.8
	6000<	2	2.4	0	0.0	4	3.0	12	13.2	18	4.5
İş durumu	Çalışmayan	76	90.5	82	89.1	102	76.7	25	27.5	285	71.3
	Çalışan	8	9.5	10	10.9	31	23.3	66	72.5	115	28.7
Aile birey sayısı	<3	6	7.1	10	10.9	6	4.5	15	16.5	37	9.3
	3-5	52	61.9	72	78.3	111	83.5	62	68.1	297	74.3
	5<	26	31.0	10	10.9	16	12.0	14	15.4	66	16.5

Tablo 2. Katılımcıların gıda ürünlerini satın alınırken dikkate alınan faktörlere eğitim düzeyinin etkisi

Faktörler	Eğitim Durumu									
	İlkokul (n=84)		Ortaokul (n=92)		Lise (n=133)		Üniversite (n=91)		Toplam (n=400)	
	Ort.±Std. S.	Ort.±Std. S.	Ort.±Std. S.	Ort.±Std. S.	Ort.±Std. S.	Ort.±Std. S.	Ort.±Std. S.	Ort.±Std. S.	P	
Fiyat	4.36±0.67b	4.27±0.88b	4.18±0.81ab	4.00±0.86a	4.20±0.82	*				
Marka	3.92±1.08a	4.02±1.05a	4.19±0.80ab	4.41±0.74b	4.12±0.96	***				
Besin içeriği	3.51±1.17a	3.84±1.02ab	3.84±1.22ab	4.16±0.87b	3.85±1.11	***				
Ambalaj materyali	3.71±1.17a	3.68±1.21a	4.18±1.12b	3.81±1.04ab	3.84±1.16	**				
Ambalajın hasarlı olması	4.13±1.02a	4.28±1.00ab	4.42±0.85ab	4.55±0.81b	4.36±0.92	*				
Allerjen madde içeriği	3.21±1.24a	3.49±1.17a	3.44±1.36a	4.08±1.18b	3.55±1.28	***				
Lezzet	4.08±0.93	4.35±0.99	4.32±0.78	4.36±0.81	4.29±0.88	*				
Sağlık açısından güvenilir olması	4.15±0.92	4.41±0.85	4.35±0.88	4.33±0.87	4.32±0.88					
Etiket bilgileri	3.83±1.21	3.89±1.17	3.99±1.02	4.03±1.14	3.94±1.14					
Son kullanma tarihi	4.31±1.05	4.39±0.93	4.31±1.13	4.54±0.78	4.38±0.99					
Promosyon	3.27±1.27	3.59±1.36	3.27±1.33	3.07±1.26	3.30±1.32					

*:P<0.05. **:P<0.01. ***:P<0.001; Ort: Ortalama; Std. S: Standart sapma

Tablo 3. Katılımcıların hayvansal gıdaları satın alırken dikkate alınan özelliklere eğitim düzeyinin etkisi

Gıda	Özellik	Eğitim düzeyi					Gruplar arası anlamlı fark
		İlkokul (n=84) (A) Frekans (%)	Ortaokul (n=92) (B) Frekans (%)	Lise (n=133) (C) Frekans (%)	Üniversite (n=91) (D) Frekans (%)	Toplam (n=400) Frekans (%)	
Süt	Ambalajlı	14 (16.7)	16 (17.4)	22 (16.5)	19 (20.9)	71 (17.8)	
	Açık	70 (83.3)	76 (82.6)	111 (83.5)	72 (79.1)	329 (82.3)	
		$\chi^2=0.819$	sd=3	P=0.845			
Peynir ¹	Pastörize olması	28 (33.3)	42 (45.7)	61 (45.9)	45 (49.5)	176 (44.0)	
	Gözenek büyüklüğü	8 (9.5)	4 (4.3)	22 (16.5)*	9 (9.9)	43 (10.8)	C-B
	Yumuşaklık	15 (17.9)	29 (31.5)	36 (27.1)	22 (24.2)	102 (25.6)	
	Tuzluluk derecesi Tat ve doku	36 (42.9)	30 (32.6)	66 (49.6)	36 (39.6)	168 (42.0)	
		70 (83.3)	76 (82.6)	88 (66.2)*	80 (87.9)	314 (78.5)	C-A C-B C-D
		$\chi^2=44.243$	sd=15	P<0.001			
Et ve Et Ürünleri ¹	Renk	48 (57.1)	58 (64.4)	91 (68.4)	66 (72.5)	263 (66.1)	
	Koku	46 (54.8)	51 (56.7)	77 (57.9)	63 (69.2)	237 (59.5)	
	Etiket bilgileri	45 (53.6)	50 (55.6)	82 (61.7)	62 (68.1)	239 (60.1)	
	Yağlı olması	29 (34.5)	29 (32.2)	38 (28.6)	23 (25.3)	119 (29.9)	
		$\chi^2=28.014$	sd=15	P=0.059			
Balık ¹	Renk	31 (36.9)	48 (52.2)	67 (50.4)	52 (57.1)*	198 (49.5)	D-A
	Koku	37 (44.0)	50 (54.3)	81 (60.9)	62 (68.1)**	230 (57.5)	D-A
	Gözlerin canlı parlak olması	66 (78.6)	67 (72.8)	121 (91.0)**	75 (82.4)	329 (82.3)	C-B
	Solungaçların kırmızı olması	30 (35.7)	34 (37.0)	62 (46.6)	31 (34.1)	157 (39.3)	
		$\chi^2=37.207$	sd=12	P<0.001			
Yumurta ¹	Kırık, çatlak, kirli olmaması	50 (59.5)	66 (71.7)	108 (81.2)**	73 (80.2)*	297 74.8	C-A D-A
	Günlük olması	57 (67.9)	67 (72.8)	79 (59.4)	53 (58.2)	256 64.0	
	Büyüklik	15 (17.9)	31 (33.7)	39 (29.3)	38 (41.8)**	123 30.8	D-A
		$\chi^2=33.313$	sd=9	P<0.001			

¹Sorulara birden fazla cevap verilmiştir; χ^2 : Ki-Kare değeri; sd: Serbestlik derecesi; *:P<0.05; **: P<0.01

Tablo 4. Katılımcıların hayvansal gıdaları pişirmeye yönelik uygulamalarına eğitim düzeyinin etkisi

		Eğitim düzeyi					Gruplar arası anlamlı fark
		İlkokul (n=84) (A)	Ortaokul (n=92) (B)	Lise (n=133) (C)	Üniversite (n=91) (D)	Toplam (n=400)	
		Frekans (%)	Frekans (%)	Frekans (%)	Frekans (%)	Frekans (%)	
Sütlü tatlı pişirirken şekeri ne zaman ilave edersiniz?	Süt kaynama- dan önce	12 (14.3)	16 (17.4)	39 (29.3)	30 (33.0)*	97 (24.3)	D-A
	Süt kaynayınca	29 (34.5)	21 (22.8)	57 (42.9)**	21 (23.1)	128 (32.0)	C-B C-D
	Tatlının ocaktan inmesine yakın	27 (32.1)**	23 (25.0)	18 (13.5)	21 (23.1)	89 (22.2)	A-C
	Fark etmez	16 (19.0)	32 (34.8)*	19 (14.3)	19 (20.9)	86 (21.5)	B-C
		$\chi^2=38.834$	sd=9	P<0.001			
¹Etleri pişirmede en çok hangi yöntemi kullanırsınız?	Kızartma	11 (13.1)	8 (8.7)	26 (19.5)	7 (7.7)	52 (13.0)	
	Kavurma	27 (32.1)	24 (26.1)	54 (40.6)	38 (41.8)	143 (35.8)	
	Haşlama	48 (57.1)	39 (42.4)	68 (51.1)	35 (38.5)	190 (47.5)	
	Fırın	8 (9.5)	4 (4.3)	16 (12.0)	16 (17.6)*	44 (11.0)	D-B
	Izgara	2 (2.4)	4 (4.3)	20 (15.0)*	10 (11.0)	36 (9.0)	C-A
	Kuru baklagiller	21 (25.0)*	13 (14.1)	35 (26.3)*	9 (9.9)	78 (19.5)	A-D
	Sebzeler	22 (26.2)	29 (31.5)	34 (25.6)	14 (15.4)	99 (24.8)	C-D
		$\chi^2=64.695$	sd=21	P<0.001			
Yumurta nasıl pişirirsiniz?	Rafadan	28 (33.3)*	34 (37.0)**	37 (27.8)	14 (15.4)	113 (28.3)	A-D B-D
	Kayı	25 (29.8)	26 (28.3)	60 (45.1)	60 (65.9)**	171 (42.8)	D-A D-B D-C
	Çok katı	31 (36.9)*	32 (34.8)	36 (27.1)	17 (18.7)	116 (29.0)	A-D
		$\chi^2=34.408$	sd=6	P<0.001			

¹Sorulara birden fazla cevap verilmiştir.

χ^2 : Ki-Kare değeri; sd: Serbestlik derecesi

*:P<0.05; **: P<0.01

Tartışma ve Sonuç

Gıda ürünlerinin satın alınmasında etkili olan faktörler

Gıda ürünleri satın alınırken ambalaj, fiyat, tat, besin içeriği ve son kullanma tarihi gibi birçok faktör göz önünde bulundurulmaktadır. Gıda etiketlerinde tüketicileri bilgilendirmek ve satışına yardımcı olmak amacıyla ürünün adı, bileşimi, son kullanım tarihi ve süresi, fiyatı, menşei ve alerjiye veya intoleransa neden olan maddelerin bilgisi yer almaktadır. Yapılan birçok çalışmada tüketicilerin gıdaları satın alma kararlarında etiket bilgilerinin etkili olduğu bildirilmiştir (Bandara ve ark., 2016; Hawley ve ark., 2013; Osei ve ark., 2013).

Bu çalışmada kadınların gıda ürünü satın alırken fiyatına, markasına, besin içeriğine, ambalaj materyaline, ambalajının zarar görmemesine ve alerjen madde içermemesine dikkate almada eğitim düzeyinin

istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Gıda ürünü satın alırken ürünün fiyatına ilkökul ve ortaokul mezunu olan kadınların üniversite mezunlarından daha fazla dikkat ettikleri belirlendi (P<0.05). Bu çalışmada ürünün fiyatı, gıdayı satın almada tüketiciler açısından önemli bir kriter olmasına karşın başka bir çalışmada katılımcıların yalnızca %16'sının satın alma kararını etkileyen tek şeyin ürünün fiyatı olduğu bildirilmiştir (Aygen, 2012). Diğer taraftan yaptığımız çalışmada üniversite mezunu kadınların gıda ürünü satın alırken ürünün fiyatından çok markasına dikkat ettikleri ve bu noktada ilkökul ve ortaokul mezunlarından zıt bir tutum sergiledikleri belirlenmiştir (P<0.001). Liu ve Niyongira (2017) tarafından yapılan çalışma, ürün satın almada fiyatına ve markasına dikkate etme noktasında eğitim düzeyinin etkisi bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla benzerlik göstermiştir.

Gıda etiketleri üzerindeki beslenme bilgileri, ürünün besin içeriği yönünden önemli bir bilgi kaynağıdır. Bu

çalışmada katılımcıların gıdaları satın alırken ürünün besin içeriğine üniversite mezunu kadınların yalnızca ilkokul mezunlarından daha fazla dikkat ettiği saptanmıştır ($P<0.001$).

Bir gıda ürünü satın alınırken satın alma kararını etkileyen faktörlerden birisi de ürünün ambalajıdır. Özellikle ambalajın şekli ve malzemesi sanki ürün kaliteliymiş gibi bir algı oluşturarak tüketicinin satın alma kararlarını etkilemekte, ambalajı zarar gören ürüne veya markaya karşı tüketicinin güveni istikrarlı bir şekilde azaltmaktadır (Mazhar ve ark., 2015). Yaptığımız çalışmada hem ambalaj materyalinin ($P<0.01$), hem de ambalajın zarar görmesinin ($P<0.05$) kadınların gıdaları satın almasında etkili olduğu belirlenmiştir. Bir ürün satın alırken ambalajlamada kullanılan malzemenin özelliğine, lise mezunu kadınların ilkokul ve ortaokul mezunlarından daha fazla dikkat ettiği, ürün ambalajının hasarlı olmasına ilkokul mezunu kadınların sadece üniversite mezunlarından daha az dikkat ettiği belirlenmiştir.

Bazı hayvansal gıdaların satın alınmasında dikkate alınan özellikler

Son zamanlarda, özellikle gelişmekte olan ülkelerde artan tüketici bilinci ile birlikte gıda satın almada kalitenin, ürünün fitayından daha ön planda tutulduğu rapor edilmektedir (Damaziak ve ark., 2019). Organoleptik kalite, gıda kalitesinin en önemli yönlerinden biridir ve tüketicinin satın alma tercihinde etkili olabilmektedir. Gıdaların tat, koku ve dokularına karşı olan duyuşsal algılar tüketici tercihlerini ve memnuniyetini etkileyen faktörler arasındadır (Tuorila ve Monteleone, 2009).

Açıkta ve soğutma düzeneği olmayan araçlarda veya ortamlarda satılan süt; nötre yakın pH'sının olması (6.4-6.7), yüksek su aktivitesi ve yüksek besin içeriğinden dolayı mikroorganizmaların gelişmesi için uygun bir ortam oluşturarak kolayca bozulmasına neden olur (Machado ve ark., 2017; Odeyemi ve ark., 2020). Bu çalışmada kadınların %82.3'ü açık süt almayı tercih ettiği öte yandan yalnızca %17.8'inin ambalajlı süt aldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın aksine İstanbul'da yapılan bir çalışmada katılımcıların sadece %26.5'inin açık süt, %26.2'sinin pastörize süt ve %87.7'sinin ise UHT süt tükettiği bildirilmiştir (Karakaya ve Akbay, 2014). Alışkanlıklar, yanlış ve eksik bilgiler, sosyoekonomik ve demografik özellikler, satıcıya güven duyulması veya satıcının tanıdık bir kişi olması gibi sebepler tüketicilerin açık süt almalarını etkilemektedir.

Peynirin kendine has tat, koku ve görünümde olması önemli kalite özelliklerinden olup tüketicilerin satın alma tercihlerini etkilemektedir (Wadhvani ve McMahon, 2012). Bu çalışmada peynir satın alımında katılımcıların büyük çoğunluğu (%78.5) peynir satın alımında peynirin kalite özelliklerinden tat ve dokusunu

kalite kriteri olarak değerlendirirken yalnızca %10.8'inin gözenek büyüklüğünü dikkat aldığı görülmüştür. Katılımcıların eğitim seviyesinin peynir satın alma kararlarını etkilediği belirlenmiştir ($P<0.001$). Peynirin kalite kriterlerinden tat ve dokusunu lise mezunu kadınların diğer gruplardan daha az dikkate almasına karşın gözenek büyüklüğüne lise mezunu kadınların daha fazla dikkat ettiği görülmüştür.

Kalitenin yanı sıra gıda güvenliği de tüketicinin gıda seçiminde önemli bir unsurdur (van Rijswijk ve Frewer, 2008). Ancak çalışmamızda kadınların %78.5'i peynir satın alma tercihinde tat ve dokusunu dikkate aldığı, yalnızca %44.0'unun pastörize süttten üretilen peynirleri satın almayı tercih ettiği belirlenmiştir. Bu durum tüketicilerin gıda satın alırken gıda güvenliğinden ziyade diğer niteliklere önem verdiklerini göstermektedir.

Tüketicilerin et ve et ürünlerini satın alma kararlarında tadından önce etin görünümü daha etkilidir (Carpenter ve ark., 2001). Renk, tüketicilerin et ve et ürünlerini satın alma kararını etkileyen ilk ve tek faktör olmasının yanı sıra ürünün tazeliğine ilişkin algıları da etkilemektedir. Diğer taraftan etin yağ içeriği tüketici açısından et kalitesinin iyi bir göstergesi olmayıp etin yağ içeriğini dikkate almada geleneksel yeme alışkanlıkları önem arz etmektedir (Ristić ve ark., 2017). Bu çalışmada et ve et ürünlerini satın almada renk, katılımcıların %66.1'nin ilk tercih sebebiyken, yağlı olmasının %29.9'unun tercihinde etkili olduğu görülmüştür.

Balığın kabul edilebilirliği ve tüketici düzeyinde satın alma kararı organoleptik kalitesiyle belirlenmektedir. Balığın veya bir balık ürününün organoleptik kalitesi görünümü, lezzeti, kokusu ve dokusu gibi tüm özelliklerinin bir arada değerlendirilmesiyle yapılabilmektedir (Pelebe, 2020). Bu çalışmada balık satın alırken katılımcıların büyük bir çoğunluğunun (%82.3) gözlerinin canlı ve parlak olmasına dikkat ettiği bunu sırasıyla kokusu (%57.5), rengi (%49.5) ve solungaç kırmızılığının (%39.3) takip ettiği belirlenmiştir. Balık satın alınırken kokusu ve rengine dikkat etmede üniversite mezunu kadınların ilkokul mezunlarından önemli derecede farklılık gösterdiği, balığın gözlerinin canlı ve parlak olmasına dikkat etmede lise mezunu kadınların ortaokul mezunlarından önemli derecede farklı ($P<0.001$) olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada katılımcıların %74.8'inin yumurta satın alırken kırık, çatlak, kirli olmamasına dikkat etmekte olduğu saptanmıştır. İkokul mezunlarının yumurta satın alırken hem kırık, çatlak, kirli olmaması hem de büyüklüğüne diğer gruplardan daha az dikkat ettikleri belirlenmiştir ($P<0.001$).

Gıdaların pişirilmesine yönelik uygulamalar

Gıdaların uygun yöntemlerle pişirilmesi, besin kayıplarını en aza indirir ve gıdanın yenme özelliklerini

iyileştirir (Dong ve ark., 2018). Diğer taraftan pişirme sırasında uygulanan ısı işlem; gıdanın mikrobiyal yükünü azaltarak gıda güvenliğini artırır ve gıdanın duyuşal özelliklerini iyileştirmesine katkı sağlar. Ancak aşırı pişirme işlemi gıdalarda arzu edilmeyen duyuşal özelliklerin oluşumuna, besin değerlerinde kayıplara ve çeşitli toksik, mutajenik ve kanserojenik bileşiklerin oluşumuna neden olabilir (Bayındır Gümüş ve Yardımcı, 2019).

Enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu olarak da bilinen Maillard reaksiyonu, amino asitler (örneğin, lizin, arginin) ile indirgen şekerleri (örneğin, fruktoz, glikoz) içeren gıdalarda gerçekleşen bir dizi kimyasal reaksiyondur. Bu reaksiyonun birkaç basamağında amino grupları yer aldığından, amino asitlerde önemli bir miktarda azalma meydana gelebilir. Bu durum şeker (indirgeyici bileşik) içeren gıdalarda proteinlerin ısıtılma süresi ve sıcaklığı ile pozitif ilişkilidir (Xiang ve ark., 2021). Muhallebi, sütlü ve benzeri sütlü tatlıların yapımında süt ile şekerin yüksek ısıda bir arada pişirilmesi besin ögesi kayıplarını arttırmaktadır. Bu sebeple sütlü tatlılar yapılırken şekerin tatlının ocaktan inmesine yakın bir zamanda ve en son olarak eklenmesi gerekir. Ancak bu çalışmada "Sütlü tatlı pişirirken şekeri ne zaman ilave edersiniz?" sorusuna, kadınların %22.2'si şekeri sütlü tatlıya ocaktan indirilmesine yakın ilave ettiklerini ifade etmişlerdir. Çalışan ve çalışmayan kadınlar üzerinde yapılan bir çalışmada çalışmayan kadınların %47.4'ünün, çalışan kadınların ise %29.2'sinin sütlü tatlı yaparken şekerli tatlının ocaktan inmesine yakın ilave ettikleri bildirilmiştir (Önay Derin ve ark., 2016).

Bu çalışmada katılımcıların etleri pişirmede en çok tercih ettikleri ilk iki yöntem %47.5 oranıyla haşlama ve %35.8 oranıyla kavurma olarak belirlenmiştir. Kadınların eti fırında, ızgarada ve kuru baklagillerle pişirme tercihlerine eğitim düzeyinin istatistiksel açıdan etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır ($P<0.001$). Üniversite mezunu kadınlar, etleri fırında pişirme yöntemini diğer gruplardan daha fazla tercih ederken en az tercih ettikleri yöntemin kuru baklagillerle pişirme yöntemi olduğu görülmüştür. Çalışmamızda kadınların etleri ızgarada, kuru baklagillerle ve sebzelerle birlikte pişirme yöntemlerini tercih etme oranları %25'in altında olmasına karşın Amasya'da yapılan bir çalışmada kadınların aynı pişirme yöntemlerini tercih oranlarının %70'den fazla olduğu bildirilmiştir (Koçak, 2012).

Çiğ yumurta beyazında bulunan avidin, yumurta sarısında bulunan biyotini bağlayarak vücutta kullanılmasını önler. Yumurta pişirildiğinde hem yumurtanın sindirimi kolaylaşır hem de avidin denatüre olarak biyotini bağlama özelliğini kaybeder. Bununla birlikte yumurtanın pişirilme süresi iyi ayarlanmalıdır. Çünkü yumurtayı haşlama süresinin uzaması ve yumurtanın bayat olması; yumurtanın sarısındaki demir ile beyazındaki sülfürün birleşerek yumurta sarısının etrafında yeşil bir halka (FeS halkası) oluşmasına neden

olur. Aynı zamanda uzun süre pişirilen yumurtaların sindirimi güçleşir ve besin değeri azalır (Baysal, 2015). Bu çalışmada, kadınların %42.8'inin yumurtayı kayısı olarak pişirmeyi tercih ettiği tespit edilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş kadınların yumurtayı kayısı olarak pişirmeyi tercih etme oranları %38.5 olarak rapor edilmiştir (Önay Derin ve ark., 2016). Yine çalışmamızda yumurta pişirmede eğitim düzeyinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.001$). Bu çalışmada üniversite mezunlarının %65.9'u yumurtayı kayısı pişirmeyi, ortaokul mezunlarının %37.0'sinin rafadan pişirmeyi ve ilköğretim mezunlarının %36.9'u çok katı pişirmeyi tercih ettikleri tespit edilmiştir.

Bu çalışma sonucunda kadınların eğitim düzeyi ile gıda ürünlerini satın alırken dikkate aldıkları özellikler ve pişirme yöntemleriyle ilişkili olduğu, eğitim düzeyinin beslenme ile ilgili doğru tutum ve davranışlara yol açtığı saptandı.

Kaynaklar

- Ayaz A, Bilici S. Çalışan ve çalışmayan kadınların besinleri satın alma, hazırlama ve pişirme konusundaki bilgi ve davranışları. *Bes Diy Derg* 2007; 35(2): 31-46.
- Aygen FG. Tüketicilerin besin etiketi incelenmesi konusundaki tutum ve davranışları. *İşlet Araşt Derg* 2012; 4(3): 28-54.
- Bandara BES, De Silva A, Maduwanthi BCH, Warunasinghe WAAI. Impact of food labeling information on consumer purchasing decision: with special reference to faculty of agricultural sciences. *Procedia Food Sci* 2016; 6: 309-13.
- Bayındır Gümüş A, Yardımcı H. Pişirme sonucu meydana gelen mutajenik-karsinojenik bileşikler. *Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi* 2019; 22(2): 136-41.
- Baysal A. Genel Beslenme. On Yedinci Baskı. İstanbul: Hatiboğlu Yayıncılık, 2015; ss. 180.
- Byrd-Bredbenner C, Berning J, Martin-Biggers J, Quick V. Food safety in home kitchens: A synthesis of the literature. *Int J Environ Res Public Health* 2013; 10(9): 4060-85.
- Carpenter CE, Cornforth DP, Whittier D. Consumer preferences for beef color and packaging did not effect eating satisfaction. *Meat Sci* 2001; 57:359-63.
- Çetin S, Şahin B. Gıda güvenliğinde risk faktörleri ve hijyenin önemi. *J OJOTAGS*; 5 (Special issue 2): 310-21.
- Damaziak K, Stelmasiak A, Riedel J, Zdanowska-Saşıadek Z, Buclaw M, Gozdowski D, Michalczuk

- M. Sensory evaluation of poultry meat: A comparative survey of results from normal sighted and blind people. *PLoS One* 2019; 14(1): e0210722.
- Dong X-P, Li D-Y, Huang Y, Wu Q, Liu W-T, Qin L, Zhou D-Y, Prakash S, Yu C-x. Nutritional value and flavor of turbot (*Scophthalmus maximus*) muscle as affected by cooking methods. *Int J Food Prop* 2018; 21(1): 1972-85.
- Flagg LA, Sen B, Kilgore M, Locher, JL. The influence of gender, age, education and household size on meal preparation and food shopping responsibilities. *Public Health Nutr* 2014; 17(9): 2061-70.
- Hawley KL, Roberto CA, Bragg MA, Liu PJ, Schwartz MB, Brownell KD. The science on front-of-package food labels. *Public Health Nutr* 2013; 16(3): 430-9.
- Juárez M, Failla S, Ficco, A, Peña F, Avilés C, Polvillo O. Buffalo meat composition as affected by different cooking methods. *Chem Eng Res Des* 2010; 88 (2/3): 145-8.
- Karakaya E, Akbay C. İstanbul ili kentsel alanda tüketicilerin açık ve paket süt tüketim alışkanlıkları. *TJAE* 2014; 20(1 ve 2): 17-27.
- Koçak H. Yiyecek hazırlama ve pişirme uygulamaları-Amasya örneği. *Karadeniz Sosyal Bilimler Dergisi* 2012; 4(2): 13-23.
- Leygonie C, Britz TJ, Hoffman LC. Impact of freezing and thawing on the quality of meat: Review. *Meat Sci* 2012; 91(2): 93-8.
- Liu A, Niyongira R. Chinese consumers food purchasing behaviors and awareness of food safety. *Food Control* 2017; 79: 185-91.
- Machado SG, Baglinière F, Marchand S, Van Coillie E, Vanetti MCD, De Block J, Heyndrickx M. The biodiversity of the microbiota producing heat-resistant enzymes responsible for spoilage in processed bovine milk and dairy products. *Front Microbiol* 2017; 8: 302.
- Mazhar M, Sayeda D, Bhutto S, Mubeen M. Impact of product packaging on consumers buying behavior: Evidence from Karachi. *J Mark Consum Res* 2015; 16: 35-42.
- Odeyemi OA, Alegbeleye OO, Strateva M, Stratev D. Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2020; 19(2): 311-31.
- Önay Derin D, Işık N, Erdem N. Konya il merkezinde yaşayan kadınların yiyecek hazırlama, pişirme ve saklama uygulamaları üzerine bir araştırma. *Selçuk Univ Sos Bil Enst Derg* 2016; 35: 87-101.
- Osei MJ, Lawer DR, Aidoo R. Consumers' use and understanding of food label information and effect on their purchasing decision in Ghana; A case study of Kumasi Metropolis. *Asian J Agric Rural Dev* 2013; 2(3): 1-18.
- Pelebe ROE. Organoleptic quality and consume' s acceptability of *Clarias gariepinus* raised in the Batran agricultural water reservoir (Benin) and decontaminated in tanks. *Mor J Agri Sci* 2020; 1(3): 171-5.
- Ristić M, Troeger K, Đinović-Stojanović J, Knežević N, Damjanović M. Colour and fat content as intrinsic cues for consumers attitudes towards meat product quality. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* 2017; 85: 012054.
- Sanlier N, Baser F. The relationship among food safety knowledge, attitude, and behavior of young Turkish women. *J Am Coll Nutr* 2020; 39(3): 224-34.
- Tuorila H, Monteleone E. Sensory food science in the changing society: Opportunities, needs, and challenges. *Trends Food Sci Technol* 2009; 20(2): 54-62.
- Unusan N. Consumer food safety knowledge and practices in the home in Turkey. *Food Control* 2007; 18(1): 45-51.
- van Rijswijk W, Frewer LJ. Consumer perceptions of food quality and safety and their relation to traceability. *Br Food J* 2008; 110(10): 1034-46.
- Wadhvani R, McMahon DJ. Color of low-fat cheese influences flavor perception and consumer liking. *J Dairy Sci* 2012; 95(5): 2336-46.
- Williams P. Nutritional composition of red meat. *Nutr Diet* 2007; 64(s4): 113-9.
- Xiang J, Liu F, Wang B, Chen L, Liu W, Tan S. A literature review on maillard reaction based on milk proteins and carbohydrates in food and pharmaceutical products: advantages, disadvantages, and avoidance strategies. *Foods* 2021; 10(9): 1998.
- Zhou GH, Xu XL, Liu Y. Preservation technologies for fresh meat-A review. *Meat Sci* 2010; 86(1): 119-28.



Brucella ovis*'in Serolojik Tanısı Amacıyla Farklı Antijenlerin Kullanıldığı Bir In House Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Prototipinin Geliştirilmesi

Oktaç KESKİN^{1,a}, Ahmet Murat SAYTEKİN^{1,b}, Ayfer GÜLLÜ YÜCETEPE^{1,c}, Osman Yaşar TEL^{1,d},
Sevil ERDENLİĞ GÜRBİLEK^{1,e}

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Şanlıurfa-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0002-5977-7872; ^b0000-0001-7486-8054; ^c0000-0002-9842-3305; ^d0000-0001-7848-3899;
^e0000-0002-0377-2650

Corresponding author: Ahmet Murat SAYTEKİN; E-posta: ahmetmurat.saytekin@harran.edu.tr

How to cite: Keskin O, Saytekin AM, Güllü Yücetepe A, Tel OY, Erdenliğ Gürbilek S. *Brucella ovis*'in serolojik tanısı amacıyla farklı antijenlerin kullanıldığı bir in house enzyme-link immunosorbent assay (ELISA) prototipinin geliştirilmesi. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):168-174

Öz: Bu çalışmada, *Brucella ovis*'e karşı humoral yanıtın değerlendirilmesinde kullanılmak üzere, bu bakterinin farklı antijenik fraksiyonlarından hazırlanan antijenlerin karşılaştırılmasıyla bir Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) prototipinin geliştirilmesi amaçlandı. Bu amaçla, dört farklı antijen (Hot salin ekstrakt, Rough Lipopolisakkarit, Faj lizat 1 ve Faj lizat 2), 84 koyun serum örneği ile test edildi. *Brucella ovis* açısından ELISA seropozitiflikleri, kullanılan antijenlere göre sırasıyla %14.3, %13.1, %10.7 ve %15.5 olarak saptandı. En yüksek pozitiflik oranı Faj lizat 2 ile elde edildi, ancak, *Brucella ovis*'e karşı oluşan antikorların ELISA ile belirlenmesi için kullanılan 4 farklı antijenin test sonuçları arasındaki farklılık, istatistik açıdan önemsiz ($\chi^2=0.89$; $P>0.05$) bulundu. Sonuç olarak, gelecekteki çalışmalarda, Faj lizat 2 antijeni kullanılarak ELISA ile test edilen çok daha fazla serum örneği için elde edilen sonuçların, komplement fiksasyon testi ve agar jel immunodifüzyon testi gibi standart testler ve temin edilebilecek ticari kitlerin sonuçları ile karşılaştırılmasına ihtiyaç duyulacağı ve böylece in house ELISA prototipinin ticarileşme potansiyelinin daha sağlıklı olarak değerlendirilebileceği kanısına varıldı. Ayrıca, az sayıda serum örneğiyle elde edilen seropozitiflik oranı göz önünde bulundurulduğunda, Türkiye'nin farklı bölgelerini kapsayan daha fazla sayıda serum örneği ile geniş ölçekli bir serolojik çalışmanın yapılması ile ülkemizdeki gerçek hastalık durumunun ortaya çıkarılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Brucella ovis*, ELISA, koyun

Development of an In House Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Prototype Using Different Antigens for Serological Diagnosis of *Brucella ovis*

Abstract: In this study, it was aimed to develop an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) prototype to evaluate humoral immune response against *Brucella ovis* by using different antigenic fractions from bacteria comparatively. For this purpose, four different antigens, namely Hot saline extract, Rough Lipopolysaccharide, Phage lysate 1, and Phage lysate 2 were used to test 84 sheep serum samples in ELISA. Seropositivity rates were, 14.3%, 13.1%, 10.7%, and 15.5%, respectively. Although the highest seropositivity rate was obtained by using the Phage lysate 2 antigen, it did not reach the level of statistical significance ($\chi^2=0.89$; $P>0.05$) difference between these antigens. It was concluded that in future studies, there would be a need for comparing the results of more serum samples tested in ELISA using Phage lysate 2 with the results of standard serological tests such as complement fixation test and agar gel immunodiffusion test or available commercial ELISA kit. Thus, the potential possibility of commercialization of a new in-house ELISA prototype will be evaluated more realistically. Given the seropositivity rate of *Brucella ovis* infection obtained by using a small number of serum samples, a large-scale serological study with greater serum samples from different parts of Turkey will reveal the real disease situation in our country.

Keywords: *Brucella ovis*, ELISA, sheep

Giriş

Brucella ovis'in (*B. ovis*) neden olduğu hastalık, ilk olarak 1953 yılında Avustralya'da bildirilmiştir. O günden günümüze, hastalığın Kuzey Amerika, Yeni Zelanda ve Güney Avrupa dahil olmak üzere, dünya üzerinde koyun yetiştiriciliği yapılan birçok ülkede

bulduğu sanılmaktadır. *B. ovis*, koçlarda epididimitis, koyunlarda ise plasentitis ve abort ile kendini gösteren, sürüde fertilitenin ciddi bir şekilde azalmasına neden olan genital bir hastalık etkenidir. Hastalığın dünya genelinde bir yayılım gösterdiği düşünülmektedir (Blasco, 1990). Hastalığın ülkemizdeki varlığı, yapılan az sayıdaki serolojik çalışma ile ortaya konmuş ve ELISA ve Komplement fiksasyon testi (KFT) ile %3.3 ile %65.1 arasında değişen bir seropozitiflik saptansa da (Türütoğlu, 1992; Uçan ve Aras, 2007;

Geliş Tarihi/Submission Date : 26.01.2022

Kabul Tarihi/Accepted Date : 09.05.2022

*Bu çalışma, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (HÜBAP) tarafından 19015 numara ile projelendirilerek desteklenmiştir.

Tel ve ark., 2016), *B. ovis* Türkiye'de 2018 yılına kadar hiç izole edilememiştir. Erdenliğ Gürbilek ve ark. (2018), *B. ovis*'in ülkemizdeki ilk izolasyonunu Suriye'den ülkemize gelen bir koçta gerçekleştirmişlerdir.

Dünyada ilk kez 1950'li yıllarda tanımlanan *B. ovis*, koyun yetiştiriciliğinin yapıldığı birçok ülkede koçlarda epididimitis ve koyunlarda ise plasentitis ve abortusa neden olmaktadır (Corbel, 1985). Klinik olarak infekte koçların sadece %50'sinin epididimitis tablosu göstermeleri ve aynı klinik tabloya neden olan başka diğer infeksiyöz ajanların da olması sebebiyle klinik teşhis, yeterince duyarlı bir teşhis yolu sayılmamaktadır (Blasco, 1990). Enfeksiyonun teşhisinde yapılan bakteriyolojik incelemeler daha güvenli sonuçlar vermesine rağmen izolasyon ve identifikasyonun güç ve zaman alıcı olması, etkenin üretilmesi için inkubasyon ortamına %5-10 CO₂ ilavesine ihtiyaç duyulması, etkenin semen ile her zaman çıkarılmaması gibi nedenlerle, epidemiyolojik çalışmalar genellikle serolojik testlere dayandırılmıştır (OIE, 2021). *B. ovis*, smooth *Brucella* türlerinden (*B. abortus* ve *B. melitensis*) farklı olarak hücre duvarında rough lipopolisakarit (R-LPS) yapısına sahiptir ve bu nedenle smooth *Brucella* suşları ile aglütinasyon temelli testler ile çapraz reaksiyon göstermemektedir (Moreno ve ark., 1984). Türütoğlu (1992), Konya ilinde, koçlarda bruselloz prevalansının serolojik metotlarla tespiti amacıyla yürüttüğü çalışmada, 425 adet kan serumu örneğinin, 44'ünün (%10.4) *B. ovis* antikoları yönünden pozitif, 381'inin (%89.6) negatif reaksiyon verdiğini bildirmiştir. Uçan ve Aras (2007), yaptıkları çalışmada Konya ve Sivas Bölgelerindeki koçlarda, *B. ovis* enfeksiyonunun yaygınlığını, Modifiye Mikro Pleyt Aglütinasyon Tekniği (MPAT) kullanarak belirlemek amacıyla, 35 ayrı sürüden 264 adet kan serumunu inceledikleri çalışmada, kan serumlarının 149'unu (%56.4) negatif ve 115'ini (%43.6) pozitif saptamışlardır. Tel ve ark. (2016), Şanlıurfa, Diyarbakır ve Mardin illerinden toplanan 183 kan serumunu, *B. canis* M (-) suşundan hazırlanan antijen ile test etmişler, i-ELISA ile *B. ovis* yönünden seropozitiflik oranını %3.3 olarak bulmuşlardır. Aynı serumlar ticari *B. ovis* ELISA kiti ile paralel çalışılmış ve aynı sonuçlar alınmıştır.

Hastalığın tanısı, klinik tanı, bakteri izolasyon ve identifikasyonu ve serolojik testlere bağlıdır. Klinik tanı, epididimitis ve orşitis oluşturan diğer hastalıklarla (infeksiyöz hastalık etkenleri, *B. melitensis*, *Actinobacillus seminis*, *Histophilus ovis*, *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Chlamydothila abortus* ve non-infeksiyöz travma orijinli spermatik granulom vb.) karıştığı için yeterince spesifik değildir. Diğer taraftan klinik muayenenin de yeterince duyarlı olmadığı söylenebilir. Çünkü infekte olan koçların %50'si herhangi bir klinik bulgu göstermemektedir. Kültür, güvenli olmasına rağmen güç ve zaman alıcıdır. Ayrıca, etkenin aralıklarla dışarı atılıyor olması, kültür duyarlılığını ciddi bir şekilde azaltmaktadır. Ayrıca bakteriyolojik testler, çok sayıda hayvanın test edilmesi gereken

durumlarda uygulanabilir değildir (OIE, 2021). Rutin teşhis için en çok başvurulan yöntemler, serolojik testler gibi indirekt yöntemlerdir. En yaygın kullanılan serolojik testler KFT, Agar jel immunodifüzyon (AGİD) ve ELISA'dır (Myers ve ark., 1972; Worthington ve ark., 1984; Cho ve ark., 1987). Hastalığın OIE tarafından kabul edilen resmi testi ise KFT'dir. Ancak bu test, oldukça komplike ve özel ekipman ve deneyimli personel gerektirmektedir. KFT'nin bir diğer dezavantajı da R-LPS antijenlerinin oluşturduğu anti komplementer aktivitedir (OIE, 2021). Dolayısıyla, hastalığın teşhisinde kolay ve hızlı bir tanı yönteminin geliştirilmesinin önemi ortaya çıkmaktadır. Hastalığın indirekt ELISA ile teşhisi amacı ile araştırmacılar farklı antijenler kullanarak testin duyarlılık ve özgüllüğü konusunda çok sayıda çalışma yapmışlardır (Estein ve ark., 2002; Gall ve ark., 2003; Nielsen ve ark., 2007; Escobar ve ark., 2010).

Brucella enfeksiyonunun serolojik teşhisinde kullanılan antijenler, bakterinin çok çeşitli somatik ve yüzey bileşenlerini içermektedir. Non-smooth ve doğal olarak rough bir organizma olan *B. ovis*'in yüzey antijenleri ile *Brucella canis*, *Brucella abortus* 45/20, *Brucella melitensis* B115 gibi diğer Rough *Brucella* suşları ve *Actinobacillus equuli*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pseudomonas* spp. ve *Staphylococcus epidermidis* gibi R-LPS tabakalarının benzerlik gösterdiği diğer bakteri türlerinin mukoid suşlarına karşı gelişen antikolar arasında heterospesifik reaksiyonların olduğu bilinmektedir (Myers ve ark., 1972; Corbel, 1985; Nielsen ve ark., 2004). Moreno ve ark. (1984), *B. ovis*, *B. canis*, *B. abortus* 45/20 ve *B. melitensis* B115 rough suşların R-LPS tabakalarını çıkarıp immunokimyasal analizlerini yapmışlar ve *B. ovis*'in R-LPS'lerinin immunodifüzyon testinde gösterdiği kısmi benzerlik ile *B. melitensis*, *B. abortus* ve *B. canis* R-LPS'lerinden ayrıldığını göstermişlerdir. *B. ovis*'in R-LPS'sine karşı oluşturulan immunserumun sadece homolog antijen ile aglütinasyon verdiği, diğer rough *Brucella* hücreleri ile aglütinasyon vermediğini saptamışlardır. Çalışmada kullanılan dört rough suşun LPS tabakalarının biyokimyasal analizinde en yüksek keodeoksioktonat ve glukozamin oranları *B. ovis*' te bulunurken, en yüksek yağ asitleri *B. melitensis* B115 te ve en yüksek glukoz oranı *B. abortus* 45/20 de bulunmuştur. Protein, *B. ovis* ve *B. canis* in R-LPS tabakasında hiç bulunmazken, diğer ikisinde eşit miktarda olmak üzere, smooth LPS tabakasının üçte biri oranında bulunmuştur. Zoha ve Carmicheal, (1982), *B. canis* M (-) suşunun daha az mukoid ve düşük patojeniteye sahip olduğunu ve serolojik çalışmalar için uygun olduğunu belirtmişlerdir.

Nielsen ve ark. (2004), *B. abortus* RB 51 suşundan elde edilen rough lipopolisakaritlerin *B. ovis*, *B. canis* ve *B. abortus* RB51 türlerine karşı ELISA için kullanılabilceğini belirtmiştir. Benzer olarak, *B. ovis*'in *B. canis* ile ortak antijenik bileşenler içerdiği

için *B. ovis*'ten hazırlanan antijenler ile yapılan ELISA'nın *B. canis* infeksiyonunu da saptayabileceği belirtilmektedir (Lopez ve ark., 2005). Barrouin-Melo ve ark. (2007), yaptıkları bir çalışmada ısıda eriyebilir tüm bakteri ekstraktını antijen olarak kullandıkları ELISA'da, duyarlılığı %95 ve özgüllüğü %91 olarak bulmuşlardır.

Bu çalışmada da *B. ovis*'in farklı antijenik fraksiyonlarının kullanıldığı ELISA prototiplerinin referans pozitif ve negatif serum panelleri kullanılarak ve birbirileri ile kıyaslanarak indirekt tanı açısından değerlendirilmeleri amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Bakteriyel suş ve faj: Antijen hazırlanması için Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, kültür ve faj koleksiyonlarında mevcut olan *B. ovis* 63/290 ATCC referans suşu ile 1×10^4 Rutin test dilüsyonunda (RTD) *Brucella* R/C fajı kullanıldı.

Pozitif ve negatif serum örnekleri: OIE'nin Bruseloz için Referans merkezi, Hayvan ve Bitki sağlığı Ajansı (APHA), Weybridge İngiltere'den temin edildi. Ayrıca Türkiye'de ilk kez tarafımızdan *B. ovis* izole edilerek bildirim yapılan koçtan alınan serum da validasyon çalışmalarında gerçek pozitif serum olarak kullanıldı.

Test serum örnekleri: Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı'na teşhis amaçlı getirilen 84 adet 2-5 yaş aralığında, İvesi ırkı koyunlara ait kan serumları kullanıldı.

ELISA antijenlerinin hazırlanması

Hot salin ekstrakt (HSE) antijeninin hazırlanması: *B. ovis* suşu, serum dektroz agara ekilerek saflık kontrolleri ve identifikasyonları, referans suşlara uygunluğu, konvansiyonel yöntemlerle yapılarak doğrulandı (Alton ve ark., 1988). Kültür özellikleri doğrulanmış suşların sıcak tuzlu suda ekstraksiyonları (STE-*B. ovis*) hazırlandı. Bu amaçla suşlara ait koloniler 50 ml steril PBS (pH 7.4) ile toplanarak elde edilen iki ayrı bakteri kültürü 60°C sıcaklıkta bulunan su banyosunda 1 saat tutulmak sureti ile öldürüldü. Antijen üretimi, Barrouin-Melo ve ark. (2007)'nin bildirdiği yöntemine göre yapıldı ve öldürülen kültürler 3500xg'de 10 dakika süre ile 10°C'nin altında santrifüj edildi, süpernatant atıldıktan sonra hücreler PBS (pH 7.4) ile süspanse edilerek aynı şekilde iki kez daha santrifüj edilip yıkandı. En son elde edilen pelet, 10 ml PBS ile sulandırıldıktan sonra 120°C de 1.5 atmosfer basınç altında 20 dakika otoklavlandı. Daha sonra hücreler 12000xg'de 20 dakika süre ile 4°C de santrifüj edilerek süpernatant toplandı ve küçük miktarlarda steril cryovial tüplere taksim edilerek -20°C de, daha sonra ELISA solid faz antijeni olarak kullanılmak üzere saklandı.

Rough Lipopolisakkarit (R-LPS) antijeninin hazırlanması: Bu amaçla, Yi ve Hackett (2000) tarafından bildirilen Tri-Reagent yöntemi, modifiye edilerek kullanıldı. Serum dektroz agarda üreyen *B. ovis* kolonileri agar yüzeyinden steril distile su ile toplandıktan sonra optik dansitesi $OD_{560nm}=1.0$ olarak ayarlandı. Toplanan kültürler, su banyosunda 80°C'de 30 dakika bekletilerek öldürüldü ve ölü bakteri süspanسیونu, +4°C'de, 3500 rpm' de santrifüj edilerek üstteki besiyeri uzaklaştırıldı, alttaki ölü bakteri peleti toplanarak her bir gram bakteri peleti için 2 ml Tri-reagent eklendi. Karışım oda sıcaklığında 10-15 dakika tam bir homojenizasyon için bekletilerek faz seperasyonu yaratmak için her bir gram bakteri peleti miktarında karışıma 200 µl kloroform eklendi. Süspanسیون vorteks kullanılarak hızlıca karıştırıldı ve 10 dakika daha inkübe edildi ve daha sonra 12000xg'de 10 dakika süre ile santrifüj edildi. Böylece su ve organik fazlar ayrıldı. Su fazı yeni bir 1.5 ml lik santrifüj tüpüne transfer edildi. Organik fazın üstüne 100 µl distile su eklenerek karışım tekrar 12000xg'de 10 dakika daha santrifüj edildi. Su fazı bir önceki su fazı ile kombine edilerek elde edilen bu Tri-reagent ile ekstrakte edilen LPS çözeltisi, -20°C de muhafaza edilen %95'lik etanol içinde hazırlanan 0.375 M magnezium klorid ile karıştırıldı ve bu karışım 12000xg'de 15 dakika santrifüj edilerek oluşan pelet, 200 µl distile su içinde süspanse edildi ve -20°C de daha sonra ELISA solid faz antijeni olarak kullanılmak üzere saklandı.

Faj lizat 1 (FL1) ve 2 (FL2) antijenlerinin hazırlanması: *B. ovis*'in, %10 serum içeren triptik soy brotu besiyerinde, 24-48 saatlik log fazında üremiş kültürü, mililitresinde yaklaşık 2×10^8 KOB/ml olacak şekilde Mac Farland tüp no 3'e göre ayarlandı. Kültüre, 1×10^4 RTD R/C fajı, 1:50 (faj/bakteri) oranında ilave edildi. Faj ve kültür karışımı, 37°C de %5-10 CO₂ içeren ortamda, 6-7 saat tam bir lizis ve kısmi berraklık elde edilene kadar inkübe edildi (Saxena ve Raj, 2018). Bu süre sonunda kültür santrifüj edildi ve üstte kalan sıvı faj lizat 1, alttaki pelet faj lizat 2 olarak isimlendirilerek saklandı.

ELISA: De Oliveira ve ark. (2011) tarafından bildirilen yöntem, modifiye edilerek uygulandı. Bu amaçla, izole edilen antijenlerin her biri ayrı ayrı pozitif ve negatif serumlar ve konjugat ile checkerboard analizi yapıldıktan sonra, en uygun antijen ve konjugat dilüsyon oranları belirlendi. Belirlenen antijenlerin dilüsyonları, karbonat-bikarbonat buffer (pH 9.6) ile yapılarak, 96 gözlü pleytin (NUNC, 269620, Denmark) her kuyucuğuna 100 µl olarak konuldu. Pleytler, %0.05 Tween ilaveli PBS (T-PBS) ile üç kez yıkandı ve ardından pleytlerin bloklanması amacı ile %5 süttezu, %0.05 Tween içeren PBS (BLOTTO) solüsyonu her bir kuyucuğa 350 µl konularak, pleytler oda ısısında iki saat süre ile bloklandı. Daha sonra T-PBS içinde 1/100 olarak dilüe edilen pozitif ve negatif kontrol ve test serumları, ilgili kuyucuklara 100 µl olarak konuldu. Pleytler oda ısısında bir saat süre ile bekletildi.

Yıkama işlemi yine üç kez uygulandıktan sonra HRPO ile işaretli rekombinant A/G konjugatı 1:10000 oranında T-PBS (Pierce 32490) içinde dilüe edilerek her kuyucuğa 100 µl olarak eklendi. Yıkama işlemlerinin ardından üzerine 100 µl kromojenik substrat (0.1 M sitrat tamponu (pH 5.5) içinde 2 µg ortho-phenylenediamine ve %0.03 H₂O₂) ilave edildi. Pleytler oda ısısında 10-15 dakika bekletildikten sonra reaksiyonu durdurmak için her kuyucuğa 100 µl 4N H₂SO₄ ilave edilerek pleytler otomatik ELISA okuyucusu (VERSAmax 3.13/B2573) ile 490 nm'de absorbans değerleri okunarak kaydedildi. Negatif serum OD'lerini ortalamasına 3X standart deviasyon (SD) değeri eklenerek ELISA eşik değeri belirlendi.

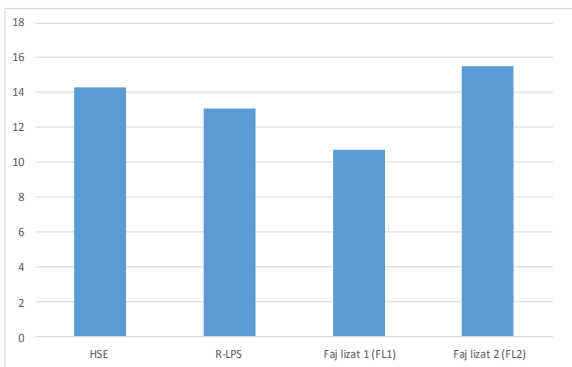
İstatistiksel analiz: Antijen grupları arasındaki pozitiflik oranları bakımından farklılığın önem kontrolleri Pearson χ^2 analizi ile değerlendirildi. Verilerin gösterimi için n (%) tanımlayıcı istatistikleri kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizleri, IBM SPSS Statistics V.20 istatistik paket programı ile yapıldı. Anlamlılık seviyesi P<0.05 alınarak belirlendi.

Bulgular

84 serum örneğinin farklı antijenler için vermiş olduğu ELISA sonuçları, Tablo 1 ve Şekil 1 de gösterilmektedir.

Tablo 1. In house ELISA'da kullanılan test antijenlerinin *B. ovis* antikolarını belirleme oranları

Antijen	ELISA pozitif n (%)	ELISA negatif n (%)	Toplam	P değeri
HSE	12 (14.3)	72 (85.7)	84	>0.05
R-LPS	11 (13.1)	73 (86.9)	84	
Faj lizat 1 (FL1)	9 (10.7)	75 (89.3)	84	
Faj lizat 2 (FL2)	13 (15.5)	71 (84.5)	84	



Şekil 1. *B. ovis* antikolarını saptamada kullanılan farklı antijenlerle elde edilen ELISA pozitiflik oranları (%).

ELISA'da dört farklı antijen ile alınan pozitiflik oranları karşılaştırıldığında, faj lizatı pelet kısmı (FL2) ile daha yüksek oranda pozitiflik elde edildiği görüldü. Ancak *B. ovis*'e karşı oluşan antikoların iELISA ile belirlen-

mesi için kullanılan dört farklı antijen arasındaki farklılık, istatistiki açıdan önemsiz ($\chi^2=0.89$; P>0.05) bulundu.

Tartışma ve Sonuç

B. ovis infeksiyonu, maalesef bildirim zorunlu bir hastalık değildir. Ayrıca bu hastalığın kontrolünde zorunlu bir süreyans da şart koşulmamıştır. Bu durum hastalıkla mücadeleyi zorlaştırmakta ve etkili kontrol önlemlerinin alınmasını engellemektedir. Etkili kontrol önlemlerinin başında ise hastalığın doğru şekilde teşhisinin yapılması gelmektedir. Ancak hastalığın serolojik teşhisinde kullanılan testler komplike olan ve çok sayıda örneğin işlenmesinde çok pratik olmayan KFT ve AGID testleridir. ELISA ise bu yöntemlere göre daha duyarlı ve özgül kabul edilmekte ve çok sayıda örneğin işlenmesine izin verebilecek pratiklikte bir yöntemdir. *B. ovis* infeksiyonlarının her ne kadar halk sağlığı açısından çok önem taşımadığı düşünülse de, büyük ekonomik kayıplara neden olmaları nedeniyle göz ardı edilmemesi gerektiğinden, araştırmacılar kolay uygulanması nedeniyle farklı antijenler kullanarak ELISA'nın duyarlık ve özgüllüğünü arttırmak için çok sayıda çalışma yapmışlardır (Estein ve ark., 2002; Gall ve ark., 2003; Nielsen ve ark., 2007; Escobar ve ark., 2010).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda *B. ovis*'in zoonotik etkisinin aydınlatılamaması ve bu zamana kadar insan vakalarından herhangi bir hastalık bildirimini yapılmamış olması, araştırmacılar arasında bu etkenin zoonotik özelliğinin olmadığı kanaatini oluşturmuştur. Ancak son yıllarda yapılan bir çalışmada etkenin hasta bir insandan izole edildiği ve bu izolasyonun, yapılan bir çalışma ile ilk kez raporlandığı bildirilmiştir (Zagelbaum ve ark., 2017). Bu durum geçmişteki algıya bir soru işareti getirmektedir. Böylece, etkenin potansiyel zoonotik bir ajan olması ihtimali, etken tanısının da önemini bir kat daha arttırmaktadır.

Nielsen ve ark. (2004), *B. abortus* RB 51 suşundan elde edilen rough lipopolisakaritlerin *B. ovis*, *B. canis* ve *B. abortus* RB51 türlerinin ELISA ile tanısı amacıyla kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Benzer olarak, *B. ovis*'in *B. canis* ile ortak antijenler içerdiği sebebiyle *B. ovis*'ten hazırlanan antijenler ile yapılan ELISA'nın *B. canis* infeksiyonunu da saptayabileceği belirtilmektedir (Lopez ve ark., 2005). Lopez ve ark. (2006), *B. ovis*'e karşı oluşan antikolarla-

rin koyun sütlerinde iELISA tekniği ile araştırılmasında, *B. ovis* ve *B. canis* antijenlerinin test antijeni olarak kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Araştırmacılar, etkenlerin R-LPS yapılarını antijen olarak kullanarak serum ve süt örneklerini test etmişler, sonuçta spesifite ve sensitiviteyi %100 olarak hesaplamışlardır. Barrouin-Melo ve ark. (2007), yaptıkları bir çalışmada ısıda eriyebilir tüm bakteri ekstraktını antijen olarak kullandıkları ELISA için duyarlılığı %95 ve özgüllüğü %91 olarak bulmuşlardır. França ve ark. (2014), *B. ovis* infeksiyonlarını belirlemek için rekombinant bir proteini antijen olarak kullanmışlar ve böylece geliştirdikleri iELISA tekniğinin, %100 sensitivite ve %90.2 spesifite oranına sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Chiarenza ve ark. (2017), beş çiftlikten toplanan 608 koç serumunda yaptıkları çalışmada, *B. ovis* antikorları açısından serumlarda %11.2 seropozitiflik bulmuşlardır. Yine Chiarenza ve ark. (2018), 163 çiftlikten 942 koç serum örneğinde ticari ELISA kiti ile %10.3 oranında *B. ovis* pozitifliği saptamışlardır. Savic ve ark. (2018), 2008-2009 yılları arasında koyun ve koç serum örneğinde yıllara göre %0 ile %19.3 arasında değişen, ortalama %0.89, 2014 ile 2018 yılları arasında ise farklı bölgelerde %0 ile %26 arasında değişen, ortalama %6.15 olarak seroprevalans belirlemişlerdir. Elderbrook ve ark. (2019), antijen olarak HSE kullandıkları ELISA ile hayvan bazında %0.53, sürü bazında ise %22.5 seropozitif sonuç elde etmişlerdir. Benzer olarak Elderbrook ve ark. (2020), 2.276 koyun serum örneğini iki farklı ELISA ile test etmişler ve %0.88 ve %1.10 oranında *B. ovis* antikorları açısından seropozitiflik saptamışlardır. Praud ve ark. (2012), 4599 koç serumunda paralel olarak ticari bir iELISA kiti ve KFT uygulayarak elde ettikleri sonuçlara göre ELISA tekniğinin yüksek duyarlılık ve kabul edilebilir özgüllüğe sahip olmasından dolayı kullanılabilirliğini bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada, kullanılan dört farklı antijen ile iELISA tekniğinin tanısal değeri belirlendi. Farklı antijenler ile elde edilen sonuçlar arasındaki fark, istatistik açıdan önemsiz bulunmuş olup elde edilen %10.7 ile %15.5 arasındaki seropozitiflik oranları, araştırmacıların bildirdiği verilerle uyumludur. Her ne kadar antijenler arası fark önemsiz bulunsada en yüksek pozitiflik elde edilen FL2 antijeninin ELISA için kullanılabilirliği, geniş çaplı saha validasyonlarının ardından belirlenecektir. Ürünün ticari kit haline dönüştürülmesi için sonraki çalışmalarda, ürünün çok daha fazla serum örneği ile, standart yöntemler olan KFT, AGID ve halihazırda mevcut ticari kitlerle karşılaştırılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.

B. ovis infeksiyonlarının her ne kadar halk sağlığı açısından çok önem taşımadığı düşünülse de, çiftliklerde neden olduğu atıklar ve ekonomik kayıplar nedeniyle ülke hayvancılığı açısından önemlidir. Türkiye'de *B. ovis* infeksiyonlarının ne sıklıkta görüldüğüne dair bir veri yoktur. Bugüne kadar yapılmış sınırlı

ve lokal çalışmalar, hastalığın ülkemizdeki gerçek durumunu ortaya çıkarmaktan oldukça uzaktır. Bu çalışmada, ELISA için antijen belirlenmesi öncelikli amaç olduğu için az sayıda serum test edilebilmiş ancak azımsanmayacak bir seropozitiflik saptanmıştır. Bu nedenle, hastalığın gerçek yaygınlığının belirlenmesinin gerekliliği düşünülmektedir. Bu amaç için de her bölgeden temin edilecek çok sayıda serumun çalışılması önem arz etmektedir. Çalışmada elde edilen sonuçlarla geliştirilecek ticari bir kit ile büyük öneme sahip epidemiyolojik veriler elde edilecek, ayrıca bulaşmanın azaltılmasıyla kayıpların önlenmesi, büyük ekonomik fayda sağlayacaktır.

Kaynaklar

- Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. *Brucella canis*. In: Techniques for the Brucellosis Laboratory. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique, 1988; pp. 169-74.
- Barrouin-Melo SM, Poester FP, Riberio MB, Alcantara AC, Aguiar PHP, Nascimento IL, Schaer RE, Nascimento RM, Freire SM. Diagnosis of canine brucellosis by ELISA using an antigen obtained from wild *Brucella canis*. Res Vet Sci 2007; 83: 340-6.
- Blasco JM. *Brucella ovis*. Nielsen K, Duncan JR. eds. In: Animal Brucellosis. Florida: CRC Press, 1990; pp. 351-78.
- Chiarenza G, Villari S, Galluzzo P, Alfano M, Pilato V, Vicari D, Stancanelli A. Evaluation of *Brucella ovis* seroprevalance in Sicilian farms (Italy). Lucr. ştiinţ. - Inst. Agron. "Nicolae Bălcescu", Ser C Med vet 2017; 3: 16-9.
- Chiarenza G, Villari S, Galluzzo P, Brigano S, Alfano M, Tagliarini A, Pilato V, Guercio A, Stancanelli A. *Brucella ovis* presence in Sicilian farms (Italy). Int J Infect Dis 2018; 73: 385-6.
- Cho HJ, Nilo L. Diagnostic sensitivity, and specificity of an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. Can J Vet Res 1987; 51 (1): 99-103.
- Corbel MJ. Recent advance in the study of *Brucella* antigen and their serological cross reaction. The Vet Bull 1985; 55: 927-72.
- Elderbrook M, Schumaker B, Cornish T, Peck D, Sondgeroth K. Seroprevalence and risk factors of *Brucella ovis* in domestic sheep in Wyoming, USA. BMC Vet Res 2019; 15(246): 1-12.
- Elderbrook MJ, Schumaker BA, Ueti MW, Almeida MB, Vierea TSWJ, Vierea RFC, Sondgeroth KS. Comparison of 2 ELISAs for detecting exposure to *Brucella ovis*. J Vet Diagn 2020; 32(5): 700-5.

- Erdenliğ Gürbilek S, Keskin O, Tel OY. The first report of *Brucella ovis* infection in a ram in Turkey. İkinci Uluslararası Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 16-19 Ekim, 2018; Antalya-Türkiye.
- Escobar GI, Boeri EJ, Ayala SM, Lucero NE. The feasibility of using antigens prepared with rough *Brucella* strains for diagnosis of canine brucellosis. Rev Argent Microbiol 2010; 42: 35-40.
- Estein SM, Baldi PC, Bowden RA. Comparison of serological tests based on outer membrane or internal antigens for detecting antibodies to *Brucella ovis* in infected flocks. J Vet Diagn Invest 2002; 14: 407-11.
- França SA, Mol JPS, Costa EA, Silva APC, Xavier MN, Tsolis RM, Reis JKP, Paixão TA, Santos RL. Indirect ELISA for diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. Arq Bras Med Vet Zootec 2014; 66 (6): 1695-702.
- Gall D, Nielsen K, Vigliocco A, Smith P, Perez B, Rojas X, Robles C. Evaluation of an indirect enzyme-linked immunoassay for presumptive serodiagnosis of *Brucella ovis* in sheep. Small Rumin Res 2003; 48: 173-9.
- Lopez G, Ayala SM, Escobar GI, Lucero NE. Use of *Brucella canis* antigen for detection of ovine serum antibodies against *Brucella ovis*. Vet Microbiol 2005; 105: 181-7.
- Lopez G, Escobar GI, Ayala SM, Lucero NE. Detection of antibodies to *Brucella ovis* in sheep milk using *B. ovis* and *B. canis* antigen. Vet Microbiol 2006; 116: 232-8.
- Moreno E, Jones LM, Berman DT. Immunochemical characterization of Rough *Brucella* lipopolysaccharides. Infect Immun 1984; 43(3): 779-82.
- Myers DM, Jones LM, Varela-Diaz VM. Studies of antigen for complement fixation and gel diffusion test in the diagnosis of infections caused by *Brucella ovis* and other *Brucella*. Appl Microbiol 1972; 23 (5): 894-902.
- Nielsen K, Smith P, Conde S, Dragide Benitez G, Gall D, Halbert G, Kenny K, Massengill C, Munks Q, Rojas X, Perez B, Samartino L, Silva P, Tollersrud T, Lolley M. Rough lipopolysaccharide of *Brucella abortus* RB51 as a common antigen for serological detection of *B. ovis*, *B. canis*, and *B. abortus* RB51 exposure using indirect enzyme immunoassay and fluorescence polarization assay. J Immunoass Immunoch 2004; 25 (2): 171-82.
- Nielsen K, Smith P, Yu WL, Rojas X, Perez B, Conde S, Samartino L, Robles C. Detection of ovine antibody to *Brucella ovis* by indirect enzyme immunoassay. J Immunoass Immunoch 2007; 28: 243-50.
- OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2021 Chapter 3.8.7. Ovine epididymitis (*Brucella ovis*). https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.07_OVINE_EPID.pdf; Accessed Date: 15.12. 2021.
- De Oliveira MZ, Vale V, Keid L, Freire SM, Meyer R, Portela RW, Barrouin-Melo SM. Validation of an ELISA method for the serological diagnosis of canine brucellosis due to *Brucella canis*. Res Vet Sci 2011; 90(3): 425-31.
- Praud A, Champion JL, Corde Y, Drapeau A, Meyer L, Garin-Bastuji B. Assessment of the diagnostic sensitivity and specificity of an indirect ELISA kit for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. BMC Vet Res 2012; 8(68): 1-7.
- Saxena HM, Raj S. A novel immunotherapy of Brucellosis in cows monitored non invasively through a specific biomarker. PLoS Negl Trop Dis 2018; 12(4): e0006393.
- Savić S, Stošić MZ, Pušić I, Polaček V, Grgić Z, Marčić D, Dačić M, Bugarski D. Seroprevalence and spreading of *Brucella ovis* in South Bačka and Srem district. Vet Arh 2018; 11(2): 89-101.
- Tel OY, Gürbilek SE, Keskin O. The evaluation of indirect enzyme-linked immunosorbent assay using antigens prepared from *Brucella abortus* RB51 and *Brucella canis* M (-) variant strains for serologic diagnosis of *Brucella ovis* infection. Kafkas Univ Vet Fak Derg 2016; 22(11): 63-7.
- Türütoğlu H. Detection of *Brucella ovis* infection in rams in the Konya region by microcomplement fixation tests. Veterinarium 1992; 3(2): 3-6.
- Uçan US, Aras Z. Seroprevalence of *Brucella ovis* infection in rams from some flocks in the provinces Konya and Sivas. Eurasian J Vet Sci 2007; 23: 35-8.
- Worthington RW, Weddell W, Penrose ME. A comparison of three serological tests for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. N Z Vet J 1984; 32: 58-60.
- Yi, EC, Hackett M. Rapid isolation method for lipopolysaccharide and lipid A from gram-negative bacteria. Analyst Apr 2000; 125(4): 651-6.
- Zagelbaum NK, Sayegh GP, Vernatter JN. First case of *Brucella ovis* in human. New York Chapter ACP, Annual Scientific Meeting, Medical Student Clinical Vignette, Poster Presentation. June 3, 2017; New York-The USA.

Zoha SJ, Carmicheal LE. Properties of cell wall antigens of virulent *Brucella canis* and a less mucoïd variant of reduced pathogenicity. Am J Vet Res 1982; 43: 171-4.



Histological Structure of Esophagus and Histochemical Profile of Mucins in Glands in Partridge (*Alectoris chukar*)

Nurşin AYDIN^{1,a}, M. Erdem AKBALIK^{1,b}, Uğur TOPALOĞLU^{1,c}, Bayram BAYRAM^{2,d}

¹Dicle University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Histology and Embryology, Diyarbakır-TÜRKİYE

²Şırnak University, İdil Vocational School, Laboratory and Veterinary Health Program, Şırnak-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0003-0265-3163; ^b0000-0001-9898-0593; ^c0000-0002-8306-491X; ^d0000-0002-5738-918X

Corresponding author: Nurşin AYDIN; E-mail: nursinaydin21@gmail.com

How to cite: Aydın N, Akbalık ME, Topaloglu U, Bayram B. Histological structure of esophagus and histochemical profile of mucins in glands in partridge (*Alectoris chukar*). Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):175-181

Abstract: Mucins secreted by mucus-producing cells are glycoproteins with many important functions such as antimicrobial effect, lubricity and physical barrier. The structure and function of mucins may be different in various tissues. Therefore, we designed our study to reveal the current state of mucin chemistry in the glands located in the partridge's esophagus. The esophagus of total 10 adult partridges, five female and five male, whose carcasses were slaughtered in a private breeding farm were used. The extracted esophageal tissues were fixed in 10% formol-alcohol. Tissues were blocked following routine histological procedures, and histological and histochemical staining techniques were applied to 5 µm thick sections from the blocks. While distinguishing the cervical and thoracic parts of the esophagus, it was observed that the glands were localized in the lamina propria and had the characteristics of simple alveolar glands or simple branched alveolar glands containing two or three secretory units. It was also determined that esophageal glands contain neutral, acidic (COOH and sulfate groups) and N-acetylsialomucins. Thus, it was concluded that the histological structure of the esophagus and the histochemical properties of mucins were relatively similar to other poultry species.

Keywords: Esophagus, histochemistry, mucin, partridge

Keklikte (*Alectoris chukar*) Özofagus'un Histolojik Yapısı ve Bezlerdeki Müsinlerin Histokimyasal Profili

Öz: Mukus üreten hücreler tarafından salgılanan müsinler fiziksel bariyer, kayganlık ve antimikrobiyal etki gibi birçok önemli fonksiyona sahip glikoproteinlerdir. Müsinlerin yapısı ve fonksiyonu çeşitli dokularda farklı olabilmektedir. Bu nedenle, çalışmamızı keklik özofagusunda bulunan bezlerde müsin kimyasının mevcut durumunu ortaya koymak için tasarladık. Karkasları özel bir damızlık çiftliğinde kesilen beş dişi, beş erkek toplam 10 adet ergin kekliğin özofagusu kullanıldı. Elde edilen özofagus dokuları %10'luk formol-alkolde tespit edildi. Dokular rutin histolojik prosedürler izlenerek bloklandı ve bloklardan 5 µm kalınlığındaki kesitlere histolojik ve histokimyasal boyama teknikleri uygulandı. Özofagus'un servikal ve torakal bölümlerinin ayrımı yapılırken bezlerin lamina propriya'da lokalize olduğu ve basit alveolar bezler ya da iki veya üç salgı birimi içeren basit dallı alveolar bez özelliğinde olduğu görüldü. Ayrıca özofagus bezlerinin nötral, asidik (COOH ve sülfat grupları) ve N-asetilsialomüsinleri içerdiği tespit edildi. Böylelikle, özofagusun histolojik yapısının ve müsinlerin histokimyasal özelliklerinin nisbeten diğer kanatlı türleri ile benzer olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Histokimya, keklik, müsin, özofagus

Introduction

All poultry species have adapted to a wide variety of environments according to the distribution of food sources and nutritional characteristics. Therefore, different dietary habits reflecting the different lifestyles of the poultry caused physiological and histological differences in the structures of the digestive tracts (Koçak et al., 2019; Shojaei et al., 2016). According to the poultry species, the histomorphological structure of a system or organ and the secretion character of the gland localized in the organ vary according to their eating habits, habitat and na-

ture of their lifestyle. This phenomenon is also called adaptation (Shojaei et al., 2016).

The esophagus, one of the important organs of the digestive system, acts as a bridge between the mouth and proventriculus in poultry, and in many species contains a pouch-like dilatation called a crop at the entrance of the thorax (Shojaei et al., 2016). The esophagus, located on the right side of the neck and dorsal to the trachea, is a thin-walled, muscular tube that consists of two parts, cervical and thoracic in birds (Koçak et al., 2019; Shojaei et al., 2016). As in all living things, the esophagus wall consists of three main layers: tunica mucosa, muscularis and adventitia/serosa (Kadhim et al., 2015; Koçak et al., 2019; Taşlıdere et al., 2013). The epithelial layer,

which is part of the tunica mucosa layer, is special in non-keratinized stratified squamous epithelium (Aytürk, 2008; Demirbağ et al., 2012; Kadhim et al., 2015; Kum, 2002).

In some poultry species, keratohyaline granules appear in some epithelial cells due to their dietary properties (Aytürk, 2008). The second layer, the lamina propria, contains numerous mucous simple tubuloalveolar or compound tubular glands with aggregated lymph follicles called the esophageal tonsil in the adjacent part of the proventriculus (Aytürk, 2008; Çolakoğlu et al., 2018; Kadhim et al., 2015; Koçak et al., 2019; Kum, 2002; Sağsöz, 2005; Shibata et al., 1991). In addition, lamina muscularis consisting of smooth muscles with a longitudinal course of the mucosa layer and submucosa layers with a large number of blood and lymph vessels and nerves are also available (Koçak et al., 2019; Sağsöz, 2005; Taşlıdere et al., 2013). Tunica muscularis consists of inner circular and outer longitudinal smooth muscle layers (Aytürk, 2008; Kadhim et al., 2015; Koçak et al., 2019; Sağsöz, 2005). The tunica adventitia is a layer of loose connective tissue with blood and lymph vessels that surround the organ from the outside (Aytürk, 2008; Koçak et al., 2019; Sağsöz, 2005).

The esophagus mucosa is moistened by the mucous glands, which are always localized under the epithelium (Amano et al., 2012). The main functions of the esophagus glands are to produce mucus, which plays an important role in moisturizing and lubricating food. Mucus, called mucin, is in the structure of O-glycated glycoprotein since it also contains proteins (Alçay, 2006; Mater, 2016). In addition to lubricating, mucins also acts as a protection against harmful components such as microorganisms and toxins (Sağsöz, 2005; Ünübol et al., 2010). Histochemically, mucins are divided into neutral and acidic mucins (Sağsöz, 2005; Yakan, 1990). Neutral mucins do not contain reactive acid radicals but carry free hexose groups. Acid mucins are divided into sulfate (sulfomucin) and carboxylic (sialomucin) mucins (Sağsöz, 2005; Yakan, 1990). Carboxylic acidic mucins contain sialic acid. Groups with sialic acid and sulfate are important because they lubricate and protect the canal they are in (Demirbağ et al., 2012; Yakan, 1990). Acidic mucins with carboxylates; it consists of N-acetyl and N-acetyl-O-acetyl sialomucins. N-acetyl sialomucins have the function of forming a protective barrier by forming a thin film on the epithelium (Sağsöz, 2005; Yakan, 1990). It has been demonstrated in some studies that the histological structure of the esophagus and the secretion characters of its glands vary in different poultry species with different nutritional properties (Shojaei et al., 2016).

In this study we aimed to define the basic histological features of the esophagus in partridges and whether

there are histomorphological differences between glands and histological structure of the esophagus in partridges and other poultry species; we also aimed to reveal the compositions of mucins secreted from esophageal gland epithelial cells, physiological functions and whether there are differences between partridges and other poultry species. However, since the histochemical method we used in our previous study (Sağsöz et al., 2009) best demonstrated the characterization of glycoconjugates, in our current study we aimed to determine the changes in carbohydrate side chains in the secretions of esophageal gland epithelial cells.

Material and Method

In the study, the esophagus of 10 adult partridges, five female and five male, whose carcasses were slaughtered in a private breeding farm were used. Esophagus was totally removed. And the segments from pars cervical and pars thoracic ranging from course to proventriculus, the part of the esophagus from the beginning to the course were retrieved. Longitudinal directional organ parts were taken from three of the esophagus of female and male partridges, and transversal directional organ parts were taken from two of them and were fixed for 18 hours in formol-alcohol solution. The tissues were then blocked with paraffin following routine histological procedures. Serial sections with a thickness of 5 µm were taken from the prepared paraffin blocks. While Crossman's triple stain was used to determine the general histological structure, histochemistry [Periodic acid Schiff (PAS) for detection neutral mucins; Alcian blue (pH 2.5)-Periodic acid Schiff (AB-PAS) to distinguish between neutral and acidic mucins; combined Aldehyde fuchsin-Alcian blue (pH 2.5) (AF-AB) to distinguish carboxylated and sulfated mucins; Periodic acid-Phenylhydrazine-Schiff (PAPS) for detection N-acetyl sialomucins] was used to determine the properties of mucins in the esophageal glands (Bancroft et al., 1984). Harris hematoxylin was used for nucleus staining in histochemical procedures. The samples were evaluated and photographed under the light microscope of the Nikon-Eclipse E400 (Tokyo, Japan) with DS-R11 video camera (Nikon, Japan) attachment.

Results

Structure of esophagus

The histological structure of both parts of the esophagus was similar and its walls consisted of three layers: tunica mucosa, tunica muscularis and tunica adventitia. It was detected that the mucosa occurs from pronounced longitudinal primary folds, which ranging from 4 to 6 in the cervical part and from 6 to 8 in the thoracic part. In addition, there were several small secondary folds between them. The height of



Figure 1. General view of cervical (A) and thoracic (B) parts of partridge esophagus. Dense tonsil units in the cervical part (arrow), L; lümen, E; epithelium, LP; lamina propria, TM; tunica muscularis, TS; tunica serosa, G; glandula, Crossman's Triple Staining. Bars; 100 µm (A, B).

the primary folds increased from the cervical part to the crop, and in the thoracic part it was higher and narrower than the cervical part (Figure1). In the partridges, the mucosa was cutaneous and covered with non-keratinized stratified squamous epithelium. Lamina propria consisted of fine collagen fiber (Figure1).

The esophageal glands were localized in the lamina propria under the basement membrane of the epithelium. They were either simple alveolar glands connected to the lamina epithelialis by a short excretory duct, or simply branched alveolar glands containing two or three secretory units. The secretory units of the glands were tube or drop-shaped in cross-sections (Figure 2C) and round-shaped in longitudinal sections (Figure 2B). The heterochromatic nuclei of the prismatic cells forming the secretory units were located towards the basal part. The neck regions of the glands extending to the luminal epithelium were covered with cuboidal epithelial cells, and the excretory ducts located in the upper part of the epithelium or in it were covered with squamous epithelium (Figure 2B). The lymphoid structures with aggregate character were localized in the transitional zone where the pars thoracic part of the esophagus joined with the proventriculus. The number of tonsil units was the same as the folds of the esophagus and consisted of a crypt lined with epithelium and surrounded by dense lymphoid tissue (Figure 2A). The lamina muscularis was a band of smooth muscle cells with longitudinal course. The submucosa was a narrow area of loose connective tissue. Tunica muscularis consisted of inner circular and outer longitudinal smooth muscle cells. It was surrounded externally by a loose adventitial connective tissue layer (Figure 1A/B).

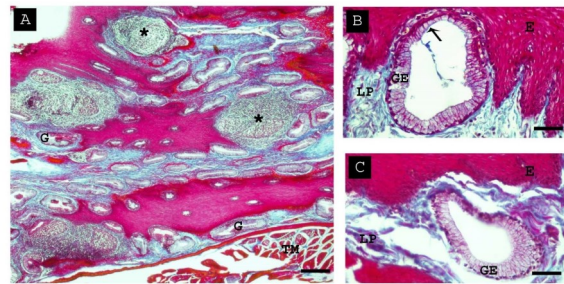


Figure 2. Microscopic images of cell shapes of dense tonsil units (A) and longitudinal (B) and transverse (C) sections in partridge esophagus. Tonsillar units (star), cubic shaped cells (arrow), E; epithelium, GE; glandular epithelium, LP; lamina propria, TM; tunica muscularis, G; glandula, Crossman's

Histochemistry of the esophageal glands

Epithelial cells covering the glands and draining ducts in both the thoracic and cervical parts of the esophagus in partridges showed a strong PAS (+) reaction (Figure 3A/B). In AB (pH 2.5) / PAS combined staining, predominant PAS (+), moderately mixed and sporadic AB (+) reactions were observed in glandular

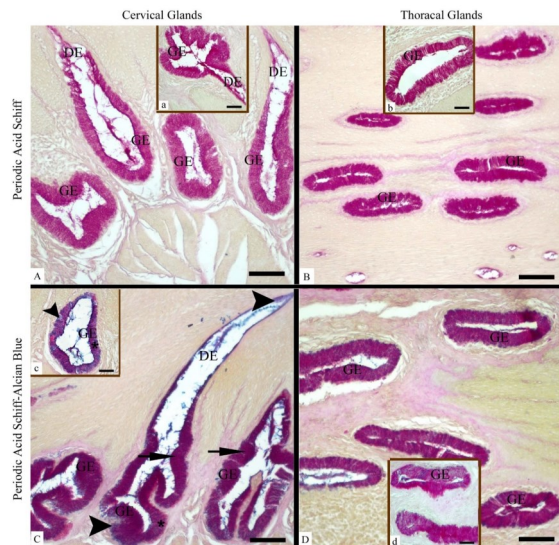


Figure 3. Type and localization of mucins expressed in both esophageal gland and drainage duct epithelium. Intense PAS(+) reaction with PAS staining in gland and drainage canal epithelium in both cervical (A, C) and thoracic (B, D) sections. As a result of PAS/AB (pH 2,5) reaction, dominant PAS (+) reaction (arrow) and mixed staining (*) (c, C) in gland epithelium, AB (pH 2,5) (+) reaction in some of the gland and duct epithelium (arrowhead). GE; gland epithelium, DE; drainage duct epithelium Bar: 25 µm (a, b, c, d), 50 µm (A, B, C, D).

epithelial cells in both parts of the esophagus. In general, mix and AB (+) reactions were noted in the draining duct epithelium of the glands (Figure 3C/D).

Although intense AB (+) reaction was observed in some glandular epithelial cells in the cervical part of the esophagus in AF/AB (pH 2.5) combined staining, AF (+) reaction was more dominant in the majority of glandular epithelial cells, especially in the neck part of the glands and in the draining ducts. There were also glands with combined reactions to both AB (+) and AF (+). In the thoracic segment, both AF (+) and

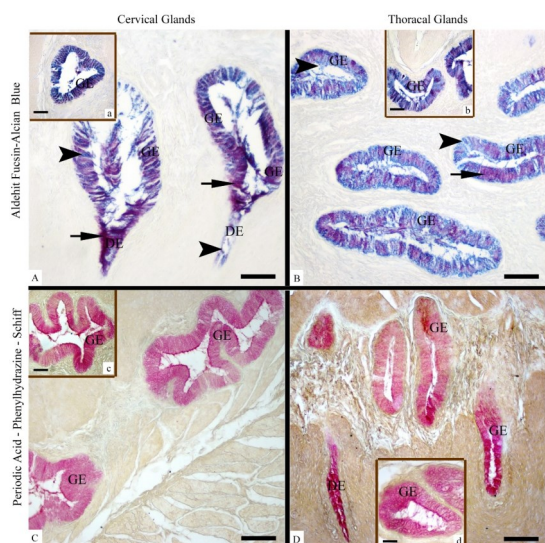


Figure 4. Type and localization of mucins expressed in both esophageal gland and drainage duct epithelium. In cervical (A, C) and thoracic (B, D) parts; AF (+) (arrow) and AB (pH 2.5) (+) (arrowhead) reaction in AF/AB (pH 2.5) staining, intensive staining of drainage canal epithelium in PAPS staining. GE; gland epithelium, DE; drainage duct epithelium Bar: 25 μ m (a, b, c, d), 50 μ m (A, B, C, D).

AB (+) reactions were at equal levels in glandular epithelial cells, whereas AF (+) reaction was dominant in the draining duct epithelial cells of the glands (Figure 4A/B). In PAPS staining, there were intense reactions of the glands which are localized in both cervical and thoracic segments, especially in the draining ducts and the neck parts close to the draining ducts. Glandular epithelial cells had a weaker reaction in both parts, and it was noted that glandular epithelial cells in the thoracic part also showed a more intense PAPS reaction than those in the cervical part (Figure 4C/D).

Discussion and Conclusion

Our results showed that partridge esophagus consists of a longer cervical and shorter thoracic part, as

in other bird species, however, the diameter of the esophagus begins to narrow as one moves towards the crop, and the diameter of the cervical part is larger than the thoracic part (Kadhim et al., 2015; Kum, 2002; Sağsöz, 2005; Sağsöz et al., 2009; Shibata et al., 1991). This study revealed that partridge esophagus contains four to eight longitudinal mucosal folds that extending into the lumen, as shown in chicken (Nagy et al., 2005) and duck (Shyla et al., 1991; Olah et al., 2003;). Although Shyla et al. (1991) reported that the mucosal folds in the thoracic part of the esophagus in ducks (Shyla et al., 1991) are wider and shorter than those in the cervical part, in partridges as in quails (Sağsöz, 2005; Sağsöz et al., 2009), the height of the primary folds in the cervical esophagus began to increase towards the crop, and the mucosal folds in the thoracic esophagus part compared to those in the cervical part of the esophagus is narrower and higher. In partridges, the wall of the esophagus also had all the layers of a typical tubular organ (Kadhim et al., 2015; Kum, 2002; Sağsöz, 2005; Sağsöz et al., 2009; Shibata et al., 1991; Shyla et al., 1991). Our findings showed that the mucosa of the esophagus in partridges, as in other bird species, is composed of stratified squamous non-keratinized epithelium, lamina propria, lamina muscularis, and submucosa (Hodges, 1974; Klem et al., 1982; Klem et al., 1984; Kum, 2002; Nagy et al., 2005; Olah et al., 2003; Sağsöz et al., 2009; Shyla et al., 1991; Srisai et al., 2002). Similar to the studies performed in chicken (Kum, 2002), American red robin (Klem et al., 1982) and sparrow (Klem et al., 1984), it was found that the lamina muscularis in partridges is in the form of a longitudinal band of smooth muscle fibers, and as in many poultry species (Hodges, 1974; Klem et al., 1982; Klem et al., 1984; Kum, 2002; Nagy et al., 2005; Olah et al., 2003; Sağsöz et al., 2009; Shyla et al., 1991; Srisai et al., 2002), the tunica muscularis has a layer of smooth muscle cells with an inner circular and outer longitudinal direction and externally surrounded by tunica adventitia which has loose connective tissue.

As with various poultry species (Hodges, 1974; Klem et al., 1982; Klem et al., 1984; Kum, 2002; Srisai et al., 2002), in partridges, the esophagus glands were made of mucous cells and localized in lamina propria. Although the structural features of these glands differ according to the species, it has been observed that there are different definitions even in studies on the same species. In chicken, Shibata et al. (1991) found that esophageal glands are typically compound tubular glands (Shibata et al., 1991); in contrast, Kum (2002) reported that these are simply branched tubuloalveolar glands.

It has been reported that esophageal glands are simple tubular or simply branched tubular in duck (Shyla et al., 1991) and Germain's swiftlet (Srisai et al., 2002), and bottle-like in sparrow (Klem et al., 1982)

and thrush (Klem et al., 1984). In this study, when the transverse and longitudinal sections of partridge esophagus were examined, it was seen that the glands had an inflated balloon-like shape. The partridge had one or two secretory units of these glands and a short excretory duct. Therefore, partridge esophageal glands were histologically defined as simple alveolar and/or simple branched alveolar glands. It has been reported that in many poultry species there is lymphoid tissue in the esophagus and these are especially observed at the junction of the esophagus with the proventriculus (Klem et al., 1982; Klem et al., 1984; Kum, 2002; Kum et al., 2006; Nagy et al., 2005; Olah et al., 2003; Rahman et al., 2004; Shyla et al., 1991). This lymphoid tissue, called esophageal tonsil (Nagy et al., 2005; Olah et al., 2003), is defined as an important member of the gut-associated lymphoid tissue (GALT) in poultry. In the present study, there are lymph follicles in aggregate character in the transition region from the esophagus to the proventriculus in partridges, and it was named as esophageal tonsil in partridges, as reported in other poultry species (Sağsöz, 2005).

In classical carbohydrate histochemistry, PAS (+) reactions indicate the presence of neutral carbohydrates, AF (+) and AB (pH 2.5) (+) reactions indicate the presence of acidic sulfate and carboxylic mucins, and PAPS (+) reactions indicate the presence of N-acetyl sialomucins (Bancroft et al., 1984; Erdoğan et al., 2015; Schumacher et al., 2004; Spicer et al., 1992). Sağsöz and Liman (2009) reported that the glands and draining ducts located along the esophagus in adult quails show strong PAS (+) reactions and contain neutral mucins (Sağsöz et al., 2009). Again, Kum (2002) and Nakhoul et al. (2007) stated that the esophageal glands gave strong PAS (+) reactions and in this case, they showed the presence of neutral mucins (Abdulnour-Nakhoul et al., 2007; Kum, 2002). In the presented study, the intense PAS (+) reaction of glands and draining duct epitheliums in partridges in both parts of the esophagus revealed the widespread presence of neutral mucins. It has been stated that the epithelial cells that react PAS (+) or AB (+) are in equal proportions in the esophageal glands of chickens and that these glands contain neutral and carboxylic acid mucins (Kum, 2002). In a study conducted in geese, it was reported that many cells in the esophageal glands contain only AB (+) glycoconjugate, while fewer cells contain PAS (+) glycoconjugates (Demirbağ et al., 2012). In AB (pH 2.5)/PAS combined staining of partridges, the presence of mixed-reacting glandular epithelial cells and only AB (+) reacting glandular epithelial cells were observed, along with PAS (+) reactions in glandular epithelial cells. In addition, it was noted that the dominant reaction in the canal epithelial cells was the AB (+) reaction. In this case, it revealed that the esophagus glands and duct epithelial cells of partridges contain

sulfated and carboxylic acid mucins along with neutral mucins. Demirbağ et al. (2012) reported that glands and draining ducts along the esophagus in geese contain sulfated and carboxylic acid mucins (Demirbağ et al., 2012). Kum (2002) revealed that in general AB (+) reaction is dominant and AF (+) reaction is rarely found in esophageal gland and duct epithelium in chickens (Kum, 2002). Pastor et al. (1988) also revealed that esophageal glands in chickens contain a mixture of sulfo- and sialomucins (Pastor et al., 1988). It was noted that in AF/AB (pH 2.5) combined staining, esophageal gland epithelial cells showed AF (+) and AB (+) reactions in partridges, but these reactions were in the form of weak or strong AF (+) reactions in gland epithelial cells, especially towards the thoracic region. In some gland epithelial cells, only AB (+) reactions was observed. In partridges, it was determined that epithelial cells covering the glands, especially the neck parts and draining ducts, gave AF (+) rather than AB (+) reactions. These results revealed the presence of weak and strong sulfated and carboxylated (COOH group) acid mucins in the glandular and duct epithelial cells along the esophagus in partridges. Sağsöz and Liman (2009) reported that weak PAPS reactions were found in the esophageal glands of adult quails and they were especially localized in the neck parts and draining ducts of the glands. In the present study, we determined that PAPS reaction in partridges is found in the neck regions and ducts of the glands in both the cervical and thoracic part of the esophagus. This reveals the presence of N-acetyl sialomucins, one of the carboxylic acid mucins, in partridge esophagus.

In all species, the surface of the mucous membranes of the digestive, respiratory and urinary tracts is protected by a layer of sticky and persistent viscoelastic mucus, which provides low permeability for many molecules and creates a physical barrier (Gendler et al., 1995). The mucins protect the epithelium against chemical, enzymatic and mechanical destruction, as well as pathogenic microorganism invasion (Corfield et al., 2000; Sağsöz et al., 2009). Especially sulfated mucins play an important role in the protection of mucous membranes against bacterial adhesions. Because the sulfation event gives resistance to the mucosa caused by bacterial glycosidase in the mucus barrier (Brockhausen, 2003; Ferri et al., 2001; Robertson et al., 1997; Sağsöz et al., 2009). In this context, we can say that sulfated mucins in the partridge esophageal glands provide primary protection against microorganisms that try to colonize the epithelial surface. In addition, it has been reported that carboxylated mucins also settle on cell surface membranes (COOH-terminal domains) and contribute to epithelial protection by forming the basic infrastructure of gel-forming mucins (MUC2, MUC5AC, MUC5B and MUC6) (Kesimer et al., 2010). The presence of carboxylated mucins in partridge esophageal glands

suggested that in addition to the above-mentioned epithelial protection, it may help to lubricate the ingested foods and aid swallowing.

As a result; we found that the general histological structure of the esophagus in partridges is relatively similar to other poultry species. We determined that the glands localized in both the cervical and thoracic parts of the esophagus contain neutral, acidic (COOH and sulfate groups) and N-acetylsialomucins. We can say that these mucins secreted by the esophageal glands of partridges form a barrier in the esophageal mucosa, protecting the mucosa against mechanical destruction, drying, external and microbial toxic substances and bacterial adhesions.

References

- Abdulnour-Nakhoul S, Nakhoul NL, Wheeler SA, Haqua S, Wang P, Brown K, Orlando G, Orlando RC. Characterization of esophageal submucosal glands in pig tissue and cultures. *Dig Dis Sci* 2007; 52(11): 3054-65.
- Alçay N. Sağlıkta ve hastalıkta glikoproteinlerin rolü, Yüksek lisans dönem projesi, Ankara Üniv Sağlık Bil Ens, Ankara 2006; s. 1-48.
- Amano O, Mizobe K, Bando Y, Sakiyama K. Anatomy and histology of rodent and human major salivary glands: Overview of the Japan salivary gland society-sponsored workshop. *Acta Histochem Cytochem* 2012; 45(5): 241-50.
- Aytürk Ü. Broilerlerde özefageal tonsillerin ışık mikroskopik yapısı, Yüksek lisans tezi, Selçuk Üniv Sağlık Bil Ens, Konya 2008; s. 1-38.
- Bancroft JD, Cook HC. *Manual of Histological Techniques*. Edinburgh, London, Melbourne, New York: Churchill Livingstone, 1984; p. 274.
- Brockhausen I. Sulphotransferases acting on mucin-type oligosaccharides. *Biochem Soc Trans* 2003; 31(2): 318-25.
- Corfield AP, Myerscough N, Longman R, Sylvester P, Arul S, Pignatelli M. Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: New prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease. *Gut* 2000; 47(4): 589-94.
- Çolakoğlu F, Dönmez HH. Kanatlıların sindirim kanalı lenfoid dokusu. *Atatürk Üniv Vet Bilim Derg* 2018; 13(1): 106-11.
- Demirbağ E, Kelek S, Çınar K. Kaz (*Anser anser*) özofagus bezlerindeki glikokonjugatların histokimyasal özellikleri. *KSÜ Doğa Bil Derg* 2012; 15(2): 22-8.
- Erdoğan S, Sağsöz H, Paulsen F. Functional anatomy of the syrinx of the chukar partridge (Galliformes: *Alectoris chukar*) as a model for phonation research. *Anat Rec* 2015; 298(3): 602-17.
- Ferri D, Liquori GE, Natale L, Santarelli G, Scillitani G. Mucin histochemistry of the digestive tract of the red-legged frog *Rana aurora aurora*. *Acta Histochem* 2001; 103: 225-37.
- Gendler SJ, Spicer AP. Epithelial mucin genes. *Annu Rev Physiol* 1995; 57: 607-34.
- Hodges RD. *The Histology of the Fowl*. Academic Press First, 1974.
- Kadhim KH, Mohamed AA. Comparative anatomical and histological study of the esophagus of local adult male and female homing pigeon (*Columba livia domestica*). *AL-Qadisiya J Vet Med Sci* 2015; 14(1): 80-7.
- Kesimer M, Makhov AM, Griffith JD, Verdugo P, Sheehan JK. Unpacking a gel-forming mucin: A view of MUC5B organization after granular release. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol* 2010; 298(1): 15-22.
- Klem JR D, Brancato CR, Catalano JF, Kuzmin FL. Gross morphology and general histology of the esophagus, ingluvies and proventriculus of the house sparrow (*Passer domesticus*). *Penn State Univ Press* 1982; 56(2): 141-6.
- Klem JR D, Parker MA, Sprague WL, Tafuri SA, Veltri CJ, Walker MJ. Gross morphology and general histology of the alimentary tract of the american robin (*Turdus migratorius*). *Proc Pennsylvania Acad Sci* 1984; 58(2): 151-58.
- Koçak YR, Özyayın T. Kanatlı sindirim sisteminin fonksiyonel histolojisi. *Dicle Üniv Tıp Fak Derg* 2019; 12(2): 157-62.
- Kum Ş. Broilerlerde dil ve özofagus-proventrikulus arası bölge üzerinde histolojik ve histokimyasal çalışmalar. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2002; 49(3): 165-71.
- Kum S, Eren U, Sandıkçı M. Alpha-naphtyl acetate esterase (ANAE) activity and plasma cells in the oesophageal tonsils of chickens. *Rev Méd Vêt* 2006; 157(6): 326-30.
- Mater Y. *O-Bağlı-Glikozilasyon*. https://abl.gtu.edu.tr/hebe/AblDrive/71167157/w/Storage/217_2010_2_407_71167157/Downloads/o-bagli-glikozilasyon-ders4.pdf; Erişim Tarihi: 01.01.2016.
- Nagy N, Igyarto B, Magyar A, Gazdag E, Palya V, Oláh I. Oesophageal tonsil of the chicken. *Acta Vet Hung* 2005; 53(2): 173-88.

- Oláh I, Nagy N, Magyar A, Palya V. Esophageal tonsil: A novel gut-associated lymphoid organ. *Poult Sci* 2003; 82(5): 767-70.
- Pastor LM, Ballesta J, Madrid JF, Perez-Tomas R, Hernandez F. A histochemical study of the mucins in the digestive tract of the chicken. *Acta Histochemica* 1988; 83(1): 91-6.
- Rahman ML, Islam MR, Masduzzaman M, Khan MZI. Lymphoid tissues in the digestive tract of deshi chicken (*Gallus domesticus*) in Bangladesh. *Pakistan J Biol Sci* 2004; 6(13): 1145-50.
- Roberton AM, Wright DP. Bacterial glycosulphatases and sulphomucin degradation. *Can J Gastroenterol* 1997; 11(4): 361-6.
- Sağsöz H. Bildircinlarda postnatal dönemde özefagus epitelinin kantitatif histomorfolojik gelişimi ve özofagus bezlerinin histokimyasal özellikleri, Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniv Sağ Bil Ens, Kayseri 2005; p. 1-57.
- Sağsöz H, Liman N. Structure of the oesophagus and morphometric, histochemical- immunohistochemical profiles of the oesophageal gland during the post-hatching period of japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *J Vet Med Ser C Anat Histol Embryol* 2009; 38(5): 330-40.
- Schumacher U, Duku M, Katoh M, Jörns J, Krause W. Histochemical similarities of mucins produced by Brunner's glands and pyloric glands: A comparative study. *Anat Rec-Part A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004; 278(2): 540-50.
- Shibata T, Imai M, Moroguchi K, Takada Y, Hayama H. Actual characteristics of the glands distributed in the lamina propria mucosae of the fowl esophagus. *Okajimas Folia Anat Jpn* 1991; 68(1): 41-6.
- Shojaei B, Hashemnia S, Rad RE. Histochemical study of the oesophagus in the chukar partridge (*Alectoris chukar*) embryo. *Folia Morphol* 2016; 75(4): 474-80.
- Shyla P, Ommer PA, Paily L. Postnatal development of the oesophagus and crop of the duck. *J Vet Anim Sci* 1991; 22: 80-8.
- Spicer SS, Schulte BA. Diversity of cell glycoconjugates shown histochemically: A perspective. *J Histochem Cytochem* 1992; 40(1): 1-38.
- Srisai D, Juntaravimol S, Pongkete P, Koonjaenok S, Suprasert A, Sattawaphaet W. Histological and histochemical studies on esophagus of the german's swiftlet (*Collocalia germani* Oustalet, 1878). *Kasetsart Vet* 2002; 12: 16-21.
- Taşlıdere E, Kuruş M, Kazancı A, Otlı A. Sığırcılarda özefagus ve midede yaşa bağlı değişimlerin histomorfolojik açıdan incelenmesi. *Fırat Tıp Derg* 2013; 18(2): 75-82.
- Ünüböl Aypak S, Uysal H. Glikoproteinlerin yapısı ve fonksiyonları. *FÜ Sağ Bil Vet Derg* 2010; 24(2): 107-14.
- Yakan B. Hücre ve dokuların karbonhidrat içeriğinin histokimyasal yapıları ve özel gösterilme yöntemleri. *Atatürk Üniversitesi Tıp Bülteni* 1990; 22(2): 293-302.



Evaluation of Oxidative Stress in Sheep with *Toxoplasma gondii* by Malondialdehyde, Glutathione Levels, Total Oxidant Status, Total Antioxidant Capacity and Oxidative Stress Index Markers

Nergis ULAŞ^{1, a}, Mustafa Sinan AKTAŞ^{1, b}, Kerim Emre YANAR^{1, c}, Ömer AYDIN^{1, d}, Muhammed Sertaç EROĞLU^{1, e}, Emre EREN^{1, f}

¹ Atatürk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, Erzurum-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0003-2340-6882, ^b0000-0002-7206-5757, ^c0000-0001-7302-7077, ^d0000-0001-9444-1904,
^e0000-0003-1061-8421, ^f0000-0003-3118-7384

Corresponding author: Kerim Emre YANAR; E-mail: emre.yanar@atauni.edu.tr

How to cite: Ulaş N, Aktaş MS, Yanar KE, Aydın Ö, Eroğlu MS, Eren E. Evaluation of oxidative stress in sheep with *Toxoplasma gondii* by malondialdehyde, glutathione levels, total oxidant status, total antioxidant capacity and oxidative stress index markers. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):182-188

Abstract: This study was conducted to evaluate oxidative stress using markers such as malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), total oxidant status (TOS), total antioxidant capacity (TAC) and oxidative stress index (OSI) in sheep naturally infected with *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). A total of 30 Morkaraman breed sheep were used in this study. Blood samples were obtained from 10 healthy control sheep and 20 sheep naturally infected with *T. gondii*. malondialdehyde, GSH, TOS and TAC levels were determined in serum samples. The ratio of serum TOS to TAC levels was assessed as OSI. While the serum MDA level increased significantly ($P<0.01$), the serum TAC and TOS levels decreased significantly ($P<0.01$) in naturally infected with *T. gondii* sheep. There were no different for serum GSH and OSI in between the groups ($P>0.05$). Negative correlation ($P<0.01$) between TAC and OSI and a positive correlation ($P<0.01$) between TOS and MDA were determined in naturally infected with *T. gondii* sheep. In conclusion, the results of study suggested that OSI, TAC and MDA could be used as indicator of oxidative stress for sheep naturally infected with *T. gondii*.

Keywords: Oxidative stress, sheep, *T. gondii*

***Toxoplasma gondii*'li koyunlarda Oksidatif Stresin Glutasyon, Malondialdehit Düzeyi, Oksidatif Stres İndeksi, Toplam Oksidan Durumu ve Toplam Antioksidan Kapasitesi Kullanılarak Değerlendirilmesi**

Öz: Bu çalışma, *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) ile doğal olarak enfekte olmuş koyunlarda malondialdehit (MDA), glutasyon (GSH), toplam oksidan durumu (TOS), toplam antioksidan kapasite (TAK) ve oksidatif stres indeksi (OSI) gibi belirteçler kullanılarak oksidatif stresi değerlendirmek amacıyla yapıldı. Bu çalışmada toplam 30 baş Morkaraman ırkı koyun kullanıldı. Kontrol için 10 sağlıklı koyundan ve *T. gondii* ile doğal olarak enfekte olmuş 20 koyundan kan örnekleri alındı. Serum örneklerinde MDA, GSH, TOS ve TAK seviyeleri belirlendi. Serum TOS' un TAK seviyelerine oranı OSI olarak değerlendirildi. *T. gondii* ile doğal olarak enfekte olan koyunlarda serum MDA düzeyi önemli ölçüde artarken ($P<0.01$), serum TAK ve TOS düzeyleri önemli ölçüde azaldı ($P<0.01$). Serum GSH ve OSI düzeyleri yönünden gruplar arasında farklılık bulunamadı ($P>0.05$). *T. gondii* ile doğal enfekte koyunlarda TAK ile OSI arasında negatif ($P<0.01$), TOS ile MDA arasında ise pozitif ($P<0.01$) korelasyon saptandı. Sonuç olarak *T. gondii* ile doğal enfekte koyunlarda OSI, MDA ve TAK değerlerinin oksidatif stres göstergesi olarak kullanılabileceği tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Koyun, oksidatif stres, *T. gondii*

Introduction

Toxoplasmosis is a widespread zoonotic disease caused by intracellular protozoan parasite *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) (Oncel and Vural, 2006). It causes serious economic loss by causing neonatal losses, stillbirths and abortions in all livestock species, especially sheep (Van der Puije et al., 2000). It can affect all warm-blooded animals, including humans (Ragozo et al., 2008). There are three mechanism of transmission of *T. gondii*; ingestion of oocysts of de-

finite host's (cats) via shed in the feces, congenital transmission from mother to the fetus and ingestion of tissue cysts in half-cooked meat (Gao et al., 2018; Duncanson et al., 2001). Infected cats, which are definitive hosts, can shed oocysts in their feces, and this is a major source of infection for sheep (Innes et al., 2009).

Infectious agents and phagocytosed cells of the immune system lead to respiratory burst, which is the basic resource of free radicals by consuming very fast oxygen (Sezer and Keskin, 2014). The shifting of the equalize between body's antioxidant defense system and the free radicals in favour of oxidants is named oxidative stress. Although oxidants occur as a

physiological product of aerobic metabolism, they can be generated at high rates under abnormal conditions (Sies, 1997). Oxidants cause oxidative stress by production of free radicals or by inhibiting antioxidant system. Free radicals are generated in tissues can directly damage macromolecules such as lipids, proteins and nucleic acids (Neelam et al., 2017). The roles of antioxidants include inactivating excess free radicals, protecting cells against the toxic influences of free radicals and contributing to the prevention of diseases (Karabulut and Gülay, 2016). It involves enzymatic and non-enzymatic molecules. Enzymatic molecules include glutathione transferase (GST), catalase, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GTPx), and thioredoxin; non-enzymatic antioxidants include such as vitamin E, vitamin C, glutathione (GSH), and carotenoids (Birben et al., 2012).

Glutathione is synthesized in the liver and made up of cysteine, glycine and glutamic acid amino acids and it protects the cells from oxidative damage. Most antioxidants have been investigated in protozoa and helminth-borne diseases (Karaman et al., 2008). It is necessary to protect cells from toxoplasma infestation (Ali et al., 2006). It has been suggested that the oxidative stress index (OSI), which was developed to define oxidative/antioxidant imbalances more clearly, may be a suitable parameter for determining oxidative stress (Baltacıoğlu et al., 2014).

T. gondii induces IFN-gamma and other proinflammatory cytokines and that causes host tissue damage and death (Engin et al., 2012). To detection of oxidative stress in ruminants the last product of lipid peroxidation, malondialdehyde (MDA), enzymatic and non-enzymatic antioxidants, total antioxidant capacity (TAC) and total oxidant status (TOS) are used (Aktas et al., 2017). Parasitic infections can cause defense mechanisms that involve the generation of enhanced reactive oxygen species (ROS) (Sanchez-Campos et al., 1999; Bahrami et al., 2016). Antioxidants in oxidative tissue damage are thought to be a powerful treatment in preventing oxidative stress (Süleyman et al., 2018). This study was performed to investigate possibility of usage of MDA, GSH, TOS, TAC as well as OSI markers for determination of the oxidative stress in *T. gondii* in naturally infected sheep.

Material and Method

Animals and protocol design

The present study was approved by the Ethics Committee of Veterinary Faculty, Atatürk University, Erzurum, Turkey (approval number 2022/13). A total of 30 female Morkaraman breed sheep, between 2 and 3 years old were used in this study. The sheep were divided into two groups: 10 healthy control sheep and 20 sheep naturally infected with *T. gondii* (n=20).

Animal welfare and ethical principles were followed at all stages of the study. Blood samples were collected from sheep in accordance with animal welfare.

Blood sampling

10 ml blood collected from the vena jugularis of sheep were transferred to sterile tubes (BD Vacutainer System, Becton, Dickinson & Co. UK). After the samples were kept at room temperature for 30 minutes, and they were centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes. Serum samples obtained were kept in a deep freezer at -20°C until analysis were done.

Serological investigations

An enzyme linked immune assay (ELISA) test kit was used to detect antibodies of *T. gondii* in sheep serum samples. The ELISA test was conducted via a commercially available enzyme immunoassay kit in accordance with manufacturer's directives (CHEKIT TOXOTEST, IDEXX Laboratory, USA).

Biochemical assay

To measure levels in MDA spectrophotometrically, Ohkawa et al. (1979) method was used. The measurement of serum GSH level was enforced based on the method developed by Sedlak and Lindsay (1968). The TOS and TAC values in the blood were measured with a commercial kit (Rel Assay Kit Diagnostics, Turkey). As a calibrator, Trolox was used for TAC tests and the results were evaluated in mmol Trolox equiv/L (Erel, 2004). As a calibrator, hydrogen peroxide was used for TOS tests and the results were expressed in mmol H₂O₂ equiv/L (Erel, 2005). OSI was determined by the ratio of TOS to TAC level. The calculation of the OSI value was made with respect to the OSI (arbitrary unit) = $\text{TOS} (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}) / \text{TAC} (\mu\text{mol Trolox Eq/L})$ (Kosecik et al., 2005; Mutlu et al., 2011).

Statistical analysis

Shapiro-Wilks test was used to determine whether the data were suitable for normal distribution and Levene homogeneity test was used to determine whether the variances were homogeneous. Data were statistically analyzed by using Student's t-test. The relationship among GSH, MDA, TOS, TAC, and OSI in *T. gondii* positive sheep was determined by Pearson's correlation coefficient. Data are summarized with arithmetic mean and standard error values. Significance levels were taken as 5% ($P < 0.05$) in all analyzes. All statistical analysis was conducted in SPSS for Windows Ver. 10.0 (IBM, USA, 1999).

Results

Serological findings

In the analyzes performed using the ELISA test kit, it

was determined that *T. gondii* antibodies were positive for all sheep in the *T. gondii* group while sheep in the control group were negative.

Biochemical findings

Table-1 shows the serum MDA, GSH, TOS, TAC as well as OSI levels. A significant increase in serum MDA levels ($P<0.01$) and a significant decrease in TOS ($P<0.05$) and TAC levels ($P<0.01$) in the naturally infected with *T.gondii* group compared to the control group was determined. Although differences between control and naturally infected with *T.gondii* groups concerning GSH and OSI levels were not statistically significant ($P>0.05$), numerical increases of the GSH and OSI levels in naturally.

examined in different parasitic diseases of people and animals (Sanchez-Campos et al., 1999; Heidarpour et al., 2013a; Jafari et al., 2014; Heidarpour et al., 2013b; Saleh, 2008; Saleh et al., 2009). No studies were found on the measurement of serum, MDA, GSH, TOS, TAC and OSI and levels in sheep which was infected naturally with *T. gondii*. Therefore, this study was performed in sheep infected naturally with *T. gondii* to determine serum MDA, GSH, TOS, TAC and OSI levels and to assess oxidative stress status.

Malondialdehyde, the final product of lipid peroxidation, is used as a biomarker of oxidative stress (Aktas et al., 2017; Sanchez-Campos et al., 1999). Most researchers reported elevation of MDA in diseases such as theileriosis, psoroptic mange, Bluetongue

Table 1. Serum concentrations MDA, GSH levels, TOS, TAC, and OSI of sheep in groups (mean±SE)

Parameters	Control group (n=10)	Naturally infected with <i>T. gondii</i> group (n=20)
MDA (nmol/ml)	15.26±1.18	24.8±1.03**
GSH (mmol/ml)	1.545±0.45	1.663±0.06
TOS (µmol H ₂ O ₂ Eq/L)	33.75±2.10	27.92±1.60*
TAC (mmol Trolox Eq/L)	1.42±0.03	1.10±0.03**
OSI (arbitrary unit)	24.44±1.37	26.24±1.95

MDA: malondialdehyde, TOS: total oxidant status, TAC: total antioxidant capacity, GSH: glutathione, OSI: oxidative stress index. The data are presented as mean ±SE. * $P<0.05$ and ** $P<0.01$ compared with control group.

The correlation analysis conclusions between MDA, GSH, TOS, TAC and OSI of sheep in the naturally infected with *T.gondii* group are given in Table 2. It was determined that there was a negative significant correlation ($P<0.01$) between OSI and TAC, and a positive significant correlation ($P<0.01$) between OSI and TOS.

disease, naturally infected with *Dicrocoelium dentriticum* (*D. dentriticum*), naturally infected with Pox Virus, Schmallenberg virusin sheep and coccidiosis in cattle (Baghshani et al., 2011; Aktas et al., 2017; Aytakin et al., 2015; Şimşek et al., 2006; Kirmizigulet al., 2016; Macun et al., 2018; Yılmaz et al., 2014).

Table 2. Correlations among MDA, GSH levels, TOS, TAC and OSI of sheep in naturally infected with *T. gondii* group

Parameters	MDA	GSH	TAC	TOS	OSI
MDA	-	0.368	0.115	0.144	0.024
GSH		-	0.280	-0.160	0.321
TAC			-	-0,346	-0.695**
TOS				-	0.902**
OSI					-

MDA: malondialdehyde, GSH: glutathione, TOS: total oxidant status, TAC: total antioxidant capacity, OSI: oxidative stress index. ** $P<0.01$

Discussion and Conclusion

Toxoplasmosis is a common parasitic disease in Turkey as well as in other countries. It is most important factor of abortion in sheep. Therefore, it causes great economic losses in sheep breeding. Toxoplasmosis effects both human medicine and veterinary science because of its zoonotic property (Mor and Arslan, 2007). Many parasitic infections are caused by oxidant production, which can suppress the antioxidant defense system and damage host cells (Heidarpour et al., 2013a). Oxidative stress and antioxidants were

Atmaca et al. (2015) found that the MDA level in gerbils infected with *T. gondii* increased significantly compared to the control group in their experimental research. Also Karaman et al. (2008) reported that serum MDA levels were increased significantly in *Toxoplasma* seropositive people. Increase in the level of MDA was found parallel with other studies in our study. This increase in MDA level can be considered as an indicator of increased free radical production in *T. gondii* positive sheep. Although it is not statistically significant, the positive correlation between MDA and TOS in *T. gondii* group supports this information.

Reactive oxygen species have harmful effect on cells. The imbalance between oxidants and antioxidants causes damage to cells by leading to oxidative stress (Celi and Gabani, 2015). GSH is synthesized in the liver and made up of glycine, glutamic acid, and cysteine amino acids and it protects the cells from oxidative damage (Karaman et al., 2008). It was reported that GSH levels were decreased in hosts infected with *Fasciola hepatica*, *Schistosoma mansoni*, *D. dentriticum* compared to healthy controls (Sanchez-Campos et al., 1999; El-Sokkary et al., 2002; Kolodziejczyk et al., 2005). Antioxidant defense capability consists of enzymatic and non-enzymatic systems, the latter mainly represented by glutathione (Luberda, 2005). In our study, although the TAC level was significantly lower in the *T. gondii* group compared to the control group, there was no significant difference between GSH levels, suggesting that the enzymatic antioxidant defense may have been affected more. It is known that the nonenzymatic antioxidant defense does not consist only of GSH. Therefore, studies need to be conducted on more samples and evaluating more enzymatic and nonenzymatic antioxidants together with GSH.

The measure of TAC reflects all antioxidants. It is a reliable marker used to detect oxidative changes not only single specific antioxidants (Celi, 2010). This method can be used for interpreting the result of different treatments on plasma redox status in healthy subjects (Ghiselli et al., 2000). Significant decrease of TAC level was reported in cows with mastitis, coccidiosis and *Babesiosis* in sheep (Atakisi et al., 2010; Yılmaz et al., 2014; Esmailnejad et al., 2014). Kirmizigul et al. (2016) found that the TAC level was significantly lower in infected sheep compared to healthy sheep in their study which was carried out on sheep with Pox virus. In this study, it was found that serum TAC level was significantly decreased in sheep infected with toxoplasmosis compared to the control group. Reduction of TAC level in the infected sheep may possibly mean that antioxidant enzymes are consumed as free radical scavengers during oxidative process in natural toxoplasmosis. The negative correlation of OSI with TAC in the group of sheep infected naturally with *T. gondii* supports this information.

Since measuring oxidant substances one by one is not a very simple process in the evaluation of oxidant status, knowing TOS level is used as another parameter in determining / evaluating oxidative stress (Erel, 2004). Studies using TOS in determining oxidative stress have been conducted and different results have been obtained. Aktaş et al. (2017) in sheep with *Psoroptes ovis*, Kükürt et al. (2018) in sheep with pneumonia, and Kirmizigul et al. (2016) in naturally infected sheep with pox virus reported significant increases in TOS levels compared to healthy sheep. Durgut et al. (2013) noted that there was insignificant

difference in TOS levels between bovine herpes virus -1 positive cattle and healthy cattle, but there was a negative correlation between TOS and TAC. Contrary to these reports, serum TOS levels in sheep infected with *T. gondii* group were significantly lower than in control group in this study. In addition, similar to the data of Durgut et al. (2013), it was determined that there was a negative correlation between total antioxidant capacity (TAC) levels and total oxidant status (TOS), although it was not statistically significant. These data obtained from the study can be interpreted as that antioxidant mechanisms are very active to combat oxidative stress.

Although there are doubts about its interpretation; OSI is a parameter used in the determination of oxidative stress such as MDA, hydroperoxides, DNA damage, IMA, protein carbonyls, thiols, prolidase, paraoxonase, antioxidant enzymes, antioxidant vitamins and other markers. Overall, the increase of OSI indicates the severity of oxidative stress (Martha et al., 2019). Aktaş et al. (2017) in sheep infected with *Psoroptes ovis*, Kükürt et al. (2018) in sheep with pneumonia found that the OSI level was significantly higher than the healthy sheep. Baptistioli et al. (2018) determined that the OSI level in sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus* was much higher than the control group on the 28th and 34th days of inoculation. According to Durgut et al. (2016) in cattle with abomasum displacement, they found that OSI level was significantly greater in cattle with right displacement compared to with left displacement and healthy cattle. Invernizzi et al. (2019) found in a study they conducted that the OSI level at the calving time was higher than the dry period and the 30th day after calving. Durgut et al. (2013) did not find any difference between the OSI levels of bovine herpes virus-1 infected cattle and healthy cattle. In this study, it was determined that the OSI levels of sheep naturally infected with *T. gondii* group were numerically higher, although not statistically significant. In addition, a significant negative correlation was found between TAC and OSI, and a significant positive correlation between OSI and TOS in the group of sheep naturally infected with *T. gondii*.

As a result, the data obtained from this study, which was the first to evaluate oxidative stress in sheep naturally infected with *T. gondii*, show that oxidative stress develops in sheep which was naturally infected with *T. gondii*, and OSI, TAC as well as MDA could be used as markers in determination of oxidative stress in these animals.

References

Aktas MS, Kandemir FM, Kirbas A, Hanedan B, Aydin MA. Evaluation of oxidative stress in sheep infected with *Psoroptes ovis* using total antioxidant capacity, total oxidant status, and malondialdehyde

- level. J Vet Res 2017; 61(2): 197-201.
- Ali WK, Umar FH, Aziz BN. Effect of *Toxoplasma gondii* infestation on lipid peroxidation and certain antioxidants in pregnant women in Mosul city. RJS 2006; 17(11): 16-25.
- Atakisi O, Oral H, Atakisi E, Merhan O, Pancarci SM, Ozcan A, Marasli S, Polat B, Colak A, Kaya S. Sub-clinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk. Res Vet Sci 2010; 89(1): 10-3.
- Atmaca N, Cınar M, Güner B, Kabakçı R, Gazyagcı AN, Atmaca HT, Canpolat S. Evaluation of oxidative stress, hematological and biochemical parameters during *Toxoplasma gondii* infection in gerbils. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2015; 62(3):165-70.
- Aytekin I, Aksit H, Sait A, Kaya F, Aksit D, Gökmen M, Baca AU. Evaluation of oxidative stress via total antioxidant status, sialic acid, malondialdehyde and RT-PCR findings in sheep affected with blue-tongue. Vet Rec Open 2015; 2(1): e000054.
- Baghshani H, Razmi GR, Yaghfourı S, Ahmadi A. Status of some oxidative stress biomarkers in sheep naturally infected with theileriosis. Res Opin Anim Vet Sci 2011; 1: 499-504.
- Bahrami S, Shahriari A, Tavalla M, Azadmanesh S, Hamidinejat H. Blood levels of oxidant/antioxidant parameters in rats infected with *Toxoplasma gondii*. Oxid 2016; 8045969.
- Baltacıoğlu E, Yuva P, Aydın G, Alver A, Kahraman C, Karabulut E, Akalin F. Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: A new biomarker for periodontal disease? J Periodontol 2014; 85(10): 1432-41.
- Baptistioli L, Narciso LG, Almeida BFM, Bosco AM, Souza JC, Torrecilha RBP, Pereira PP, Figueiredo RN, Garcia JF, Kaneto CN, Ciarlini PC. Systemic oxidative stress in Suffolk and Santa Ines sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus*. Acta Parasitol 2018; 63(3): 504-14.
- Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organ J 2012; 5(1): 9.
- Celi P. The role of oxidative stress in small ruminants' health and production. R Bras Zootec 2010; 39: 348-63.
- Celi P, Gabai G. Oxidant/antioxidant balance in animal nutrition and health: The role of protein oxidation. Front Vet Sci 2015; 2: 48.
- Duncanson P, Terry RS, Smith JE, Hide G. High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in a commercial sheep flock. Int J Parasitol 2001; 31(14): 1699-703.
- Durgut R, Ataseven VS, Sagkan-Ozturk A, Ozturk OH. Evaluation of total oxidative stress and total antioxidant status in cows with natural bovine herpesvirus-1 infection. J Anim Sci 2013; 91(7): 3408-12.
- Durgut R, Ozturk AS, Ozturk OH, Guzel M. Evaluation of oxidative stress, antioxidant status and lipid profile in cattle with displacement of the abomasum. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2016; 63(2): 137-41.
- El-Sokkary GH, Omar HM, Hassanein AFMM, Cuzzocrea S, Reiter RJ. Melatonin reduces oxidative damage and increases survival of mice infected with *Schistosoma mansoni*. Free Radic Biol Med 2002; 32(4): 319-32.
- Engin AB, Dogruman-AI F, Ercin U, Celebi B, Babur C, Bukan N. Oxidative stress and tryptophan degradation pattern of acute *Toxoplasma gondii* infection in mice. Parasitol Res 2012; 111(4): 1725-30.
- Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin Biochem 2004; 37(4): 277-85.
- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem 2005; 38(12): 1103-11.
- Esmailnejad B, Tavassoli M, Asri-Rezaei S, Dalir-Naghadeh B, Malekinejad H, Jalilzadeh-Amin G, Arjmand J, Golabi M, Hajipour N. Evaluation of antioxidant status, oxidative stress and serum trace mineral levels associated with *Babesia ovis* parasitemia in sheep. Vet Parasitol 2014; 205(1-2): 38-45.
- Gao Y, Guo H, Moumouni AP, Sun M, Liu M, Efstathiou A, Lee S, Wang G, Li J, Li Y. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep from northern China. Trop Biomed 2018; 35(3): 664-8.
- Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: Critical view and experimental data. Free Radic Biol Med 2000; 29(11): 1106-14.
- Heidarpour M, Mohri M, Borji H, Moghaddas E. Oxidant/antioxidant balance and trace elements status in sheep with liver cystic echinococcosis. Comp Clin Path 2013a; 22(6): 1043-9.
- Heidarpour M, Mohri M, Borji H, Moghdass E. Oxidant/antioxidant status in cattle with liver cystic

- echinococcosis. *Vet Parasitol* 2013b; 195(1-2): 131-5.
- Innes EA, Bartley PM, Buxton D, Katzer F. Ovine toxoplasmosis. *Parasitology* 2009; 136(14): 1887-94.
- Invernizzi G, Koutsouli P, Savoini G, Mariani E, Rebucci R, Politis ABI. Oxidative indices as metabolic stress predictors in periparturient dairy cows. *Ital J Anim Sci* 2019; 18(1): 1356-60.
- Jafari M, Salehi M, Shirbazou S, Abasian L, Talebi-Meymand F. Evaluation of gender-related differences in response to oxidative stress in *Toxoplasma gondii* positive serum. *Ann Mil Health Sci Res* 2014; 12(2): 64-9.
- Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg* 2016; 1(1): 65-76.
- Karaman U, Celik T, Kiran TR, Colak C, Daldal NU. Malondialdehyde, glutathione, and nitric oxide levels in *Toxoplasma gondii* seropositive patients. *Korean J Parasitol* 2008; 46(4): 293.
- Kirmizigul AH, Ogun M, Ozen H, Erkilic EE, Gokce E, Karaman M, Kukurt A. Oxidative stress and total sialic acid levels in sheep naturally infected with pox virus. *Pak Vet J* 2016; 36(3): 312-5.
- Kolodziejczyk L, Siemieniuk E, Skrzydlewska E. Antioxidant potential of rat liver in experimental infection with *Fasciola hepatica*. *Parasitol Res* 2005; 96(6): 367-72.
- Kosecik M, Erel O, Sevinc E, Selek S. Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Int J Cardiol* 2005; 100(1): 61-4.
- Kükürt A, Ögün M, Merhan O, Kaya İ, Akyüz E, Karapehlivan M. Oxidative stress index in Tuj sheep with pneumonia. *J Cell Neurosci Oxid Stress* 2018; 10(2): 755.
- Luberda Z. The role of glutathione in mammalian gametes. *Reprod Biol* 2005; 5(1): 5-17.
- Macun HC, Çınar M, Azkur AK, Kalender H, Erat S. Oxidative stress in Akkaraman ewes with seropositive for schmallenberg virus. *Atatürk University J Vet Sci* 2018; 13(2): 128-34.
- Martha A, Sánchez R, Víctor MMN. Oxidative stress indexes for diagnosis of health or disease in humans. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 25: 4128152.
- Mor N, Arslan MÖ. Kars yöresindeki koyunlarda *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansı. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2007; 13(2): 165-70.
- Mutlu B, Aksoy N, Cakir H, Celik H, Erel O. The effects of the mode of delivery on oxidative-antioxidative balance. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011; 24(11): 1367-70.
- Neelam, Kumar P, Virmani M, Rakha NK, Jhambh R. The interplay of oxidants and antioxidants: Oxidative stress in bovine tropical theileriosis. *Int J Pure App Biosci* 2017; 5(5): 1478-84.
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2): 351-8.
- Oncel T, Vural G. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sheep in Istanbul, Turkey. *Vet Arh* 2006; 76(6): 547-53.
- Ragozo AMA, Yai LEO, Oliveira L, Dias RA, Dubey J, Gennari SM. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from sheep from São Paulo state. *Brazil J Parasitol* 2008; 94(6): 1259-63.
- Saleh MA. Circulating oxidative stress status in desert sheep naturally infected with *Fasciola hepatica*. *Vet Parasitol* 2008; 15(3-4): 262-9.
- Saleh MA, Al-Salahy MB, Sanousi SA. Oxidative stress in blood of camels (*Camelus dromedaries*) naturally infected with *Trypanosoma evansi*. *Vet Parasitol* 2009; 162(3-4): 192-9.
- Sanchez-Campos S, Tunon M, Gonzalez P, Gonzalez-Gallego J. Oxidative stress and changes in liver antioxidant enzymes induced by experimental dicroceliosis in hamsters. *Parasitol Res* 1999; 85(6): 468-74.
- Sedlak J, Lindsay RHL. Estimation of total, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Elman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25: 192-205.
- Sezer K, Keskin M. Serbest oksijen radikallerinin hastalıkların patogenezisindeki rolü. *FÜ Sağ Bil Vet Derg* 2014; 28(1): 49-56.
- Sies H. Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Exp Physiol* 1997; 82(2): 291-5.
- Şimşek S, Yüce A, Ütük AE. Determination of serum malondialdehyde levels in sheep naturally infected with *Dicrocoelium dendriticum*. *FÜ Sağlık Bil Dergisi* 2006; 20(3): 217-20.
- Süleyman H, Gul V, Erhan E. Oksidatif stres ve doku hasarı. *Erzincan Tıp Dergisi* 2018; 1(1): 1-4.
- Van Der Puije WN, Bosompem KM, Canacoo EA, Wastling JM, Akanmori BD. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. *Acta Trop* 2000; 76(1): 21-6.

Yilmaz S, Issi M, Kandemir FM, Gul Y. Malondialdehyde and total antioxidant levels and hematological parameters of beef cattle with coccidiosis. *Van Vet J* 2014; 25(2): 41-5.



Toplu Yemek Üretimi Yapan Bir İşletmede Personel ve Gıda Temas Yüzeylerinin Mikrobiyolojik Yönden Değerlendirilmesi*

Nazlı GÜZEL^{1,a}, Nurhan ERTAŞ ONMAZ^{1,b}

¹Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Veteriner Halk Sağlığı Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0003-3090-1590; ^b0000-0002-4679-6548

Corresponding author: Nurhan ERTAŞ ONMAZ, E-posta: nertas@erciyes.edu.tr

How to cite: Güzel, N. Ertaş Onmaz, N. Toplu yemek üretimi yapan bir işletmede personel ve gıda temas yüzeylerinin mikrobiyolojik yönden değerlendirilmesi. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):189-194

Öz: Bu çalışmada, Kayseri ilinde bir kamu kuruluşuna ait toplu yemek üretimi yapan bir tesiste yemek hazırlamada çalışan personel ve gıda ile temas eden yüzeylerden alınan örneklerin bazı indikatör mikroorganizmaların varlığı açısından incelenmesi amaçlandı. Çalışma süresince tesis Nisan-Temmuz 2021 tarihleri arasında birer ay arayla dört kere ziyaret edildi. Her ziyarette tesiste yemek hazırlamada çalışan 24 personel ile 16 adet ekipman ve gıda ile temas eden yüzeylerden (bıçak, köfte şekillendirme makinesi, kıyma makinesi, et doğrama makinesi, sebze doğrama makinesi ve tezgâh) alınan svap örnekleri materyal olarak kullanıldı. Alınan örnekler toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı ile koliform, *Escherichia coli* (*E. coli*) ve *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) kontaminasyon durumu bakımından konvansiyonel metotlar kullanılarak analiz edildi. Çalışmada, analiz edilen personel el svap örneklerinin %6.6, %3.3 ve %4.4'ü sırası ile *S. aureus*, *E. coli* ve total koliform ile kontamine olduğu belirlendi. Tesiste yemeklerin hazırlık aşamalarında çiğ gıda ile temasta olan yüzey örneklerinin tamamının total koliform ve *E. coli*, %96.8'inin ise *S. aureus* ile kontamine olduğu tespit edildi. Çalışma sonuçları, Kayseri ilinde bir kamu kuruluşunda toplu gıda üretimi yapılan tesiste çalışan personelin büyük çoğunluğunun el hijyeni kurallarına uyduğunu fakat yemek hazırlama aşamalarında kullanılan ekipman ve yüzeylerin sanitasyonunun yetersiz olduğunu ve çapraz kontaminasyon riski taşıdığını gösterdi.

Anahtar kelimeler: Hijyen, kontaminasyon, mikrobiyal indikatör, personel, toplu tüketim

Microbiological Evaluation of Personnel and Food Contact Surfaces in a Mass Meal Production Plants

Abstract: In this study, it was aimed to examine the samples collected from food contact surfaces and personnel working in food preparation belonging to a public institution in Kayseri, in terms of the presence of indicator microorganisms. During the study, the facility was visited four times at one-month intervals between April and July 2021. In each visit, swab samples taken from 24 personnel working at the facility in food preparation and 16 equipment and food contact surfaces (knife, meatball shaping machine, mincing machine, meat chopper, vegetable chopper, and bench) were used as material. The samples were analyzed by using conventional methods for total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) count and coliform, *Escherichia coli* (*E. coli*), and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) contamination status. In the study, 6.6%, 3.3%, and 4.4% of the analyzed personnel hand swabs were found to be contaminated with *S. aureus*, *E. coli*, and total coliform, respectively. It was determined that all of the surface samples in contact with raw food at the facility were contaminated with total coli form and *E. coli*, and 96.8% with *S. aureus*. The results of the study showed that the majority of the personnel working in the facility where mass food production is made in a public institution in Kayseri province comply with the hand hygiene rules, but the equipment and surfaces utilized in the food preparation stages are insufficiently sanitized and carry the risk of cross contamination.

Keywords: Contamination, hygiene, mass consumption, microbial indicator, personnel

Giriş

Son yıllarda sosyo-ekonomik değişikliklerle birlikte ülkemizde ve dünyanın birçok ülkesinde çalışma şartları değişmekte, çalışan birey sayısı artmaktadır. Bu durum ev dışında lezzetli, hijyenik, sağlıklı ve estetik olarak sunulan yiyeceklerle çok daha fazla talep oluşturmuş ve toplu beslenme hizmeti sektörü genişleyen bir endüstriye dönüşmüştür (Botonaki ve ark., 2009).

Toplu beslenme hizmetinde bilgi ve dikkat ile birlikte profesyonel bir yaklaşımla ve kabul edilebilir sanitasyon standartlarında hazırlanmış yiyecek ve içecekler, estetik ve lezzetli olarak çok sayıda insana tatmin edici ve uygun maliyetli bir şekilde sunulması amaçlanmaktadır. Bu amaç doğrultusunda, toplu beslenme hizmetleri sektöründe yiyecek hazırlama ve sunma süreçlerinde ortaya çıkabilecek fiziksel, kimyasal ve biyolojik sağlık tehlikelerinin belirlenmesi ve bu faktörlerden kaynaklanabilecek risklerin ortaya konarak önleyici gıda güvenliği güvence sistemlerinin geliştirilmesi konuları ön plana çıkmaktadır (Burlingame ve Dernini, 2012). Toplu beslenme sistemlerinde yiye-

Geliş Tarihi/Submission Date : 11.04.2022
Kabul Tarihi/Accepted Date: 28.06.2022

*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen TYL-2021-10899 kodlu projeden özetlenmiştir.

ceklerin hazırlanması ve pişirilmesi sırasında; personelden, hazırlama ünitesinde kullanılan araç gereçlerden ve diğ er ürünlerden, gıdalara mikroorganizma geçi ş i söz konusu olabileceğ i gibi; kesme, doğrama, dilimleme, karıştı rma, süsleme, porsiyonlama gibi işlemler de risk ihtiva etmektedir (Ciğ erim ve Beyhan, 1994; Merdol Kutluay ve ark., 2003; Bilici, 2008). Gıda kaynaklı patojenler gıdaların hazırlanması esnasında çiğ gıdadan son ürüne personel alet ve ekipmanlar yolu ile taşınabilirler. Ayrıca toplu yemek tüketimi yapılan yerlerde gıdaların hazırlık aşamasında kullanılan ekipmanlar da çapraz kontaminasyonun önemli kaynaklarıdır (Yıldırım ve ark., 2017; Erkoç, 2019; Yıldırım ve ark., 2020). Özellikle ısı l işlem görmeyen gıdalarda personel kaynaklı bulaşma ihtimali göz ardı edilmemelidir (Tiryaki, 2018).

Bu çalışmada, Kayseri ilinde bir kamu kurumuna ait toplu yemek üretimi yapan işletmede çalışan personel ve gıda ile temas eden yüzeylerden alınan örneklerin indikatör mikroorganizmaların (Toplam Aerob Mezofil Bakteri - TAMB, koliform, *S. aureus* ve *E. coli*) varlığı açısından incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Çalışma kapsamında, Kayseri ilinde bir kamu kuruluşuna ait toplu yemek tüketimi yapılan bir tesiste çalışan personel ve gıda ile temas eden yüzeylerden alınan svap örneğ i materyal olarak kullanıldı. Örneklerin alındığı tesis Nisan-Temmuz 2021 tarihleri arasında birer ay arayla dört kere ziyaret edildi. Her ziyarette tesiste yemek hazırlamada çalışan personel, ekipman ve gıda ile temas eden yüzeylerden alınan örnekler 4°C'de soğuk zincir altında aynı gün laboratuvara getirilerek analize tabi tutuldu (Tablo 1).

örnekleme gerçekleştirildi (Gungor ve ark., 2021).

Alet-ekipman ve yüzeylerin örnekleme: Çalışma kapsamında tesiste yemek hazırlama esnasında gıda ile temas eden alet ve ekipmanların örnekleme yemeklerin hazırlanması esnasında habersiz ziyaretler ile gerçekleştirildi. Gıda ile temas eden yüzey ve alet ekipmandan örnekleme yüzeyini sınırlamak için 10 cm²'lik steril bir şablon kullanıldı (Harrigan ve McCance 1976). Alet ekipman ve yüzeylerden örnekleme yapmak için steril şablon ile sınırlandırılan bölgelere 10 mL steril %0.1 pepton su içinde önceden nemlendirilmiş steril svap ile üç yönde üç kez sürüldü (Yıldırım ve ark., 2020).

Mikrobiyolojik analizler

Staphylococcus aureus izolasyonu: Yemekhaneye yapılan her bir ziyarette personel, alet ekipman ve yüzeylerden alınan örneklerden koagülaz pozitif stafylokokların izolasyonu için daha önce ISO 6888-1 standart prosedüründe (ISO, 1999) tarif edildiğ i gibi yapıldı. Bu amaçla, svap örneklerinin 10 kat seri dilüsyonları (10⁻¹ -10⁻⁴) hazırlandı. Her bir dilüsyondan 100 µL alınarak Egg Yolk Tellürit (Merck, Almanya) eklenmiş Baird Parker agar (Merck, Almanya) üzerine inoküle edilerek yayma plak tekniğ i ile ekildi ve 37°C'de 24-48 saat aerobik olarak inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda, besiyerinde gelişen koyu gri ile siyah renkte parlak ve etrafında zon oluşmuş konveks koloniler *S. aureus* şüpheli olarak değerlendirilip Gram boyama, katalaz, DNaz, koagülaz ve anaerob mannitol fermentasyon testleri ile doğrulandı.

Total koliform ve E. coli izolasyonu: Daha önce homojenize edilmiş olan sıvap örneklerinden 100µL alınarak önceden hazırlanan Chromocult Coliform Agar (Merck, Almanya)'a yayma plak tekniğ i ile ino-

Tablo 1. Çalışma kapsamında yemekhanede yapılan örnekleme

Örnekleme	Tesisin ziyaret dönemlerinde alınan örnek sayısı				Toplam
	1. Örnekleme (Nisan 2021)	2. Örnekleme (Mayıs 2021)	3. Örnekleme (Haziran 2021)	4. Örnekleme (Temmuz 2021)	
Personel	24	22	24	20	90
Bıçak	9	9	9	9	36
Köfte Şekillendirme Makinası	1	1	1	1	4
Kıyma Makinası	1	1	1	1	4
Et Doğrama Makinası	1	1	1	1	4
Sebze Doğrama Makinası	1	1	1	1	4
Tezgah	3	3	3	3	12
Toplam	40	38	40	36	154

Personel ellerinin örnekleme: Çalışma kapsamında personelin her iki elinden önceden haber vermeksizin mesai saatleri içinde svap örnekleri alındı. Elden svap örneğ i almak amacıyla Carry-Blair transport besi yeri (Oxoid, İngiltere) kullanıldı. Besi yeri içerisindeki steril svap personelin avuç içine, parmak aralarına ve her iki elin parmak uçlarına sürülerek

küle edildikten sonra 37°C'de 24 saat aerobik olarak inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, koloniler; görünüm ve renklerine göre ayırıldı. Ayrıca elde edilen koloniler kanlı agara ekilerek saflaştırıldıktan sonra, morfolojik olarak Gram boyama sonrasında, indol, MR-VP (Metil Red-Voges Proskauer) ve Sitrat kullanım testleri ile biyokimyasal olarak doğrulandı.

Toplam aerobik mezofilik bakteri izolasyonu: Analiz edilen sıvap örneklerinden elde edilen homojenizattan hazırlanan dilüsyonlardan 100'er µL alınarak Plate Count Agar'a yayma plak yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra 30°C'de 48 saat süreyle inkübe edildi.

Bulgular

Çalışma süresince analiz edilen toplam 154 örneğin 68'inde (%44.1) fekal koliform, 67'sinde (%43.5) *E. coli* ve 68'inde (%44.1) *S. aureus* belirlendi. Farklı zaman aralıklarında alınan el svap örneklerinin 6 (% 6.6), 4 (%4.4) ve 3 (%3.3)'ü sırası ile *S. aureus*, total koliform ve *E. coli* ile kontamine idi. Ekipman örneklerinin tamamında total koliform ve *E. coli* tespit edilirken %96.8'inde *S. aureus* belirlendi (Tablo 2).

Tartışma ve Sonuç

Gıda endüstrisinde tüketiciye sağlıklı, güvenilir ve kaliteli gıda sunulabilmesi için hammaddeden son ürüne kadar tüm proseslerde hijyen kontrollerinin yapılması oldukça önemlidir (Tabak, 2018). Bu nedenle, çalışmada Kayseri ilindeki bir kamu tesisinin kampüsünde toplu yemek üretimi yapılan yemekhanesinde hazırlama aşamalarında çalışan personel el örnekleri ve gıdaların temas ettiği ekipmanların indikatör mikroorganizmalar yönünden analiz edilerek personelin hijyen kurallarına duyarlılığı ve gıdaların temas ettiği ekipmanların sanitasyon durumları değerlendirildi.

Tablo 2. Analiz edilen örnek dağılımı ve koliform, *E. coli* ve *S.aureus* izolasyon oranları

Örnek Alım Noktası	Örnek Sayısı (n)	İzole Edilen Bakteri (%)		
		Fekal koliform	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Personel El	90	4 (4.4)	3 (3.3)	6 (6.6)
Ekipman	64	64 (100)	64 (100)	62 (96.8)
Bıçak	36	36 (56.25)	36 (56.25)	34 (53.1)
Et Doğrama Makinesi	4	4 (6.25)	4 (6.25)	4 (6.25)
Kıyma makinası	4	4 (6.25)	4 (6.25)	4 (6.25)
Köfte Şekillendirme Makinesi	4	4 (6.25)	4 (6.25)	4 (6.25)
Sebzeye Doğrama Makinası	4	4 (6.25)	4 (6.25)	4 (6.25)
Tezgah	12	12 (18.75)	12 (18.75)	12 (18.75)
Toplam	154	68 (44.1)	67 (43.5)	68 (44.1)

Çalışma kapsamında yemek tesisinde ön hazırlık aşamalarında çalışan personel elinden alınan örneklerde TAMB, *S. aureus*, koliform ve *E. coli* ve sayısı ortalama sırasıyla 2.5×10^7 , 8.7×10^1 , 3×10^1 ve 5 kob/cm^2 olarak belirlendi. Aşçılarda ise TAMB, koliform, *E. coli* ve *S. aureus* sayıları ortalama olarak sırasıyla 3.5×10^7 , 1.8×10^1 , 1.1×10^1 ve $3.8 \times 10^2 \text{ kob/cm}^2$ idi. Tesisteki gıdaların hazırlanmasından servise kadar olan aşamalarda temas ettiği yüzeylerden alınan örneklerde ortalama koliform, *E. coli* ve *S. aureus* sayıları sırasıyla 9.8×10^2 , 3.5×10^2 ve $5.4 \times 10^2 \text{ kob/cm}^2$ idi (Tablo 3). Çalışmada analiz edilen örneklerde en yüksek TAMB yükü sebze doğrama makinası ($3.0 \times 10^8 \text{ kob/cm}^2$), en düşük TAMB yükü ise et doğrama makinasında ($3.5 \times 10^2 \text{ kob/cm}^2$) belirlendi.

Çalışmada farklı zaman aralıklarında analiz edilen el svap örneklerinin %4.4, %3.3 ve %6.6'sının sırası ile fekal koliform, *E. coli* ve *S.aureus* ile kontamine olduğu görüldü. Elde edilen sonuçlar personel hijyeni açısından değerlendirildiğinde; işletmede çalışan personelin %85.7'sinin el hijyen kurallarına uygun bir şekilde çalıştıkları tespit edildi. Bunun yanı sıra tesiste çalışan personelin tamamı temiz açık renkli kıyafetler giydiği, maske, bone takmasına rağmen el-gıda temas bariyeri olan eldiven kullanımını önemsemedikleri gözlemlendi. Ham madde gıda tesisine ne kadar hijyenik koşullarda alınırsa alınsın gıdayı işleyen personel hijyen kurallarına riayet etmediği takdirde personelden gıdaya çapraz bulaşma olma riski kaçınılmazdır (Çakıcı ve ark., 2015; Erkoç 2019; Güngör ve ark., 2021). Dolayısıyla, çalışma kapsamında

Tablo 3. Çalışmada ziyaret edilen tesiste personel ve gıdaların hazırlama aşamalarında temas ettiği yüzeylerin mikrobiyolojik analiz sonucu

Analiz Edilen Örnekler	Analiz edilen Bakterilerin Ortalama Düzeyleri (kob/cm ²)			
	Fekal koliform	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	TAMB
Ön Hazırlık Personeli	3×10^1	5	8.7×10^1	2.5×10^7
Ahçı	1.8×10^1	1.1×10^1	3.8×10^2	3.5×10^7
Bıçak	1.6×10^2	1.1×10^2	4.2×10^1	4.6×10^2
Kıyma makinası	2.7×10^3	4.7×10^3	1.6×10^3	3.2×10^3
Et Doğrama Makinesi	7.3×10^1	5.8×10^1	2.0×10^2	3.5×10^2
Köfte Şekillendirme Makinesi	6.6×10^1	4.8×10^1	3.5×10^1	4.0×10^7
Sebzeye Doğrama Makinası	1.1×10^3	3.4×10^2	1.4×10^2	3.0×10^8
Tezgah	1.9×10^3	1.0×10^3	1.3×10^3	5.5×10^5

belirlenen indikatör mikroorganizma kontaminasyonu kişisel hijyen, uygulamalı el yıkama eğitimleri verilerek ve eldiven kullanım alışkanlığını kazandırılarak önlenebilir.

Araştırılan indikatör bakterilerden *S. aureus*, personelin %6.6'sında ortalama 2.4×10^2 kob/cm² düzeyinde belirlendi. Dolayısıyla, etkenin izole edildiği personellerin hijyen kurallarına uymadığı gözlemlendi. Daha önce yapılan çalışmalardan, Fidan ve Ağaoğlu (2004) mutfak personelinin %90'ının elinde 1.9×10^2 kob/cm² düzeylerinde *S. aureus* kontaminasyonu rapor etmişlerdir. Ünal ve Toğay (2017), İstanbul'daki üç özel hastane mutfaklarında analiz ettikleri personel el örneklerinde ortalama 0.34 ± 0.08 log kob/cm² düzeyinde *S. aureus* varlığını bildirmişlerdir. Aydın ve ark. (2007), Tiryaki (2018) ve Erdoğan ve Pamuk (2019) gıda üretim bölümünde çalışan personelin elinden alınan sırasıyla 103 (%38.72), 4 (%2.1) ve 1 (%2.2) örnekte *S. aureus* kontaminasyonu belirlemişlerdir. Bu çalışma bulgularından farklı olarak, Çatar ve Yıldırım (2020) Erciyes Üniversitesi kampüsünde bulunan kantinlerde çalışan personel ellerinde indikatör bakteri varlığının belirlenmesi amacıyla yaptıkları bir çalışmada, 23 kantinde gıda ile temas halinde olan personelin el örneklerinin %82.6'sinin *S. aureus* açısından pozitif olduğunu bulmuşlardır.

Bu çalışmada farklı zaman aralıklarında analiz edilen personel el svap örneklerinin %4.4'ünde 24 kob/cm² düzeylerinde koliform bakteri ve %3.3'ünde 6 kob/cm² düzeylerinde *E. coli* belirlendi. Elverir ve Gönülalan (2010) Malatya'da toplu yemek üretimi yapan bir tesiste kontaminasyon kaynakları ve kritik kontrol noktaları belirlenerek yaptıkları çalışmada mutfak personelinde ortalama olarak 3.3×10^2 kob/cm² düzeylerinde koliform kontaminasyonu belirlemişlerdir. Çatar ve Yıldırım (2020) gıda ile teması olan personelin elinde sırasıyla %73.91 ve %56.52 oranında koliform ve *E. coli* belirlemişlerdir. Bu çalışmada örnekleme yapılan personelin %95.6 ve %96.7'si sırasıyla koliform ve *E. coli* açısından uygun bulundu. Bu sonuçlar, tesiste çalışan personelin büyük çoğunluğunun tuvalet sonrası ve çiğ besinlere temas sonrası el yıkama alışkanlıklarının olduğu ve el hijyen kurallarına uygun bir şekilde çalıştıklarını göstermektedir.

Bu çalışmada, toplu yemek tesisinde bulunan ve servis için hazırlık aşamalarında çiğ gıda ile temas eden yüzeylerden alınan örneklerin tamamında total koliform ve *E. coli* tespit edilirken %96.8'inde *S. aureus* belirlendi. Analiz edilen örneklerde ortalama koliform, *E. coli* ve *S. aureus* sayıları sırasıyla 9.8×10^2 , 3.5×10^2 ve 5.4×10^2 kob/cm² idi. Bu çalışma sonuçları personeline hizmet veren kamu kurumu yemek tesisindeki ekipman

ve çalışma yüzeylerinin sanitasyonunun yetersiz olduğunu göstermektedir. Ekipman ve temas yüzeylerinde bu tür mikroorganizmaların kalıcılığı, gıdaların hazırlanması sırasında çapraz kontaminasyonlara neden olabilir. Bu nedenle kişisel hijyen ve ekipmanların uygun sanitasyon yöntemleri (dezenfektan, deterjan vb.) ile çapraz kontaminasyonların önlenmesi gıda güvenliği açısından oldukça önemlidir (Griffith, 2016). Fidan ve Ağoğlu (2004) analiz ettikleri ekipmanlardan doğrama tahtasında, tezgâhta ve bıçakta ortalama *E. coli* miktarlarını sırasıyla 2.1×10^2 , 1.5×10^2 ve 2.3×10^1 kob/cm² olarak, koliform düzeylerini ise 4.1×10^3 , 1.6×10^3 ve 8.5×10^2 kob/cm² olarak tespit etmişlerdir. Elverir ve Gönülalan (2010) toplu yemek üretimi yapan bir tesiste sebze doğrama tezgâhı, sebze doğrama makinası ve mikserden alınan örneklerin analizi sonucu fekal koliform sayısının 2.0×10^2 kob/cm², 1.5×10^4 kob/cm² ve 1.16×10^4 kob/cm² düzeylerinde olduğunu ortaya koymuşlardır. Mohammed ve ark. (2018) tarafından üniversite restoranlarında gıda ile temas eden yüzeyleri *E. coli* ve *S. aureus* varlığı açısından değerlendikleri bir çalışmada; analiz ettikleri 50 örneğin 13'ünün (%26) *E. coli* yönünden pozitif olduğunu ve pozitif örneklerin %23'ünün kesme tahtasına ait olduğunu bildirmişlerdir. Legnani ve ark. (2004) ise bir yemek işletmesinde gerçekleştirdikleri çalışmada yüzeylerinde %16.7 oranında *E. coli* belirlemişlerken ekipmanda bu bakteriyi tespit etmediklerini bildirmişlerdir.

Tesiste yemeklerin hazırlanmasında kullanılan ekipman-temas yüzeyi ve yemek hazırlamada çalışan personel eli için TAMB düzeyleri sırasıyla 5.7×10^7 ve 3.0×10^7 kob/cm² olarak belirlendi. Çalışmada analiz edilen örneklerde en yüksek TAMB yükü; sebze doğrama makinası (3.0×10^8 kob/cm²), köfte şekillendirme makinesi (4.0×10^7 kob/cm²) ve personel eli (3.0×10^7 kob/cm²) olarak tespit edilmiştir. Analiz edilen örnekler arasında en düşük TAMB yükü ise et doğrama makinasında (3.5×10^2 kob/cm²) belirlendi. Elverir ve Gönülalan (2010) toplu yemek üretimi yapan bir tesiste mutfak personelinin eli sebze doğrama tezgâhı, sebze doğrama makinası ve mikserden alınan örneklerin analiz sonuçlarında TAMB miktarının sırasıyla ortalama 2.5×10^6 , 2.4×10^3 , 5.0×10^8 ve 3.0×10^8 kob/cm² olduğu ortaya konmuştur. Bu çalışma kapsamında analiz edilen örneklerde belirlenen TAMB miktarı yemek tesisindeki gıda ile temas eden yüzeylerde yapılan temizlik işlemlerinin yetersiz olduğunu açıkça göstermektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen bulgular, Kayseri ilinde bir kamu kuruluşuna ait toplu yemek üretimi yapılan bir tesiste çalışan personelin büyük çoğunluğunun el hijyeni kurallarına uyduğu fakat yemek hazırlama aşamalarında kullanılan ekipman ve yüzeylerin sanitasyonunun yetersiz

olduğunu ve çapraz kontaminasyon riski taşıdığını göstermektedir. Bu nedenle tesiste gıda hazırlık esnasında çiğ gıdaların temas halinde olan mutfak araç-gereç hijyeni hakkında personele düzenli ve uygulamalı eğitimlerin verilmesi gerekmektedir. Çalışmada örnekleme yapılan tesiste hammadde tedarikinden servise kadar olan tüm aşamalarda HACCP sisteminin üretime entegre edilmesi ile işletmedeki özellikle personel-ekipman-alt yapı açısından ihmal edilmeden uygulanması daha güvenli gıda üretimi için gerekmektedir.

Teşekkür

TYL-2021-10899 no'lu proje ile bu tez çalışmasının yapılmasındaki katkılarından dolayı Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Aydın A, Aksu H, Arun OO. Hygienic properties of food handlers and equipment in food production and sales units. *Med Wet* 2007; 63(9): 1067-70.
- Bilici S. Toplu Beslenme Sistemleri Çalışanları İçin Hijyen El Kitabı. TC Sağlık Bakanlığı Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü Beslenme Bilgi Serisi 1, Ankara, 2008; s.3-8.
- Botonaki A, Natos D, Mattas K. Exploring Convenience food consumption through a structural equation model. *J Food Prod Mark* 2009; 15(1): 64-79.
- Burlingame B, Dernini S. Sustainable diets and biodiversity: Directions and solutions for policy, Research and Action. Proceedings of the International Scientific Symposium: Biodiversity and Sustainable Diets United Against Hunger. November, 3-5, 2010; Rome-Italy.
- Ciğerim NT, Beyhan Y. Toplu Beslenme Sistemlerinde Hijyen. KÖK Yayıncılık, Ankara, 1994.
- Çakıcı N, Demirel-Zorba NN, Akçalı A. Gıda endüstrisi çalışanları ve stafilocokal gıda zehirlenmeleri. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2015; 72(4): 16-32.
- Çatar O, Yıldırım Y. Erciyes Üniversitesi kampüsündeki kantin çalışanlarının el hijyen durumlarının değerlendirilmesi. *Kocatepe Vet J* 2020; 13(1): 52-9.
- Elverir B, Gönülalan Z. Toplu yemek üretimi yapılan bir tesisin HACCP planının mikrobiyolojik indikatörler yönünden değerlendirilmesi. *Sağlık Bilim Derg* 2010; 19(1): 42-50.
- Erdoğan M, Pamuk Ş. Microbial contamination in food, food-handlers' hands and surfaces and evaluation of contamination sources by the similarity between isolates. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2019;

67(1): 73-80.

- Erkoç Ö. Çiğ olarak tüketilen bazı salata malzemelerinin mikrobiyolojik yönden incelenmesi. Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniv Sağ Bil Ens, Ankara 2019.
- Fidan F, Ağaoğlu S. Ağrı bölgesinde bulunan lokantaların hijyenik durumu üzerine araştırmalar. *YYU Vet Fak Derg* 2004; 15(1): 107-14.
- Griffith C. Surface sampling and the detection of contamination. Lelieveld H, Holah J and Gabric D eds. In: *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*. Woodhead Publishing 2016; p. 673-96.
- Güngör C, Barel M, Dışhan A, Dişli HB, Köşkeröğlu K, Onmaz NE. From cattle to pastirma: contamination source of methicillin susceptible and resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) along the pastirma production chain. *LWT* 2021; 151: 112-30.
- Harrigan WF, McCance ME. *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. London:Academic Press 1976; p. 362.
- Merdol Kutluay T, Beyhan Y, Ciğerim N, Sağlam F, Tayfur M, Baş M, Dağ A. Toplu Beslenme Yapılan Kurumlarda Çalışan Personel için Sanitasyon - Hijyen Eğitimi Rehberi. İkinci Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayıncılık 2003.
- Legnani P, Leoni E, Berveglieri M, Mirolo G, Alvaro N. Hygienic control of mass catering establishments, microbiological monitoring of food and equipment. *Food Control* 2004; 15(3): 205-11.
- Mohammed SSD, Ayansina ADV, Mohammed SR, Oyewole OA, Shaba AM. Evaluation of food contact surfaces in selected restaurants of Kaduna State University for the presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Sci World J* 2018; 13(3): 45-9.
- Tabak MH. İstanbul Beyoğlu ilçesi toplu tüketim yerlerinin gıda güvenliği ve hijyen kriterleri yönünden incelenmesi. Doktora tezi, İstanbul Üniv Sağ Bil Ens, İstanbul, 2018.
- Tiryaki C. Toplu tüketim işletmelerinde tüketime hazır gıdalar ve ilgili personelde *S. aureus* prevalansı ile bazı virulens özelliklerin incelenmesi. Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniv Sağ Bil Ens, İstanbul, 2018.
- Ünal MM, Toğay SÖ. İstanbul'daki hastane mutfaklarından alınan yüzey örneklerinde hijyenik durumun ve çalışan personelde hijyen farkındalığının belirlenmesi. *Türk Hij Den Biyol Derg* 2017; 74(4): 307-20.

Yıldırım Y, Onmaz NE, Gönülalan Z, Al S, Yıldırım A, Karadal F. Pamuk Ş. Microbiological quality of pastrami and associated surfaces at the point of sale in Kayseri, Turkey. *Public Health* 2017; 146: 152-58.

Yıldırım Y, Onmaz NE, Gönülalan Z, Hızlısoy H, Al S, Karadal F, Akçay A. Knowledge and attitudes in food safety and the occurrence of indicator bacteria on hands of food handlers at the point of pastrami sale. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2020; 67(2): 153-60.



Elazığ İlindeki Koyun Yetiştiricilerinin Sosyodemografik Durumu ve İşletmelerdeki Hayvan Sağlığı Faaliyetleri

Selim KUL^{1,a}, İbrahim ŞEKER^{1,b}, Abdurrahman KÖSEMAN^{2,c}

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootečni Anabilim Dalı, Elazığ-TÜRKİYE

²Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Akçadağ Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Malatya-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0003-3032-8050; ^b0000-0002-3114-6411; ^c0000-0001-6491-9962

Corresponding author: Abdurrahman KÖSEMAN; E-posta: abdurrahman.koseman@ozal.edu.tr

How to cite: Kul S, Şeker İ, Köseman A. Elazığ ilindeki koyun yetiştiricilerinin sosyodemografik durumu ve işletmelerdeki hayvan sağlığı faaliyetleri. Erciyes Üniv Vet Fak Derg 2022; 19(3):195-202

Öz: Bu araştırma, Elazığ ilindeki koyun yetiştiricilerinin sosyodemografik özelliklerini ve işletmelerdeki hayvan sağlığı faaliyetlerinin durumunu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla 168 adet işletme araştırma kapsamında değerlendirilmiş ve sahipleriyle yüz yüze anket gerçekleştirilmiştir. Araştırma bulgularına göre %75.0'i 31-50 yaş aralığında ve %55.7'si beş ve daha fazla hane halkına sahip olan yetiştiricilerin %83.7'si ilköğretim mezunudur. Tamamı ekonomik nedenlerle koyunculuk yapan bu yetiştiricilerin %67.3 oranında koyunculuk yapmaktan memnun oldukları ve koyuncululuğu %80.2 oranında sürekli yapmayı düşündükleri belirlenmiştir. Ayrıca, %65.4'ü yerleşik ve yayla koyuncululuğu biçiminde faaliyet yürüten işletmelerin %95.8'inde ayak yıkama havuzu ve banyoluk bulunmadığı, %80.9'unda sadece hastalık görüldüğünde veteriner hekimlik hizmeti alındığı saptanmıştır. Bu işletmelerin %66.7'sinde aşılama programlarına riayet edildiği ve %97.0'sinde sadece zorunlu aşılardan yararlandığı, %65.9'unda ise aşılardan yetiştiriciler tarafından yapıldığı belirlenmiştir. Yetiştiricilerinin %83.5'inin yetkililerden en öncelikli çözüm istedikleri sorunlarının mera problemi olduğu saptanan işletmelerin %39.8'inde parazit hastalıklarının, %27.8'inde ise enterotoksemisinin görülen en yaygın hastalık olduğu yetiştirici beyanlarından tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Elazığ'daki yetiştiricilerin koyuncululuğu sürekli yapma ve kapasite artırma isteklerine rağmen, bu ildeki koyun yetiştiriciliğinin Türkiye'nin pek çok ilinde olduğu gibi bazı temel sorunlarının olduğu görülmektedir. Yetiştiricilere yönelik eğitim çalışmalarının daha fazla ve devamlı yapılması sayesinde problemlerin zaman içerisinde büyük ölçüde çözüme kavuşabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Ağıl, hayvan sağlığı, damızlık, koyun, yetiştirici

Sociodemographic Status of Breeders and Animal Health Features of Sheep Farms in Elazığ Province

Abstract: This research was carried out to determine the sociodemographic characteristics of sheep breeders and the status of animal health activities in the farms in Elazığ province. For this purpose, 168 businesses were evaluated within the scope of the research and a face-to-face survey was conducted with their owners. According to the research findings, 75.0% of the breeders are in the 31-50 age range, 55.7% have 5 or more family members and 83.7% are primary school graduates. It was determined that breeders all of whom were doing sheep breeding for economic reasons, 67.3% of them were satisfied with sheep breeding and 80.2% of them thought to keep sheep breeding. In addition, it was determined that 95.8% of the enterprises there were no foot washing pools and baths, 65.4% of which are settled and highland sheep breeding, and 80.9% receive veterinary services only in case of illness. It was determined that 66.7% of these enterprises complied with the vaccination programs, 97.0% of them had only compulsory vaccinations, and 65.9% of vaccinations were made by the breeders. It has been determined that from the farmer's statements that 83.5% of the breeders wanted the most priority solution was pasture problems from the authorities, the most common disease seen in the farms were parasitic diseases in 39.8% and enterotoxemia in 27.8%. As a result, despite the desire of the breeders in Elazığ to keep sheep breeding and to increase their capacity, it is seen that the sheep breeding in this province has some basic problems as in other provinces of Turkey. It had been concluded that the problems can be solved over time, to a large extent, by conducting more and more continuous training activities for breeders.

Keywords: Animal health, breeders', sheep, sheep farms, stud

Giriş

Türkiye'nin tarım ve hayvancılık sektörü içerisinde Doğu Anadolu Bölgesi'nin önemli bir yeri vardır. Elazığ ili, bu bölgenin en önemli illerinden birisi olup, halkın geçim kaynakları arasında hayvancılık faaliyet-

leri oldukça önemlidir (Şeker ve Köseman, 2015). Türkiye 2020 yılı koyun varlığının (42126781 baş) % 1.69'una (712678 baş) sahip olan Elazığ ilinin (TKKYMB, 2022), küçükbaş yetiştirilen ilçeleri, Doğu Anadolu Bölgesi Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık Yatırım Havzaları Master Planı Projesi (DAP), Küçükbaş Havzaları (KB) içerisinde yer almaktadır. Küçükbaş hayvancılık faaliyetleri için KB 9 (Karakoçan) orta derecede elverişli, KB 11 (Elazığ ili Merkez ilçesi ve Kovancılar)

oldukça elverişli, KB 12 (Alacakaya, Arıcak, Maden, Palu) ve KB 13 (Baskil, Keban) yarısından az bir bölümü orta derecede elverişli, KB 14 (Ağın, Sivrice) ise yarısından fazlası orta derecede elverişli havzalardır. Uygun topografik koşullar ile geniş ve kaliteli meraların bulunması, arazi yapısındaki düşük eğim, nüfus, ulaşım, dane ve kaba yem imkânlarının fazlalığı, havzaların küçükbaş hayvancılık için elverişli olmasının başlıca nedenleridir (DAP, 2016).

Türkiye’de mera alanlarının azalması, kalitesinin düşük olması, hayvancılık yaparken karşılaşılan çoban sorunu, köyden şehirlere göçlerin artması nedeniyle hayvancılıkla uğraşan kişilerin ve özellikle genç nüfusun azalması (Cengiz ve ark., 2015), üretim maliyetindeki artışlar, mesleki örgütlenmedeki yetersizlik, pazar sorunu, damızlık temininde yaşanan zorluklar, kamudan büyükbaş hayvan yetiştiriciliğine göre daha az teşvik ve destek alması gibi faktörler (Cengiz ve ark., 2015; Ceyhan ve ark., 2015), küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin gelişmesine engel olmaktadır. Yetiştiricilerin sosyodemografik düzeyi de koyunculuk işletmelerinin gelişimini doğrudan etkilemektedir. Bu alanda yapılacak her bilimsel çalışma bu nedenle değer taşımaktadır. Bu bağlamda mevcut araştırma, Elazığ ilindeki koyun yetiştiricilerinin sosyodemografik durumlarını ve işletmelerdeki hayvan sağlığı faaliyetlerini belirlemek, belirlenen sorunların giderilmesi için çözüm önerileri sunabilmek amacıyla yürütülmüştür.

Gereç ve Yöntem

Bu araştırma, Elazığ İli Damızlık Koyun Keçi Yetiştiriciler Birliği’ne üye olan koyunculuk işletmeleri sahipleriyle gönüllülük esasına göre yüz yüze yapılan anketler ve işletmelere yapılan ziyaretler sırasındaki gözlem, değerlendirme ve ölçümlerle gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada, öncelikle Elazığ İlinin en fazla hayvan sayısına ve işletmesine sahip ilçeleri Elazığ İl Tarım ve Orman Müdürlüğü’nden elde edilen veriler yardımıyla belirlenmiştir. Bu kapsamda Merkez, Kovancılar, Karakoçan, Palu, Sivrice, Baskil, Keban ilçeleri öne çıkmıştır. Bu ilçelerde araştırmaya dâhil edilecek işletmelerin seçiminde öncelikle Elazığ Damızlık Koyun Keçi Yetiştiriciler Birliği’ne üyeliği bulunması koşulu aranmış olup, bu koşulu sağlayan işletmeler arasından tesadüfi örnekleme metodu ile işletmeler seçilmiştir. Araştırmada kullanılan anketin güvenilirliğini ve geçerliliğini yükseltmek için deneme amaçlı olarak bazı işletmelerde ön çalışmalar yürütülmüş, bu çalışmalara göre araştırmadaki anket sorularına son şekilleri verilmiştir. Araştırmada kullanılan anket soruları daha önce yapılmış çalışmalardan (Bilginturan ve Ayhan, 2009; Altınçekiç, 2014; Ayvazoğlu Demir ve ark., 2015; Ceyhan ve ark., 2015; Tüfekçi, 2020; Köseman ve ark., 2022) kullanılan sorulardan da yararlanarak, araştırma ekibi tarafından hazırlanmıştır.

Çalışma kapsamında, belirlenen işletme sahipleriyle ön görüşmeler yapılmış, gönüllülük esasına dayalı yüz yüze görüşmeyi kabul edenlerin işletmeleri bir takvime bağlı olarak ziyaret edilip anket uygulanmıştır. Ziyaret edilen işletmelerde, araştırma kapsamında gözlem ve değerlendirmeler yapılmıştır. Yapılan görüşmelerden elde edilen veriler kayıt altına alınmıştır.

Benzer araştırmalarda popülasyonu en iyi düzeyde temsil edebilecek nitelikte örnek büyüklüğünün belirlenmesinde, popülasyonun %3’ü (Yamane, 2010) ile %10’unun (Cochran, 1997; Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 2000) alınmasının yeterli olacağı kaydedilmiştir. Bilimsel araştırmalarda örnek büyüklüğü arttıkça ilgili popülasyonu temsil gücü de artmaktadır. Bundan dolayı mevcut çalışma sonuçlarını daha güvenli kılmak için birliğin aktif işletme sayısı olan 1669 işletmeden oluşan popülasyonun en az %10’unun örneğe dâhil edilmesi kararlaştırılmıştır. Bu kapsamda 168 işletme araştırmaya dâhil edilmiştir.

Bu çalışmanın yürütülmesi için gerekli olan etik onay belgesi, Fırat Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul’undan alınmıştır (29.4.2020 tarih ve 2020/07-24 sayılı izin).

Araştırmada gerçekleştirilen anketlerdeki sorulara verilen cevaplar analiz edilmiş, cevapların sayısal ve % frekansları hesaplanmıştır. Ankete katılan yetiştiricilerin bir kısmı tarafından anketteki bazı sorular göz ardı edilip cevaplanmamıştır. Anket gönüllülük esasına göre yapılmış olup, yetiştiricilere istedikleri sorulara cevap verip vermeme serbestliği tanınmıştır. Bu nedenle her soruya verilen cevap sayıları (frekans) farklı olmuştur. Araştırmada elde edilmiş olan verilere müdahale edip eksik cevaplanmış soruları bütün katılımcı sayısına göre revize etmek yerine, gerekli istatistiksel hesaplamalar gerçek cevaplar üzerinden yapılmıştır. Hesaplamalarda IBM SPSS 22.0 istatistik paket programı kullanılmıştır (IBM SPSS, 2015).

Bulgular

Araştırmada yetiştiricilerin sosyodemografik özelliklerine ilişkin elde edilen bulgular Tablo 1’de verilmiştir. Bu çalışmada, yetiştiricilerin %75.0’inin 31-50 yaş arasında, %83.7’sinin ilkököl mezunu ve %55.7’sinin beş ve daha üzeri sayıda hane halkına sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1).

Yetiştiricilerin koyunculuk faaliyetleri ile ilgili durumları ve düşüncelerine ilişkin elde edilen bulgular Tablo 2’de verilmiştir. Araştırmaya göre, yetiştiricilerin %60.1’i 21 yıl ve daha uzun süreden beri bu iş sürdürmekte, %65.4’ü hem yerleşik hem de yayla koyuncululuğu yapmakta, %92.8’ü ise koyunculuk dışında başka bir ticari faaliyette bulunmamaktadır. Ayrıca, yetiştiricilerin %83.5’inin yetkililerden en fazla beklentisinin mera sorununa çözüm olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. Yetiştiricilerin sosyodemografik durumu

Anket soruları	Frekans	
	n	%
Yaş		
18-30	3	2.1
31-50	105	75.0
51 yaş ve üstü	32	22.9
Toplam	140	100.0
Koyunculukla uğraş süresi		
5 yıl ve daha az	7	4.2
6-15 yıl arası	44	26.2
16-20 yıl arası	16	9.5
21 yıl ve üzeri	101	60.1
Toplam	168	100.0
Eğitim durumu		
İlkokul	134	83.7
Ortaokul-Lise	24	15.0
Yüksekokul-Üniversite	2	1.3
Toplam	160	100.0
Hane halkı sayısı		
3 ve daha az kişi	4	2.4
4 kişi	70	41.9
5 + kişi	93	55.7
Toplam	167	100.0

Tablo 2. Yetiştiricilerin koyunculuk faaliyetleriyle ilgili durumları ve düşünceleri

Anket soruları	Frekans	
	n	%
Koyunculuk yapma nedeni		
Ekonomik sebeplerle	168	100.0
Zevk için	0	0.0
Toplam	168	100.0
Koyunculuk yapma şekli		
Göçer	27	16.1
Yayla	3	1.8
Yerleşik	28	16.7
Yerleşik-Yayla	110	65.4
Toplam	168	100.0
Koyunculuk dışında ticari faaliyeti		
Var	12	7.2
Yok	155	92.8
Toplam	167	100.0
Koyunculuk amaçlı seminer veya kurs alması		
Evet	87	52.4
Hayır	79	47.6
Toplam	166	100.0
Koyunculuk yapmaktan memnuniyeti		
Memnun	105	67.3
Memnun değil	51	32.7
Toplam	156	100.0
Koyuncululuğu devam ettirme isteği		
Sürekli yapmayı düşünüyor	134	80.2
Dâhil olduğu "Halk elinde ıslah projesi" süresince yapmayı düşünüyor	33	19.8
Toplam	167	100.0
Koyunculukta ileriye yönelik hedefi		
Kapasite artırımı düşünüyor	104	62.3
Kapasite artırımı düşünmüyor	63	37.7
Toplam	167	100.0
Yetkililerden beklentisi		
Pazar sorununa çözüm	19	11.6
Kredi sorununa çözüm	0	0.0
Damızlık hayvan temini sorununa çözüm	7	4.3
Hayvan hastalıkları sorunlarına çözüm	0	0.0
Mera sorununa çözüm	137	83.5
Çoban sorununa çözüm	1	0.6
Toplam	164	100.0

Yetiştiricilerin hayvan sağlığı konularındaki tutumlarına ait elde edilen bulgular Tablo 3'te verilmiştir. Araştırmada, yetiştiricilerin %80.9'unun sadece hastalık görülünce veteriner hekime başvurdukları ve %73.6'sının en fazla serbest veteriner hekimlerden hizmet aldıkları belirlenmiştir. Yetiştiricilerin %66.7'si zorunlu aşılama programına riayet ettiklerini, %65.9'u ise aşılı kendilerinin yaptığını beyan etmişlerdir. Çalışmada, ağılların %95.8'inde ayak yıkama havuzu ve banyoluk bulunmadığı belirlenmiştir (Tablo 3).

Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmada, ankete katılan yetiştiricilerin en yüksek oranda 31-50 yaş aralığında oldukları, bunun yanı sıra 21 yıl ve daha uzun süre koyun yetiştiriciliği yaptıkları belirlenmiştir. Köseman ve ark. (2022), Özsayın ve Everest (2019), Karadaş (2017) ile Karakaya ve Kızıloğlu (2014) tarafından yapılan çalışmalarda en yüksek orandaki yetiştirici yaş aralığı sırasıyla 31-50 yaş, 47.8 yaş, 48 yaş ve 35-50 yaş olarak sap-

Tablo 3. İşletmelerde veteriner hekimlik hizmetleri ve aşılamalar

Anket soruları	Frekans	
	n	%
Veteriner hekimlik hizmetlerinden yararlanma durumu		
Hiç hizmet almıyor	10	6.0
Sadece hastalık görülünce alıyor	136	80.9
Düzenli alıyor	22	13.1
Toplam	168	100.0
Veteriner hekimlik hizmetlerinin nereden alındığı		
Serbest veteriner hekimlerinden	120	73.6
Kamudan	43	26.4
Toplam	163	100.0
Aşılama programına riayet etme durumu		
Ediyor	112	66.7
Etmiyor	56	33.3
Toplam	168	100.0
Hayvanlara zorunlu aşıların yapılması		
Yapılıyor	163	97.0
Yapılmıyor	5	3.0
Toplam	168	100.0
Aşılı kimin yaptığı		
Kendisi	23	13.8
Veteriner hekim/sağlık teknisyeni/sağlık teknikeri	144	86.2
Toplam	167	100.0
Yaptırılan aşılar		
Şap	1	0.6
Çiçek	3	1.8
Brusella	3	1.8
Enterotoksemi	5	3.0
Hepsi	155	92.8
Toplam	167	100.0
İşletmede en çok görülen hastalıklar		
Brusella	11	6.6
Çiçek	6	3.6
Enterotoksemi	46	27.8
Şap	14	8.4
Veba	4	2.4
Paraziter hastalıklar	66	39.8
Solunum yolu hastalıkları	7	4.2
Diğer	12	7.2
Toplam	166	100.0
İşletmede dezenfeksiyon uygulanması		
Evet, düzenli şekilde	28	16.8
Hayır, hiçbir zaman	18	10.8
Bazen	121	72.4
Toplam	167	100.0
Ağıllarda ayak yıkama havuzu ve banyoluk bulunması		
Var	7	4.2
Yok	161	95.8
Toplam	168	100.0

tanmıştır. Köseman ve ark. (2022), Karadaş (2017) ve Tüfekci (2020) tarafından yapılan çalışmalarda en uzun süre yapılan koyunculuk faaliyeti ise sırasıyla 21 yıl ve üzeri, 29 yıl ve 25 yıl olarak saptanmıştır. Mevcut araştırmamızda ve yukarıda sıralanan çalışmalarda tespit edilen en yüksek orana sahip yetiştirici yaşları benzerlik göstermektedir. Ayrıca yetiştiricilikteki faaliyet süreleri tüm bildirilen araştırmalarda yüksek bulunmuş olup, araştırmamızda belirlenen en uzun faaliyet süresi, Köseman ve ark. (2022) tarafından yapılan araştırma sonuçları ile benzerdir. Elde edilen bulgular ışığında koyun yetiştiriciliğinin genel olarak uzun süreli bir iş kolu olduğu görülmektedir. Koyunculüğün başarılı şekilde yürütülmesi; çoğunlukla yetiştiricilerin tecrübesine ve sahip oldukları fiziki güçler gibi önemli unsurlara bağlıdır. Bu nedenle bu çalışmadaki işletmelerdeki yetiştiricilerin yüksek oranda 31-50 yaş aralığında olması olumlu olarak değerlendirilmektedir.

Bu araştırmada, eğitim derecesi bakımından en yüksek orana sahip olanların ilkökul mezunu yetiştiriciler olduğu saptanmıştır. Belirlenen ilkökul mezunu yetiştiricilerin oranı, Tüfekci ve Oflaz (2015) tarafından Kastamonu'da (%68.8) ve Karadaş (2017) tarafından Şanlıurfa'nın Siverek ilçesinde (%74.8) tespit edilenden daha yüksek, Aydiner, (2018) tarafından Küçük Menderes Havzasında (%87.1) belirlenen ise daha düşüktür.

Elazığ ilindeki koyunculuk faaliyetlerini gerçekleştiren yetiştiricilerin büyük oranda ilkökul mezunu olmaları dikkat çekici bulunmuş olup, bu durumun işletmelerin başarısını ve karlılığını etkileyen olumsuz bir durum olarak değerlendirilmektedir. Türkiye'deki yasal zorunlu eğitimin lise sonuna kadar uzatılması nedeniyle ileriki yıllarda yetiştiricilerin eğitim durumunun yükselceği beklenmektedir.

Araştırmada tespit edilen beş ve üzeri hane halkına sahip yetiştiricilerin oranı, Köseman ve ark. (2022) tarafından Malatya'daki işletmelerde belirlenen (%76.5) beş ve üzeri hane halkına sahip yetiştiricilerin oranından daha düşük, buna karşın, Tüfekci (2020) tarafından en yüksek belirlenen 5-7 kişilik hane halkı oranına (%56.0) çok yakındır. Ailedeki birey sayısının çokluğu, yoğun iş gücü gerektiren koyun yetiştiriciliği için avantaj olarak kabul edilebilir.

Bu araştırmada, ekonomik sebeplerle koyunculuk yapanların oranı, sırasıyla Malatya ve Niğde illerinde yapılan araştırmalarda belirlenen %97.2 (Köseman ve ark., 2022) ve %82.3 oranlarıyla (Ceyhan ve ark., 2015) karşılaştırıldığında daha yüksektir. Bulgulara göre araştırma kapsamındaki yetiştiricilerin beyanları dikkate alındığında koyunculüğün onlar açısından tamamen profesyonelce yapılan bir hayvancılık faaliyeti olduğu görülmektedir. Bu araştırmaya dâhil edilen tüm yetiştiricilerin Elazığ İli Damızlık Koyun Keçi Yetiştiriciler Birliği'ne üye olmalarının da bu sonucu etkileyebileceği değerlendirilmektedir.

Çalışmada yetiştiricilerin büyük oranda yerleşik ve yayla koyuncululuğu biçiminde faaliyet sürdürdükleri belirlenmiştir. Ceyhan ve ark. (2015) tarafından Niğde ilinde yapılan bir araştırmada yerleşik ve yayla koyuncululuğu yapanların oranı %19.8, Çınar ve Ceyhan (2021) tarafından aynı ilde yapılan başka bir çalışmada kışlak-yaylak şeklinde koyunculuk yapanların oranı ise %26.4 olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmamızda belirlenen Elazığ ilinde yerleşik ve yayla koyuncululuğu yapan yetiştiricilerin oranı, Niğde ilinde yerleşik ve yayla koyuncululuğu yapanlara göre daha yüksek bulunmuştur. Daha düşük rakımlı olan yerleşkelerinde havaların ısınması ve sıcak mevsimlerde yayla koşullarının koyunlar için daha elverişli olması nedeniyle yetiştiriciler genel olarak mayıs ayından itibaren yaylalara göç etmektedirler. Havalar soğumaya başladığında ise tekrar köylere dönüş yapılmaktadır.

Bu araştırmaya dâhil olan yetiştiricilerin yüksek oranda koyunculuk dışında başka bir ticari faaliyet yapmadıklarını beyan etmeleri, geçimlerini bu işle sürdürdüklerini ve koyuncululuğu profesyonel bir iş olarak yaptıklarını düşündürmektedir. Benzer şekilde, Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde yapılan araştırmada da yetiştiricilerin %84.9'unun koyun ve keçi yetiştiriciliğini tek geçim kaynağı olarak yaptıkları bildirilmiştir (Dellal ve ark., 2002).

Bu araştırmada yetiştiricilerin koyunculuk amaçlı seminer veya kurs alanların ve almayanların oranları karşılaştırıldığında benzer değerlere sahip oldukları görülmektedir. Doğu Anadolu Bölgesini kapsayan bir araştırmada ise yetiştiricilerin %78.5'inin hayvan yetiştirme konusunda herhangi bir eğitim almadığı (DAP, 2016), Karaman ilinde yapılan bir çalışmada ise daha önce bu konuda eğitim alanların oranı %6'olarak bildirilmiştir (Şahinli, 2014). Eğitim veya kurs almanın yetiştiricilerin bilinçli şekilde faaliyetlerini gerçekleştirerek, işletmelerinde başarıyı ve karlılığı artırmalarında önemli katkılar sağlayabileceği düşünüldüğünde, bu çalışmada Elazığ ilindeki yetiştiriciler için tespit edilen durumun iyileştirilmesi gerektiği, kısa sürede bu imkâna kavuşturulmalarının veya eğitim ve kurs almaları için teşvik edilmelerinin yararlı olacağı düşünülmektedir.

Koyunculuk yapmaktan memnun olan yetiştiricilerin oranının memnun olmayanlardan daha yüksek olması oldukça sevindirici bir durumdur. Bununla birlikte koyuncululuğu sürekli yapmayı düşünenlerin oranı ise memnun olanların oranından daha yüksektir. Bu bulgular koyunculuk yapmaktan memnun olmayan bazı yetiştiricilerin de memnuniyetsizliklerine rağmen bazı nedenlerle koyuncululuğu devam ettirmek durumunda olduklarını göstermektedir. Yapılan bir araştırmada da Erzincan ilinde yetiştiricilerin %34.3'ünün koyunculuk yapmaktan memnun olmadıkları bildirilmiştir (Özyürek ve ark., 2018). Erzincan ilinde koyunculuk yapmaktan memnun olmayanların oranı bu araştır-

mada tespit edilen değerle benzerdir. Özellikle kişilerin işlerini severek yapmaları, yaptıkları işten memnun olmaları daha başarılı olmalarını sağlamaktadır. Bu açıdan değerlendirildiğinde, yüksek oranda belirlenen memnuniyet durumunun Elazığ ilindeki koyunculuk için önemli ve gelecek için umut verici bir durum olduğu söylenebilir.

Yetiştiriciler, mera sorununa çözüm bulunmasını ankette en önemli beklenti olarak bildirmişlerdir. Türkiye'de küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde maliyeti doğrudan etkileyen faktörlerden birisi de mera varlığı ve kalitesidir. Genel olarak koyunculuk yapan kişilerin karşılaştıkları sorunlar ve ilgililerden beklentileri arasında mera ilk sıralarda yer almaktadır. Bunun birlikte, mera konusu iller arasında koyunculuk koşullarının farklılığı nedeniyle öncelik sıralamasını değiştirebilmektir. Zira Yozgat ilinde mera sorununun çözülmesini talep eden yetiştiricilerin oranı %25.0 (Tüfekci, 2020) iken, Niğde ilinde meraların yetersizliğini bildirenlerin oranı %35.2 (Çınar ve Ceyhan, 2021) olarak tespit edilmiştir. Oysa Elazığ'da yetiştiricilerin mera sorununa ait beklentileri, Yozgat ve Niğde illerindeki çalışmalarda bildirilen oranlardan çok daha yüksek bulunmuştur. Bu durum oldukça dikkat çekicidir.

Meralar optimum yetiştiricilik için son derece önemli alanlardır. İçerisinde Elazığ'ın da bulunduğu 14 ilde yapılan bir çalışmada, hayvancılıkla ilgili belirlenen toplam 373 problemde %74'ünü meralarda su, güvenlik, yol ve ulaşım imkânlarının olmaması, meraların verimsizliği, mera alanlarının yetersizliği ve hiç mera bulunmaması oluşturmuştur. Bu çalışmada, meralardaki ot çeşitliliğinin az olması, meraların yabancılar tarafından kullanılması, meralarda düzensiz otlatma bu başlıktaki diğer sorunlar olarak belirlenmiştir (DAP, 2016). Meralarla ilgili yapılacak yasal, teknik, sosyal ve hayvan sağlığına dayalı düzenlemelerde ve iyileştirmelerde yetiştiricilerin talepleri de dikkate alınmalıdır.

Bu çalışmada yetiştiriciler arasında veteriner hekimlik hizmetlerinden yararlanma açısından, sadece hayvanlarında hastalık görüldüğünde veteriner hekime başvuranların oranının en yüksek oranda tespit edilmiştir. Özsayın ve Everest (2019) tarafından yapılan çalışmada da sadece hayvanlar hasta olduğunda veteriner hekimlik hizmeti alan yetiştiricilerin oranı % 32.0 olarak belirlenmiştir. Elazığ'da, sadece hayvanlar hasta olduğunda veteriner hekimlik hizmeti alan işletmelerin oranı daha yüksektir. Bu bulguya dayanarak Elazığ'da işletmelerin daha olumsuz bir duruma sahip olduğu söylenebilir. Hayvancılık işletmelerinde sürü sağlığı ve yönetimi kapsamında, koruyucu ve tedavi edici hizmetler için veteriner hekimlerden düzenli destek alınması gerekmektedir.

Bu çalışmada, yetiştiricilerin veteriner hekimlik hizmetleri alırken kamu yerine daha ziyade serbest veteriner hekimlerden hizmet aldıkları görülmektedir. Niğ-

de ili koyun yetiştiricilerinin de benzer biçimde sürülerinde çıkan hastalıkların teşhis ve tedavisini daha çok serbest veteriner hekimlere yaptırdıkları saptanmıştır (Çınar ve Ceyhan, 2021). Türkiye'de kamudan alınan veteriner hekimlik hizmetleri daha çok bulaşıcı ve salgın hastalıklar, zorunlu aşılama ve küpeleme ile sınırlı olduğundan, çalışmada belirlenen oranların makul olduğu söylenebilir.

Mevcut çalışmada, yetiştiricilerin işletmelerindeki hayvanlarının aşılama konusunda, aşı programlarına çoğunlukla riayet ettiği, ancak etmeyenlerin oranının da azımsanmayacak düzeyde olduğu belirlenmiştir. Erzincan ilinde yetiştiricilerin %93'ünün hayvanlarına düzenli olarak (Özyürek ve ark., 2018), Bursa ilinde yetiştiricilerin tamamının hayvanlarına çok yüksek oranda programa uygun şekilde aşı yaptırdıkları (Altınçekiç, 2014) ve Niğde ilinde koyun yetiştiriciliği yapılan işletmelerde ise düzenli bir aşılama programının olmadığı (Çınar ve Ceyhan, 2021) tespit edilmiştir. Literatür bulgularına göre; Elazığ'daki işletmelerde koyunlara düzenli aşı yaptırma oranının Erzincan ve Bursa'daki işletmelerden daha düşük, Niğde'deki işletmelerden ise yüksek olduğu söylenebilir. İşletmelerde biyogüvenlik uygulamaları kapsamında aşılamanın hayati öneme sahip olduğu bilinmektedir. Bu açıdan bakıldığında Elazığ ilindeki işletmelerde aşılama programının uygulanma düzeyinin artırılması, yetiştiricilerin bu konuda eğitilmesi ve yönlendirilmesinin gerekli ve önemli olduğu görülmektedir.

Bu çalışmada Elazığ'daki işletmelerde zorunlu aşıların çok yüksek oranda yaptırıldığı tespit edilmiştir. Benzer biçimde Niğde ilindeki yetiştiricilerin de büyük çoğunluğunun Tarım ve Orman Bakanlığı'nca belirlenmiş zorunlu olan aşıları sürülerine yaptırdığı saptanmıştır (Çınar ve Ceyhan, 2021). Hastalıklarla mücadele bakımından bu durum olumlu olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, bahsi geçen aşıların zorunlu olmasının bu oranların yüksekliği ile doğrudan ilişkisi olduğu açıktır.

İşletmelerde aşılama oranının büyük oranda veteriner hekimler, teknikerler veya teknisyenler tarafından, daha düşük oranda ise yetiştiriciler tarafından yapıldığı belirlenmiştir. Bursa ilindeki işletmelerin ise % 29.8'inde aşıları yetiştiricilerin kendilerinin yaptığı belirlenmiştir (Altınçekiç, 2014). Bu çalışmada Elazığ'daki işletmelerde aşıların yetiştiricilerin kendileri tarafından yapılmasına ait belirlenen oran Bursa'daki işletmeler için bildirilen orandan daha düşüktür. Bu durum, her iki ilde de yetkisiz ve bilgisiz kişilerce aşılama yapılmasının hayvan ve insan sağlığı bakımından ortaya çıkardığı yüksek risklerin olduğunu göstermektedir. Önlem alınmasının gerektiği değerlendirilmektedir.

Bu çalışmada, işletmelerdeki koyunlara şap, çiçek, brusella ve enterotoksemi aşılarının tamamının çok yüksek oranda yapıldığı belirlenmiştir. Ardahan ilinde

yapılan bir araştırmada, koyunlara şap, çiçek, brusella ve enterotoksemi aşularının hepsinin yaptırıldığı işletmelerin oranı %11.7 olarak belirlenmiştir (Ayvazoğlu Demir ve ark., 2015). Niğde İlinde yapılan araştırmada brusella, şap, koyun keçi ciğer ağrısı, enterotoksemi ve agalaksia aşularının karma olarak % 13.2 oranında yapıldığı bildirilmiştir (Çınar ve Ceyhan, 2021). Niğde İlinde yapılan başka bir çalışmada ise yetiştiricilerin %90.6'sının brusella, çiçek, şap, veba, enterotoksemi aşularını yaptırdıkları saptanmıştır (Ceyhan ve ark., 2015). Son derece önemli bir konu olan aşılama da kapsayacak biçimde hayvan sağlığı konularında yetiştiricilere eğitim verilmesinin büyük yararlar sağlayacağı düşünülmektedir.

Yapılan bu araştırmada, işletmelerde en fazla görülen hastalıklar arasında enterotoksemi ve paraziter hastalıklar ilk sıraları almaktadır. Benzer şekilde, Van İlinde yapılan bir araştırmada, küçükbaş işletmelerinde en yaygın görülen sağlık probleminin %65.4 oranında dış parazitler olduğu bildirilmiştir (Karakuş ve Akkol, 2013). Gaziantep İlinde yapılan bir araştırmada ise koyunculuk işletmelerinde en fazla mastitis ve yavru atma problemi görüldüğü saptanmıştır (Gül ve Örnek, 2018). Bu çalışmada, Elazığ'daki işletmelerde en fazla enterotoksemi ve paraziter hastalıkların görülmesi, bu hastalıklarla mücadeledeki yetersizliği ortaya koymaktadır.

Bu araştırmada, işletmelerde düzenli olarak dezenfeksiyon işleminin yapılmadığı, ayrıca ağılların büyük çoğunluğunda ayak yıkama havuzu ve banyoluk bulunmadığı saptanmıştır. Bu durumun aksine, Aydın (2018) tarafından Küçük Menderes Havzasındaki işletmelerde %95.2 oranında barınak dezenfeksiyonunun yapıldığı bildirilmiştir. Altınçekiç (2014) koyunculuk işletmelerinde %41.6 oranında ayak banyoluğunun varlığını rapor etmiştir. Bu çalışmada, Elazığ'daki işletmelerde dezenfeksiyon uygulamasının Küçük Menderes Havzasındaki işletmelerdeki orandan daha az olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde, işletmelerde ayak banyoluğu bulundurulmasına ait oran ise Bursa ilindeki işletmeler için tespit edilen değerlerden daha düşük tespit edilmiştir. İşletmelerde dezenfeksiyon uygulamalarının yapılmaması veya yetersizliği ile ayak banyoluğunun hiç bulundurulmaması ya da azlığı birçok olumsuzluklara neden olabilmektedir.

Sonuç olarak; Elazığ'daki yetiştiricilerin koyuncululuğu sürekli yapma ve kapasite artırma isteklerine rağmen, bu ildeki koyun yetiştiriciliğinin Türkiye'nin diğer illerinde olduğu gibi bazı temel sorunlarının olduğu görülmektedir. Elazığ'daki koyun yetiştiriciliğinin istenen düzeye ulaştırılması için saptanan sorunların çözülmesi gerekmektedir. Bu amaçla aşağıda sunulan çözüm önerileri dikkate alınmalıdır.

- Eğitim seviyesi daha yüksek yetiştiricilerin sektöre yönelimi sağlanmalıdır.

- Yetiştiricilerin daha bilinçli bir düzeye getirilmesi için yaşam boyu mesleki eğitime daha fazla önem verilmelidir.
- Yetiştiricilerin, resmi kurum ve kuruluşlar tarafından düzenlenecek eğitim faaliyetlerine katılımları koyunculuğa verilen desteklemelerin ön şartı olarak belirlenmelidir.
- Yetiştiricilerin en önemli beklentileri olan mera koşullarının düzeltilmesi, diğer beklentilerle birlikte ivedilikle gerçekleştirilmelidir.
- İşletmelere sürekli veteriner hekimlik hizmetlerinin sunulabileceği bir yapı (danışman veteriner hekimlik, sorumlu veteriner hekimlik vb.) oluşturulmalıdır. Ayrıca, Koyun ve Keçi Yetiştirici Birlikleri bünyesinde, veteriner hekim, veteriner sağlık teknikeri ve veteriner sağlık teknisyeni istihdamı artırılmalı, mevcut çalışanlardan daha etkin şekilde yararlanılmalıdır.
- Aşılama hizmetlerinin tamamen veteriner hekimler, veteriner sağlık teknikerleri ya da veteriner sağlık teknisyenleri tarafından yapılmasını sağlayacak önlemler alınmalı ve uygulanmalıdır.
- Hastalıkları önleme ve işletmelere girişini engelleme için gerekli olan dezenfeksiyon uygulamaları ile ayak yıkama havuzu ve banyoluk bulundurulması teşvik edilmeli, bu amaçla bilinçlendirme çalışmaları yapılmalıdır.

Kaynaklar

- Altınçekiç ŞÖ. Bursa ili koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve refah ölçütleri açısından değerlendirilmesi, Doktora tezi, Uludağ Üniv Fen Bil Ens, Bursa 2014; s.52-124.
- Aydiner R. Küçük Menderes Havzası koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri. Yüksek lisans tezi, Aydın Adnan Menderes Üniv Fen Bil Ens, Aydın 2018; s.39-92.
- Ayvazoğlu Demir P, Adıgüzel Işık S, Aydın E, Yazıcı K, Ayvazoğlu C. Ardahan ilinde koyun yetiştiriciliğinin sosyo-ekonomik önemi. Van Vet J 2015; 26 (3):141-6.
- Bilginturan S, Ayhan V. Burdur İli Damızlık Koyun ve Keçi Yetiştiriciler Birliği üyesi koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve sorunları üzerine bir araştırma. Hayvansal Üretim 2009; 50(1): 1-8.
- Cengiz F, Karaca S, Kor A, Ertuğrul M, Arık İZ, Gökdal Ö. Küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde değişimler ve yeni arayışlar. Sekizinci Türkiye Ziraat Mühendisliği (VIII) Teknik Kongresi. Ocak, 12-16, 2015, Ankara-Türkiye.

- Ceyhan A, Şekeroğlu A, Ünalın A, Çınar M, Serbest U, Akyol E, Yılmaz E. Niğde ili koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve sorunları üzerine bir araştırma. KSÜ Tar Doga Derg 2015; 18(2): 60-8.
- Cochran WG. Sampling Techniques. Third Edition. New York: John Wiley&Sons, 1997; p.1-448.
- Çınar S, Ceyhan A.. Niğde ili sürü yönetimi personeli kurs programına katılan çiftçilerin koyun yetiştiriciliği faaliyetleri üzerine bir araştırma. JAFEAS 2021; 2(1): 44-60.
- DAP. DAP Bölgesi Büyükbaş ve Küçükbaş Hayvancılık Yatırım Havzaları Master Planı Raporu, 2016. <https://www.kalkinmakutuphanesi.gov.tr/dokuman/dap-bolgesi-buyukbas-ve-kucukbas-hayvancilik-yatirim-havzaları-master-plani-raporu/1608>. Erişim tarihi: 30.01.2022.
- Dellal G, Eliçin A, Tekel N, Dellal İ. GAP Bölgesinde Küçükbaş Hayvan Yetiştiriciliğinin Yapısal Özellikleri. Tarım ve Orman Bakanlığı Proje Raporu 2002. <https://kutuphane.tarimorman.gov.tr/vufind/Record/20126>. Erişim tarihi: 10.02.2022.
- Gül S, Örnek H. Gaziantep ilinde küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin yapısal özellikleri I. Koyun yetiştiriciliği. MKÜ Zir Fak Derg 2018; 23(2): 306-14.
- IBM SPSS. SPSS 22.0 Statistical Package in Social Sciences for Windows. Chicago: 2015.
- Karadaş K. Şanlıurfa ilinde koyunculuk işletmelerinin sosyo-ekonomik durumu: Siverek ilçesi örneği. GUFBD 2017; 7(2): 268-79.
- Karakaya E, Kızıloğlu S. Küçükbaş hayvancılık işletmelerinin örgütlenme yapısı Bingöl ili örneği. Türk Tar ve Doğa Bil Derg 2014; 1(4): 552-60.
- Karakuş F, Akkol S. Van ili küçükbaş hayvancılık işletmelerinin mevcut durumu ve verimliliği etkileyen sorunların tespiti üzerine bir araştırma. Van YYÜ Fen Bil Enst Derg 2013; 18(1-2): 9-16.
- Köseman A, Kul S, Şeker İ. Malatya ilindeki koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve yetiştiricilerin sosyo-ekonomik durumu. FÜ Sağ Bil Vet Derg 2022; 36(1): 1-9.
- Özsayın D, Everest B. Koyun yetiştiriciliği yapan üreticilerin sosyo-ekonomik yapısı ve koyunculuk faaliyetiyle ilgili uygulamaları. KSÜ Tar Doga Derg 2019; 22 (Ek Sayı 2): 440-8.
- Özyürek S, Türkyılmaz D, Dağdelen Ü, Esenbuğa N, Yaprak M. Erzincan ili koyunculuk işletmelerinin yapısal özellikleri ve sorunlarının işletme büyüklüğüne göre incelenmesi. Akademik Ziraat Dergisi 2018; 7(2): 219-26.
- Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V. Biyoistatistik. Ankara: Hatipoğlu Yayınları 2000; s.1-299.
- Şahinli MA. Koyunculuk sürü yönetimi: Karaman ili örneği. ANAJAS 2014; 29(2):113-20.
- Şeker İ, Köseman A. Elazığ ilinde büyükbaş ve küçükbaş hayvancılık faaliyetleri. Harran Üniv Vet Fak Derg 2015; 4(1): 36-44.
- Tüfekci H. Yozgat ili küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin yapısal durumu ve geliştirme olanaklarının belirlenmesi. Hayvansal Üretim 2020; 61(1): 91-100.
- TKKYMB. Küçükbaş Hayvan Sayıları 2019-2020. <http://turkiyekoyunkeci.org/tr/RakamlarlaKoyunKeci>. Erişim tarihi: 30.01.2022.
- Tüfekci H, Olfaz M. Kastamonu ili küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinin sorunları ve çözüm önerileri. TURJAF 2015; 3(7): 577-82.
- Yamane T. Temel Örnekleme Yöntemleri. İstanbul: Literatür Yayıncılık 2010; s. 528



Qualitative Determination of Bisphenol A and Phthalate Residues in Drinking Water Alternatives in Kayseri Province of Türkiye*

Şule MERDİM^{1,a}, Yeliz YILDIRIM^{1,b}, İbrahim AYDIN^{2,c}

¹Erciyes University, Faculty of Veterinary Medicine, Food Hygiene and Technology Department, Kayseri-TÜRKİYE

²Erciyes University, Faculty of Pharmacy, Analytical Chemistry Department, Kayseri-TÜRKİYE

ORCID: ^a0000-0003-0346-5711; ^b0000-0001-8783-3889; ^c0000-0002-3765-5639

Corresponding author: Şule MERDİM; E-mail: boyrazsule92@gmail.com

How to cite: Merdim Ş, Yıldırım Y, Aydın İ. Qualitative determination of bisphenol a and phthalate residues in drinking water alternatives in Kayseri province of Türkiye. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):203-209

Abstract: In this study, it was aimed to qualitatively determine Bisphenol A and dibutyl phthalate residues in carboy, pet bottled and tap waters used as drinking water in Kayseri-Türkiye. Being used as an additive in the production of many products and plastics frequently used in daily life, BPA and phthalates are associated with a variety of health issues and environmental problems. Within the scope of this study, a total of 20 drinking water samples (9 pet, 7 carboy and 4 tap water) were analyzed in terms of dibutyl phthalat (DBP), BPA and BPA derivatives (Bisphenol S and Bisphenol F). Among the pet bottled water samples; 8 (88.88%) were found to be contaminated with BPA, 5 (55.55%) with DBP and 7 (77.77%) with BPA derivatives, while 1(14.28%) of the carboy water samples were found contaminated with BPA and 7(100%) with DBP. Among the tap water samples, 2 (50%) were contaminated with BPA and 4 (100%) with DBP. No BPA derivatives were found in carboy and tap water samples while pet bottled waters were found positive for all three contaminants. On the other hand, all carboy and tap waters were found contaminated with phthalates. The findings of this study reveal that the most variety of contamination for these chemicals is determined in pet bottled waters. This study highlighted the situation of BPA and phthalate residues in drinking water sources. Measures should be taken to prevent the contamination of all types of drinking water and to systematically examine the BPA and phthalate-related safety of drinking waters. Further investigation is needed to determine and quantify the occurrence of the target compounds.

Keywords: Bisphenol-A, drinking water, endocrine disruptors, phthalate, public health

Türkiye'nin Kayseri İli İçme Suyu Alternatiflerinde Bisfenol A ve Ftalat Kalıntılarının Kalitatif Olarak Belirlenmesi

Öz: Bu çalışmada Kayseri/Türkiye'de içme suyu olarak kullanılan damacana, pet şişe ve çeşme sularında BPA ve ftalat kalıntılarının niteliksel olarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Günlük hayatta sıklıkla kullanılan birçok ürünün ve plastiğin üretiminde katkı maddesi olarak kullanılan Bisfenol A ve dibütül ftalat, halk sağlığı ve çevre için risk oluşturmaktadır. Bu çalışma kapsamında toplam 20 adet içme suyu numunesi (9 pet şişe, 7 damacana ve 4 musluk suyu) dibütülftalat (DBP), BPA ve BPA türevleri açısından analiz edilmiştir. Pet şişe su örnekleri arasında; 8'inin (%88.88) BPA, 5'inin (% 55.55) DBP ve 7'sinin (%77.77) BPA türevleri ile kontamine olduğu, damacana su örneklerinin 1'inin (%14.28) BPA ve 7'sinin (100) DBP ile kontamine olduğu tespit edildi. DBP ile içme suyu numunelerinin 2'si (%50) BPA ile ve 4'ü (%100) DBP ile kontamine olmuştur. Damacana ve musluk suyu örneklerinde BPA türevi bulunmazken, pet şişe sularında her üç kirlenici için de pozitif bulundu. Öte yandan, tüm damacana ve musluk sularının ftalatlarla kontamine olduğu bulundu. Bu çalışmanın bulguları, bu kimyasallar için en çeşitli kontaminasyonun pet şişe sularında belirlendiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışma, içme suyu kaynaklarında BPA ve ftalat kalıntılarının durumunu ortaya koymuştur. Her türlü içme suyunun kirlenmesini önlemek ve içme sularının BPA ve ftalat ile ilgili güvenliğini sistematik olarak incelemek için önlemler alınmalıdır. Hedef bileşiklerin oluşumunu belirlemek ve ölçmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Bisfenol A, endokrin bozucular, ftalat, halk sağlığı, içme suyu

Introduction

According to general perception, bottled water is more preferable than tap water in terms of safety and taste (Diduch et al., 2013; Saylor et al., 2011). However, some chemical residues had been frequently

detected in bottled water, among which some endocrine disruptors have attracted special attention due to their serious effects on public health. (Al-Saleh et al., 2011; Amiridou and Voutsas, 2011; Casajuana and Lacorte, 2003; Diduch et al., 2013).

The first discovery of BPA, which is used in the construction material of polycarbonate plastics, which are used quite frequently in household products, in the production of polyvinyl chloride (PVC) plastics, and in

Geliş Tarihi/Submission Date : 19.03.2022

Kabul Tarihi/Accepted Date : 15.08.2022

*This study was summarized from the project coded (TYL-2019-8743) supported by the Scientific Research Projects Unit of Erciyes University.

the content of many products such as the inner coating of food and beverage containers, carboys and pet bottle waters, was by Dianin in 1891. CD, DVD BPA, which has additional uses in the coating of various electronic materials, sports equipment, paper coatings and automobiles, is one of the chemicals whose use has been increasing rapidly from past to present. Plastics, which are frequently used in living spaces, have a polymeric structure. Polymers are composed of monomers containing carbon, hydrogen, oxygen atoms and silicon in their structure. Many monomers are heated and polymerized to form these polymers (Brunelle, 2005).

Large amounts of BPA produced worldwide each year can cause BPA pollution in rivers and lakes, negatively affecting wildlife and people who use these sources for drinking water in many ways (Prokop et al., 2004).

Phthalates are also widely used plasticizer chemicals to provide the durability and flexibility of polyvinyl chloride containing plastic products, including packaged food products, toys, textiles, feeding bottles, pacifiers, medical equipment, carboys and pet bottles. Phthalates are oil-soluble, as are organic pollutants. Phthalates are transported by water, air and organic matter. Since they are not covalently bonded to plastics, migration from products to the environment can be easier. Due to the risk of health, the use of plastic in materials that come into contact with food has been limited by legal regulations. Phthalate esters, especially DEHF (diethylhexyl phthalate) and DBP (dibutyl phthalate), have been detected in studies carried out in surface waters, underground waters, drinking water, carboys, pet bottles and tap waters, and it has been observed that their levels are affected by seasonal changes and water storage conditions (Johnson et al., 2002).

Phthalates are plasticizing chemicals that are used to ensure the durability and flexibility of plastic products; such as packaged food products, toys, textiles, baby bottles, carboy and pet bottled waters. The public health risks of phthalate and BPA contaminated water and food constitute the most intense agenda of the scientific community indicating the associations between endocrine disrupting chemicals (EDCs) and obesity, diabetes (Diamanti-Kandarakis et al., 2010; Legler et al., 2015) and insulin resistance (James-Todd et al., 2012; Lind et al., 2012; Stahlhut et al., 2007).

Neurodevelopmental, cardiovascular and reproductive disorders and endocrine disruption are reported among the most critical adverse effects of BPA and phthalates (Harris et al., 1997; Engel et al., 2009; Heudorf et al., 2007; Martino-Andrade and Chahoud, 2010; Swan, 2008) as well as reproductive abnormalities in case of perinatal exposure (Gray et al., 2000;

Swan et al., 2005; Foster, 2006).

In order to prevent the risks of these chemicals; exposure routes and quantities should be determined which is an important step in terms of tracking risks, taking necessary precautions and protecting the environment and public health. In this context, this study aimed to determine the presence and public health risks of BPA DBP and BPA derivatives in bottled drinking water.

Materials and Methods

1. Solvents, reagents and materials

N-hexane-ethyl acetate, were used in column chromatography and separations in laboratories. Ethyl acetate can be separated by spraying compressed air in a hot water bath due to its volatility and low boiling point in organic chemistry and especially in experiments. N-Hexane was used as a degreaser. The main purpose of using hexane is to perform the separation process by evaporating the solvent. NaCl, separating funnel was used in liquid-liquid extraction. This method was applied by making use of the density difference of two liquids. When the mixture was placed in the separatory funnel, the liquid with the lower density was collected at the top and the other one at the bottom.

2. Sample collection

A total of 20 water samples collected from the market (9 pet bottled (P1-P9), 7 carboy (C1-C7) and 4 tap water (T1-T4) from various districts, were collected in 3 days and BPA DBP and BPA derivate analyses were performed. The study was carried out with commercially sold pet bottled and carboy waters and tap water collected from four different districts of Kayseri. Most frequently used and most common brands are preferred to represent commercial pet bottled and carboy water samples.

Before sampling, the bottles that will be used to sample were rinsed twice with the water samples. All samples were transported to the laboratory and were stored at 4°C before analysis. Samples were extracted within 6-7 days of collection.

3. BPA and DBP determination

Water samples were taken into a 2000 ml separatory funnel and n-hexane-ethyl acetate solution was prepared in 500 ml glass flasks. 1000 ml of water sample was extracted with 300 ml of n-hexane-ethyl acetate (8:2) and shaken for 60-80 minutes. 25 g of NaCl was added to the water sample and shaken again for 60-70 minutes. The resulting phase is then transferred into the glass beaker and evaporation was carried out at 200 pressure at 90 rpm and at 37°C. The oily residue in the flask was dissolved in a small

amount of n-hexane and taken into 1 ml glass vials. These vials were transferred and analyzed in the Technology Research and Application Center (TAUM) by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) method.

BPA and DBP analyzes were done using GC-MS method and SHIMADZU QP2010 device was used. It consists of high capacity turbo molecular pump, high performance ion source and ion optics, configurations and optional units that can be selected in accordance with analytical needs. Values GC-MS conditions are shown in Table 1.

Results

An example of BPA and DBP values representing the pet bottled, carboy and tap water samples examined within the scope of the study is shown in Figure 1, Figure 2 and Figure 3 respectively.

In this study, 88.88% (8/9) of pet bottled, 14.28% (1/7) of carboy water and 50% (2/4) of tap water samples were found positive in terms of BPA, while 55.55% (5/9), 100% (7/7) of carboy and 100% (4/4) of tap water samples were found to be contaminated with DBP. The contamination rates of DBP, BPA and BPA derivatives in the analyzed drinking water samples are summarized in Table 2.

Table 1. GC-MS conditions

GC-MS Conditions	Values
Column oven temperature	50°C
Injection temperature	280°C
Sampling time	4 minute
Pressure	208.3 kPa
Total flow	11 mL/min
Column flow	4 mL/min
Linear velocity	72.6 cm/sec
Purge flow	3 mL/min
Split ratio	1

Table 2. Contamination rates of DBP, BPA and BPA derivates in drinking water samples

	BPA (%)	DBP (%)	BPA DERIVATIVES (%)
Pet Bottled (n=9) (P1-P9)	8 (88.88)	5 (55.55)	7 (77.77)
Carboy (n=7) (C1-C7)	1 (14.28)	7 (100)	-
Tap water(n=4) (T1-T4)	2 (50)	4 (100)	-
Total: 20	11 (55)	16 (80)	7 (35)

BPA: Bisphenol A, DBP: Dibutyl phthalate, BPA Derivates: Bisphenol F and Bisphenol S.

4. Quality assurance and quality control

In the study, the samples were collected in glass bottles, to avoid the possibility of bottle to be contaminated with bpa and phthalate. The sterilization process was carried for the glass bottles before the sampling. The bottles were washed with the sampled water in order to prevent other contaminations from the laboratory environment. After being rinsed twice with the sampled water, the glass bottles were filled with the water samples. While performing the analysis, attention was paid to ensure that the equipment used were not plastic for bpa and phthalate contamination; Care was taken to ensure that the beaker used in the extraction process, the balloon used in the evaporation process, and the vials in which the reading process took place in the GC/MS device were glass. The samples, with protection from heat and light, were transported to the laboratory and analyzed. They were stored at room temperature, in an area out of direct sunlight and were subjected to the analyses as soon as possible.

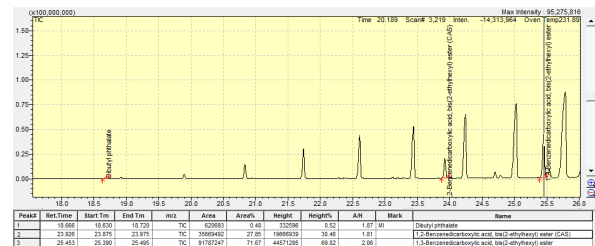


Figure 1. DBP peak values in pet bottle water samples.

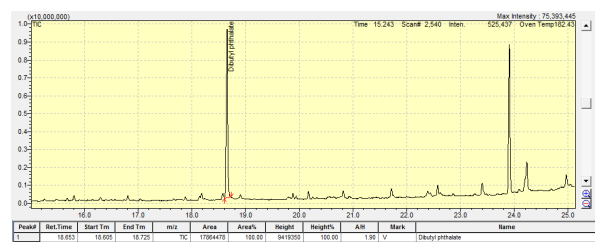


Figure 2. DBP peak values in carboy water samples.

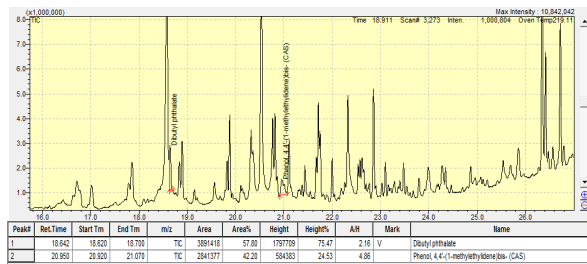


Figure 3. BPA and DBP peak values in tap water samples.

Drinking water samples collected in this study were analyzed only for DBP, BPA and BPA derivatives, and no quantification were made in the water matrix. However, when the findings of the study are evaluated in terms of peak values; DBP, BPA and BPA derivative levels in pet bottled, carboy and tap water samples were highly variable.

Discussion and Conclusion

According to the drinking water criteria determined by WHO and USA; phenol compounds up to 0.001-0.002 mg / L are permitted (WHO 2010). On the other hand, EFSA reports the limit values for BPA and DBP in drinking water as 50 ppb and 0.005 mg / L respectively (EFSA 2005). Similarly, in Turkish Food Codex (TGK), the maximum BPA value allowed in food products is reported to be 600 ppb (TGK 2005) and up to 0.002 mg / L of phenolic substances was allowed only in the group of substances that affect the drinkable feature (TS 2019).

Different levels of DBP, BPA and BPA derivatives contamination rates were found for carboy, tap and pet waters in this study. These differences determined in pet bottled and carboy water may be related to the DBP, BPA and BPA derivative amounts used in the production of plastics of different brands, as well as the storage time and conditions of the packaged waters. Likewise, the lowest contamination levels were obtained from the water brands of nearest source of origin in this study which means shorter transport and storage time before being consumed.

In this study, 88.88% (8/9) of pet bottled samples, 14.28% (1/7) of carboy water samples and 50% (2/4) of tap water samples were found positive in terms of BPA, while Shao et al. (2005) reported that no detectable BPA contamination was found in water and other beverages sold in plastics or cans. On the other hand, in a study conducted by Maggioni et al. (2012), 15 (28.57%) of 35 Italian city waters were found contaminated with BPA. Similarly, Colin et al. (2014) determined the incidence of BPA contamination in pet water as 14.4%.

Much higher contamination rates have been reported in a study conducted by Santhi et al. (2012) in Malaysia, in which the BPA contamination in drinking waters were reported to be 93%. In a study conducted by Li et al. (2010) in China, BPA contamination in tap waters was determined to be 80.95%. Kuch (2001) and Notardonato et al. (2018); reported the prevalence of BPA in drinking water as 100% and 98.1%, respectively. Also in studies related to BPA contamination of tap waters in various countries; contamination rates in the USA, Lebanon, India and Europe, were reported as 94%, 94%, 82% and 72% respectively (Kosuth et al., 2017).

There are many studies reporting the presence of phthalates in drinking waters (Benotti et al. 2008; Loraine and Pettigrove, 2006; Santana et al., 2014). In this study, 55.55% (5/9) of pet bottled water samples, 100% (7/7) of carboy samples and 100% (4/4) of tap water samples were contaminated with DBP. This similarity in tap and carboy waters could be due to the network of distribution pipes and carboy material to be made of hard plastic for which DBP is used for hardening the plastic. Also, it is the fact that water consumption from carboy is much slower than the pets and that could be associated with increased contact time and longer DBP release.

Consistent to our study results; Serrano et al. (2014) also reported higher DBP contamination rates in tap and carboy waters than other beverage samples; and they pointed out high-fat foods, fatty dairy products, and poultry for human phthalate exposure. Likewise, Notardonato et al. (2018); reported 97.5% of tap water samples to be contaminated with DBP.

Serôdio and Nogueira (2006) stated that DBP was the most common phthalate derivative found in mineral waters. Similarly, in a study by Li et al. (2010) evaluating drinking water samples from various regions in China for 6 different phthalate derivatives; the most common phthalate contaminant in drinking water was found to be DBP (99.6%). The researchers stated that no water sample exceeded "Chinese drinking water quality standards", and they concluded that phthalates in drinking water could not be considered as a cause of cancer in Northern China.

The data obtained as a result of this study revealed that drinking water consumed in Kayseri/Türkiye is contaminated with DBP, BPA and BPA derivatives. Drinking water in pet bottles has been demonstrated to be contaminated with all contaminants of concern, therefore pet waters preserved in thin plastic material could constitute the most risky alternative as drinking water for public health. Although there are limit values for BPA and DBP in the national legislation, content of these chemicals in drinking water are not routinely tested and monitored in Türkiye. Since the level of contaminations could not be determined, the risk

assessments could not be evaluated in this study.

These values indicate certain levels of BPA and DBP contamination in both mains and commercial waters. It is of great importance to carry out studies to prevent BPA and DBP from mixing with water resources. In our country, studies on the use of alternative materials for all kinds of materials that contain BPA and DBP and come into contact with food and water should be implemented. Comprehensive studies are needed to determine the sources of exposure for the risk group, which has a higher risk of exposure, especially for children and other sensitive individuals in the society, and to take precautions. Rather than ignoring the public health risks of these chemicals, it is critical to develop a more realistic approach for the invisible dangers faced by modern lives. Therefore it is necessary i) to establish reference laboratories to implement fast, reliable and quantity-measuring methods for the routine control of phthalate and bisphenol contaminations in drinking water ii) to identify sources of contamination and iii) to take necessary legal measures and protect public health.

Risk analysis; especially for the sensitive population group (women, infants and children during pregnancy and lactation), should be performed and announced to the population. In this context, it is essential to raise public awareness with the comprehensive and well-planned educational activities, especially for pregnant women and those who plan to become pregnant, about the importance of avoiding exposure in the critical pregnancy periods. The laws that prevent the use of BPA in food containers should effectively be implemented since they may lead to high amount of exposure for the most vulnerable group (the children up to 3 years).

Global industrial BPA production is increasing and is expected it to grow by 4.8% in 2020 (Almeida et al., 2018). In areas where the use of BPA is legally restricted or prohibited, studies on the alternative use of chemicals such as bisphenol F and S, for which the health effects have not been fully revealed, should be completed and relevant legal regulations should be put into force. Some studies, however, have already concluded the "BPA-like" endocrine disrupting effects of other bisphenol derivatives. Therefore, it seems to be the best option to prefer materials such as glass rather than bisphenol-containing plastics for contact surfaces and containers to reduce exposure and adverse health effects.

As a result, taking into account the proven health effects of these chemicals; this study aims to develop a BPA and DBP targeted perspective in daily life, and reveals that efforts to obtain more environment friendly and healthier products should be increased to protect human and environmental health.

It is necessary to raise public awareness about the potential health consequences of these chemicals and to limit the exposure by continuous and well-coordinated training activities.

This study, which we have done, was conducted with a limited sample and is a preliminary study, and new studies are needed by conducting more quantitative studies.

Acknowledgments

This work was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Erciyes University (ERU-BAP). Project number: TYL-2019-8743.

References

- Almeida S, Raposo A, Almeida-Gonzalez M, Carrascosa C. Bisphenol A: Food exposure and impact on human health. *Compr Rev Food Sci Saf* 2018; 17(6): 1503-17.
- Al-Saleh I, Shinwari N, Alsabbaheen A. Phthalates residues in plastic bottled water. *J Toxicol Sci* 2011; 36(4): 469e478.
- Amiridou D, Voutsas D. Alkylphenols and phthalates in bottled water. *J Hazard Mater* 2011; 185(1): 281e286.
- Benotti MJ, Trenholm RA, Vanderford BJ, Holady JC, Stanford BD, Snyder SA. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in US drinking water. *Environ Sci Technol* 2008; 43(3):597-603.
- Brunelle DJ. Advances in polycarbonates: An overview. *American Chemical Society Symposium Series*, 2005; 898: 1-5.
- Casajuana N, Lacorte, S. Presence and release of phthalic esters and other endocrine disrupting compounds in drinking water. *Chromatographia* 2003; 57(9e10): 649e655.
- Colin A, Bach C, Rosin C, Munoz JF, Dauchy X. Is drinking water a major route of human exposure to alkylphenol and bisphenol contaminants in France? *Arch Environ Contam Toxicol* 2014; 66(1): 86-99.
- Diamanti-Kandarakis E, Palioura E, Kandarakis SA, Koutsilieris M. The impact of endocrine disruptors on endocrine targets. *Horm Metab Res* 2010; 42: 543-52.
- Diduch M, Polkowska, Z, Namiesnik J. Factors affecting the quality of bottled water. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2013; 23 (2): 111e119.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2005). Opinion of the Scientific Panel on food additives,

- flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to Bis (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) for use in food contact materials.
- Engel SM, Zhu C, Berkowitz GS, Calafat AM, Silva MJ, Miodovnik A, Wolff MS. Prenatal phthalate exposure and performance on the neonatal behavioral assessment scale in a multiethnic birth cohort. *Neurotoxicology* 2009; 30(4): 522e528.
- Foster PMD. Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters. *Int J Androl* 2006; 29(1): 140e147.
- Gray LE, Ostby J, Furr J, Price M, Veeramachaneni DNR, Parks L. Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Sci* 2000; 58(2): 350e365.
- Harris CA, Henttu P, Parker MG, Sumpter JP. The estrogenic activity of phthalate esters in vitro. *Environ Health Perspect* 1997; 105(8): 802e811.
- Heudorf U, Mersch-Sundermann V, Angerer J. Phthalates: toxicology and exposure. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210(5): 623e634.
- James-Todd T, Stahlhut R, Meeker JD, Powell SG, Hauser R, Huang T, Rich-Edwards J. Urinary phthalate metabolite concentrations and diabetes among women in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2008. *Environ Health Perspect* 2012; 120: 1307-13.
- Johnson I, Harvey P. Study on The Scientific Evaluation of 12 Substances In The Context of Endocrine Disrupter Priority List of Actions European Commission. *Wrc-Nsf Ref.* 2002; Uc 6052.
- Kosuth M, Wattenberg EV, Mason SA, Morrison D, Tyree C. Synthetic polymer contamination in global drinking water. *PlosOne* 2017; 13(4): e0194970.
- Kuch HM, Ballschmiter K. Determination of endocrine disrupting phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRGC-(NCI)-MS in the picogram per liter range. *Environ Sci Technol* 2001; 35(15): 3201-6.
- Legler J, Fletcher T, Govarts E, Porta M, Blumberg B, Heindel JJ, Trasande L. Obesity, diabetes, and associated costs of exposure to endocrine-disrupting chemicals in the European union. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100: 1278-88.
- Li X, Ying GG, Su HC, Yang XB, Wang L. Simultaneous determination and assessment of 4-nonylphenol, bisphenol A and triclosan in tap water, bottled water and baby bottles. *Environ Int* 2010; 36: 557e562.
- Lind PM, Zethelius B, Lind L. Circulating levels of phthalate metabolites are associated with prevalent diabetes in the elderly. *Diabetes Care* 2012; 35: 1519-24.
- Loraine GA, Pettigrove ME. Seasonal variations in concentrations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and reclaimed wastewater in southern California. *Environ Sci Technol* 2006; 40(3): 687-95.
- Maggioni S, Balaguer P, Chiozzotto C, Benfenati E. Screening of endocrine-disrupting phenols, herbicides, steroid estrogens, and estrogenicity in drinking water from the waterworks of 35 Italian cities and from PET-bottled mineral water. *Environ Sci Pollut Res* 2012; 20(3):1649-60.
- Martino-Andrade AJ, Chahoud I. Reproductive toxicity of phthalate esters. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54(1): 148e157.
- Notardonato I, Russo MV, Avin P. Phthalates and bisphenol A residues in water samples: an innovative analytical approach. *Rend Lincei Sci Fis Nat* 2018; 29:831-40.
- Prokop Z, Hankova, L, Jerabek, K. Bisphenol A synthesis-modeling of industrial reactor and catalyst deactivation. *React Funct Polym* 2004; 60: 77-83.
- Santana J, Giraudi C, Marengo E, Robotti E, Pires S, Nunes I, Gaspar EM. Preliminary toxicological assessment of phthalate esters from drinking water consumed in Portugal. *Environ Sci Pollut Res* 2014; 21(2): 1380-90.
- Santhi VA, Sakai N, Ahmad ED, Mustafa AM. Occurrence of bisphenol A in surface water, drinking water and plasma from Malaysia with exposure assessment from consumption of drinking water. *Sci Total Environ.* 2012; 427-428: 332-8.
- Saylor A, Prokopy LS, Amberg S. What's wrong with the tap? Examining perceptions of tap water and bottled water at Purdue University. *Environ Manag* 2011; 48(3): 588e601.
- Serôdio P, Nogueira JMF. Considerations on ultra-trace analysis of phthalates in drinking water. *Water Res* 2006; 40(13): 2572-82.
- Serrano SE, Braun J, Trasande L, Dills R, Sathyanarayana S. Phthalates and diet: a review of the food monitoring and epidemiology data. *Environ Health* 2014;13(1): 43.
- Shao X, Ma J, Wen G. Survey on endocrine disrupting chemicals in a drinking water work in Songhua River Basin. *Environ Sci* 2005; 29(10): 2723-8.
- Stahlhut RW, vanWijngaarden E, Dye TD, Cook S,

- Swan SH. Concentrations of urinary phthalate metabolites are associated with increased waist circumference and insulin resistance in adult US males. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 876-82.
- Swan SH. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environ Res* 2008; 108 (2): 177e184.
- Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, Mao CS, Redmon JB, Ternand CL, Sullivan S, Teague JL. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect* 2005; 113 (8): 1056e1061.
- TGK (2005). Turkish Food Codex. Communiqué on plastics and materials in contact with foodstuffs-2005/31.
- TS266/T1 (2014); TS 266/T2 (2019). 98/83/EC Directive, Standard methods for the examination of water and waste water, 1985, guidelines for drinking water quality who world health organization geneva 1993, water consumption regulation for human consumption official gazette dated february 17, 2005.
- WHO (World Health Organization) (2010). Environmental Health Criteria 189, Di-n-butyl Phthalate. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc189.htm>; Access Date: 09.03.2010.



ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University

Araştırma Makalesi / Research Article
19(3), 210-219, 2022
DOI: 10.32707/ercivet.1205289

Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Asidik Deri Yanıklarında Uygulanan Ozon Tedavisinin Klinik Etkinliğinin Araştırılması*

Nevzat Emre ASLAN^{1,a}, Hanifi EROL^{2,b}, Esra BALCIOĞLU^{3,c}

¹Yozgat Bozok Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Yozgat-TÜRKİYE
²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE
³Erciyes Üniversitesi, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0001-8970-7763; ^b0000-0001-8140-3108; ^c0000-0003-1474-0432

Corresponding author: Nevzat Emre ASLAN; nevatemre12@gmail.com

How to cite: Aslan NE, Erol H, Balcıoğlu E. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan asidik deri yanıklarında uygulanan ozon tedavisinin klinik etkinliğinin araştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):210-219

Öz: Bu çalışmada ratlarda hidroflorik asit (HFA) ile deneysel olarak oluşturulan asidik deri yanıklarında ozon tedavisinin klinik etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma materyalini 20 adet, sağlıklı erkek, 200-250 gr ağırlığındaki ratlar oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen hayvanlar her bir grupta 10 adet hayvan olacak şekilde deney ve kontrol grubu olarak gruplandırıldı. Grupları oluşturan tüm hayvanlarda genel anestezi altında %38'lik HFA ile asidik deri yanığı oluşturuldu. Deri yanığı oluşturulan çalışma grubundaki tüm hayvanların yara bölgesine 7 gün boyunca günde bir kere ozonlanmış sıvı vazelin, kontrol grubundaki tüm hayvanlara ise %0.9'luk serum fizyolojik 7 gün süre ile günde bir kere uygulandı. Çalışmada klinik olarak değerlendirmeye alınan bül, eritem, nekroz, iyileşme, tüylenme ve oluşan hasarlı alan verilerinin istatistiksel analizleri karşılaştırıldı. İstatistiksel analiz sonucunda deney ve kontrol grupları arasında bül, eritem, nekroz, iyileşme ve oluşan hasarlı alan bakımından anlamlı farklılık olmadığı, ancak tüylenmede 5. günden itibaren anlamlı farklılık olduğu tespit edildi (P<0.05). Bu çalışma sonucunda; deneysel olarak oluşturulan asidik deri yanıklarında ozon tedavisi yapılan grupta iyileşen hayvan sayısının daha fazla olduğu ve iyileşmenin 8. gün deney grubunda istatistiksel olarak anlamlılık seviyesinde olduğu tespit edildi. Ozonun asidik deri yanıklarında acil müdahale olarak uygulanan hidroterapiye göre daha iyi olabileceği fakat konuyla ilgili daha detaylı araştırmaların yapılması gerektiği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Deri, hidroflorik asit, ozon, yanık, yara

Investigation of the Clinical Effectiveness of Ozone Therapy on Experimental Acidic Skin Burns in Rats

Abstract: This study aims to research the clinical efficacy of ozone therapy on experimentally induced hydrofluoric (HFA) acidic skin burns in rats. The study material consists of 20 healthy male rats weighing 200-250 g. The animals were grouped as experimental and control group, with 10 animals in each. Acidic skin burn was created with 38% HFA under general anaesthesia in all groups. Ozonated liquid Vaseline was applied daily to the wound area in experimental group for 7 days and 0.9% saline was applied daily to the control group for 7 days. In the study, bullae, erythema, necrosis, healing, hair growth and damaged area data were clinically evaluated and statistically compared. As a result of the statistical analysis, there was no significant difference determined between the experimental and control group in clinical examination but there was a significant difference found in hair growth (P<0.05). As a result of this study; it was determined that the number of animals which recovered in the group treated with ozone treatment in experimentally induced acidic skin burns was higher and the recovery was statistically significant in the 8th day experimental group. It was concluded that ozone may be more favourable than hydrotherapy in emergency interventions in acidic skin burns, However, more detailed research on the subject is needed.

Keywords: Burn, hydrofluoric acid, ozone, skin, wound

Giriş

Vücut ile dış çevre arasında katman olan deri; fiziksel hasar, patojenler ve sıvı kaybına karşı bariyer görevi görmekte olup vücut homeostazının korunmasına katkı sağlayan immun-nöroendokrin işleve sahiptir (Cañedo-Dorantes ve Cañedo-Ayala, 2019). Deride;

dermal ve epidermal sinir ağları ile ağrı ve sıcaklık hislerini ileten otonomik liflerden oluşan yoğun bir duyuşal ağ innervasyonu bulunmaktadır. Ayrıca vazodilatasyon, vazokonstriksiyon, vücut ısısı ve fizyopatolojik olarak bağışıklık aktivasyonu, yara iyileşmesi gibi aktiviteleri başlatan işlevleri de yerine getirmektedir (Roosterman ve ark., 2006).

Ateş, kimyasal ve termal yanıklar sıklıkla karşılaşılan durumdur. Yanık bölgesi, vücudun büyük oranda yaklaşık %20'si veya daha fazlasını oluşturduğunda akut sistemik yanıtlara neden olur. Kapiller permeabi-

Geliş Tarihi/Submission Date : 20.05.2022
Kabul Tarihi/Accepted Date : 15.08.2022

* Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen TYL-11042 kodlu "Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Asidik Deri Yanıklarında Ozon Tedavisinin Etkinliğinin Araştırılması" adlı tez çalışmasından özetlenmiştir.

litide artış, sistemik vasküler direncin artması, kalp debisinin zayıflaması ve hipovolemi belirtileri görülebilir (Rowan ve ark., 2015). Kimyasal yanıklar asit ve alkali ajanlara maruz kalınmak suretiyle oluşmaktadır. Kimyasal yanıklarda yanığa sebep olan ajan inaktive olana kadar veya uzaklaştırılıncaya kadar bulunduğu dokuyu tahrip etmeye devam eder (Kodik, 2011; William ve Lee, 2018). Dokulara temas eden kimyasal ajanların, tedavi edilmedikçe temas ettikleri organlarda ciddi hasarlar meydana geleceği belirtilmiştir (Altan ve ark., 2017). Özellikle asidik ajanlar içerisinde endüstri alanında yaygın olarak kullanılan hidroklorik asit (HFA) metal ve cam temizleyici, pas sökücü bileşiklerin içinde yer aldığından deri ile direkt teması ve yanık oluşturma riski oldukça fazladır (Xingang ve ark., 2014; Han ve ark., 2017). Restoratif tedavide kullanımın kolaylığından dolayı HFA dış hekimliğinde de kullanım alanı bulmuştur (Özcan ve ark., 2012). HFA'nın endüstriyel ve evsel alanlarda sıkça kullanılması nedeniyle asit yanıklarının yaygınlaştığı belirtilmiştir (Altan ve Oğurtan, 2017). HFA yanıklarının fizyopatolojisi onu diğer asit yanıklarından ayırmaktadır. Bu durum; ilk olarak süperfisiyal dokularda diğer inorganik asitler gibi koroziv etki yapması ve ileri derecede geçirmen olan florür iyonları sayesinde süratle derin dokulara ulaşması ile açıklanmaktadır. Böylece temas ettiği alanda lifekaksiyon nekrozu, kemikte dekalsifikasyon ve erozyona sebep olduğu bildirilmiştir (Burgher ve ark., 2011; McKee ve ark., 2014). Doku hasarı sonucu şiddetli bir ağrı meydana getiren HFA sistemik yan etkilere de neden olabilmektedir. Bu sistemik yan etkiler; hipokalsemi, hipomagnezemi, hipokalemi ve kardiak arrest olarak belirtilmiştir. Hidroflorik asidin solunmasına bağlı olarak ise solunum sisteminde toksik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Wu ve ark., 2010; Özcan ve ark., 2012; Xingang ve ark., 2014; Williams ve Lee, 2018).

HFA yanıklarında, asit penetrasyonunu engellemek amacıyla bölgenin izotonik solüsyonu ile 15-30 dakika iyice yıkanması yapılan ilk müdahaledir (McKee ve ark., 2014). Bölgenin irrigasyonunun ardından serbest kalan iyonları temizlemek ve yangıyı azaltmak amaçlı Dimetil Sülfoksitin topikal olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (Xingang ve ark., 2014). Serbest kalan flor iyonlarını nötralize etmek, oluşan hasarı sınırlandırmak ve ağrıyı azaltmak amacıyla topikal % 2.5 kalsiyum glukonat kullanımı da önerilmiştir (Robinson ve Chhabra, 2015). Ticari olarak topikal kalsiyum preparatının olmaması durumunda kalsiyum tuzları veya kalsiyum karbonat kullanılabilirliği belirtilmiştir (Hoffmann ve ark., 2021).

Deride oluşan hasarların iyileşme sürecinde; hemopoietik, endotelial, nöral hücreleri ve büyüme faktörleri yer almasına rağmen en önemli görevi keratinositler ve fibroblastlar yara bölgesine göç ederek üstlenirler. Fibroblastlar derinin eski haline gelmesi için fibrozise aracılık edip bağışıklık hücreleri fonksiyonlarını modüle ederler (Rippa ve ark., 2019). İyileşme

sürecinin hemen başladığı evre olan hemostazis evresi oluşan doku hasarından hemen sonra yara bölgesinde trombojenik aktiviteyi sağlayarak iyileşmenin diğer evrelerinin başlatılması için gereken sitokin ve kemokinleri salgılar. Yaralanmanın olduğu ilk saniyelerde başlayan bu evrede nötrofiller yoğun şekilde yara dokusuna katılır. Makrofajlar ve lenfositler yara bölgesindeki bakterileri fagosite etmede görevlidir ve bu durum inflamasyona geçiş olarak kabul edilir (Gantwerker ve Hom, 2012). İnflamasyon evresinde; hemostazis sağlandıktan sonra histamin salınımı başlar ve kapiller vazodilatasyon meydana gelir. Sitokinlerin ve diğer inflamatuvar araçların salınımıyla birlikte yabancı hücrelerin parçalanması söz konusudur. Ekstra sellüler matriks (ESM) tarafından uyarılan makrofajlar, büyüme faktörleri, enzimler otolitik debridmana yardımcı olarak fagositik aktiviteyi başlatır (Abazari ve ark., 2020). Proliferasyon evresinde; yara dudaklarındaki deri kenarında bulunan epitel hücreler çoğalmaya başlayarak bakteri invazyonu ve sıvı kaybına karşı koruyucu bir bariyer oluşturur. Fibroblastlar yara bölgesine göç eder, çoğalır ve keratinositleri stimüle eden keratinosit growth faktör-1 (KGF-1), keratinosit growth faktör-2 (KGF-2) ve interlökin-6 (IL-6)'yı sentezleyerek epitelizasyonun uyarılması gerçekleştirilmiş olur. Epitel proliferasyonu, trombosit ve makrofajların ürettiği epidermal growth faktör (EGF) ve transforming growth faktör- α (TGF- α) tarafından uyarılır. Makrofajların sentezlediği vasküler endotelial growth faktör (VEGF) vazodilatasyonu sağlar (Broughton ve ark., 2006). Maturasyon/Re-modelling evresinde; granülasyon dokusunun azaldığı bu evrede epidermis, iskelet kasının dermal damar sistemi, sinirleri ve miyofiberleri yeniden fonksiyonel bir doku oluşturur. Makrofaj ve fibroblastlar tarafından salınan kollajen metaloproteinazlar, granülasyon dokusunda kollajen tip-3'ü, düşük hücresele yara oluşturacak şekilde kollajen tip-1'e dönüştürür. Bu evre aylarca sürebilir (Cañedo-Dorantes ve Cañedo-Ayala, 2019).

Ozonun (O_3) güçlü antibakteriyel, antiviral, antifungal etkisi, immunomodülatör olması, oksijeni dokulara taşınması ve salınması üzerine olan olumlu etkisi, hızlı ve etkili yara iyileştirici özellikleri sayesinde medikal olarak geniş bir kullanım alanı bulduğu ayrıca ozon tedavisinin kronik yaralarda ve post-travmatik yaralarda etkili olduğu belirtilmiştir (Travagli ve ark., 2010; Degli Agosti ve ark., 2016; Fitzpatrick ve ark., 2018). Ozon intravenöz, intraartiküler, intraplevral, intrarektal ve intradiskal uygulanabildiği gibi topikal olarak da kullanılabilir (Yaşar ve ark., 2011; Sciorsci ve ark., 2020). Ozonun neden olduğu biyolojik cevaplar ise iskemik dokulara kan akımı ve oksijen transferinde artış sağlaması, immün sistemi aktive ederek büyüme faktörlerinin salınması ve özellikle topikal uygulamada dezenfektan etki göstermesi ve nöro-endokrin sistemi stimüle etmesidir (Campanati ve ark., 2013; Pivotto ve ark., 2020).

Yapılan çalışmada ozonun antioksidan, proliferatif ve

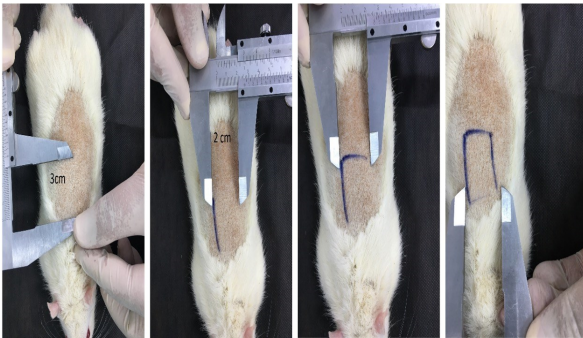
dezenfektan etkisinden yararlanılarak deneysel olarak oluşturulan asidik deri yanıklarında, tedavi amacıyla kullanılabilirliğinin etkili olup olmadığı bunun yanı sıra pratik ve ekonomik yönden kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçların klinik pratiğe ve literatüre katkı sağlaması hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalışma için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alınmış ve etik kurul yönergesine uygun bir şekilde çalışma yapılmıştır (Etik Kurul Tarih-Karar No: 03.02.2021, 21/28). Çalışmada hayvan materyalini Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DEKAM) sağlanan 20 adet, 200-250 gr ağırlığındaki sağlıklı, 8-12 haftalık erkek Wistar-Albino ratlar oluşturmuştur. Çalışmada kullanılan hayvanlar, çalışma süresince Erciyes Üniversitesi Deneysel Hayvanları Laboratuvarında oda ısısı $21 \pm 1^\circ\text{C}$, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık aydınlatma koşullarında ve her kafeste bir rat olacak şekilde barındırılmıştır. Yem ve su alımı ad-libitum olarak verilmiştir. Çalışma gruplarını; steril serum fizyolojik ile hidroterapi uygulanan kontrol grubu (K; n=10) ile ozonlanmış vazelin uygulanan deney grubu (D; n=10) oluşturmuştur.

HFA yanığı oluşturulması

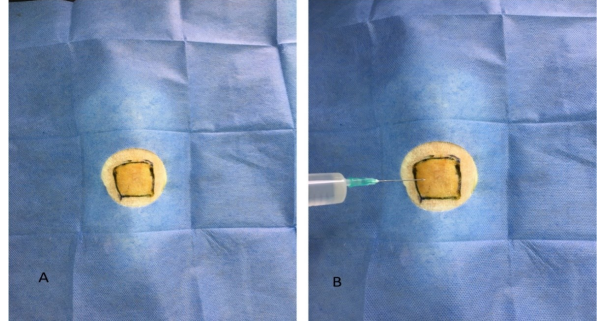
Gruplarda yer alan hayvanlar 5 mg/kg dozunda Ksilazin-HCL (Rompun %2, Bayer, Kiel, Almanya) ve 60 mg/kg dozunda Ketamin-HCL (Keta-Control, Doğa İlaç, İstanbul, Türkiye) aynı enjektör içerisinde intraperitoneal olarak uygulanıp genel anesteziye alındı. Hayvanlar dorsoventral olarak yatırılarak torakolumbal bölgeleri tıraş edildi. Tıraş edilen alanda 3 cm eninde 2 cm boyunda alan kumpas (Vernier Caliper, 0-300x0.5mm/12") yardımı ile ölçülerek çizildi (Şekil 1).



Şekil 1: Torako-lumbal bölgenin tıraşının ardından 3x2 cm alanın belirlenmesi.

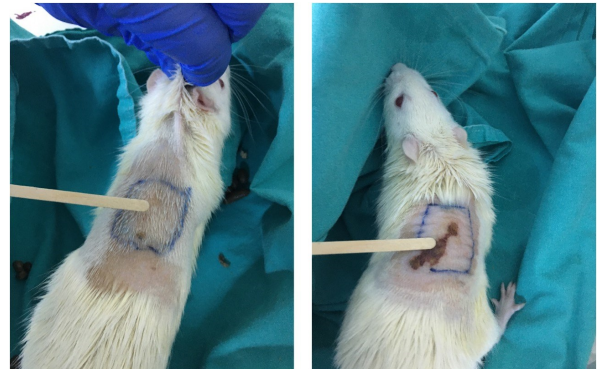
Tıraş edilen sırt bölgesinin asepsi ve antisepsi sağlandıktan sonra steril serviyet örtüsü ile sınırlandırıldı ve 0.1 mL %38'lik HFA damla tarzında hazırlanan

bölgeye uygulanarak ikinci derece yanık elde edildi (Şekil 2). Bu durumu asit uygulanan deri bölgesinde kızarıklık, eritem ve büll oluşumu destekledi.



Şekil 2: A: Tıraş edilen alanın sınırlandırılması, B: HFA uygulaması.

Asit uygulamasının ardından damlatılan asit bölgeye tahta bir spatula yardımı ile sınırları belirlenen alana yayıldı (Şekil 3).



Şekil 3: Ozonlanmış sıvı vazelinin bölgeye topikal olarak uygulanması.

Yayma işleminden sonra 2 dk boyunca yanık oluşması beklendi. 2 dk sonunda HFA uygulanan alan serum fizyolojik ile 3 dk boyunca yıkandı.

Ozon (O₃) uygulaması

Deneysel grupta yer alan hayvanların yara bölgesine dakikada 25 gr ozon üreten Basic Plus marka ozon cihazında (Germany) 10 dk boyunca 18-20 °C'de ozonlanan (20 mg O₃ / ml) saf vazelin 30 dk içinde topikal olarak uygulandı. Bu uygulamaya 7 gün boyunca günde bir uygulama olacak şekilde devam edildi. Eş zamanlı olarak kontrol grubundaki hayvanlara ise 7 gün boyunca günde bir kere steril serum fizyolojik ile yıkama işlemi yapıldı. Tüm gruplardaki hayvanlara enfeksiyona karşı önlem amacıyla ilk üç gün oral olarak 5 mg/kg dozunda doksisisiklin (Peradoks 100 mg/1 ml, Alke, Tokat, Türkiye) ve analjezik olarak 2 mg/kg dozda parasetamol (Calpol 120 mg/5 ml, Glaxosmithkline, İstanbul, Türkiye) oral

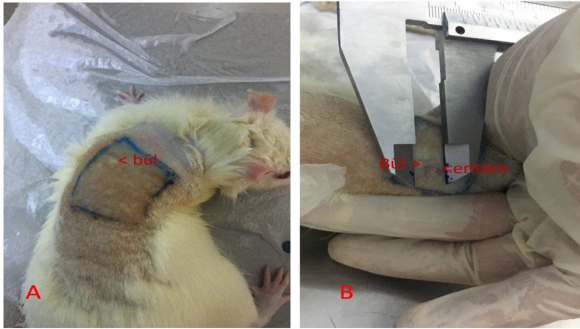
olarak verildi. Çalışma süresince yara boyutları kumpas yardımı ile ölçülerek; bül, eritem, nekroz, oluşan hasar alanı, tüylenme olmak üzere klinik bulgular günlük olarak kaydedildi.

İstatiksel değerlendirme

İstatistik analizler için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows 22.0 programı kullanıldı. Çalışmamızın sonuçları ortanca (Q1-Q3) olarak verilmiş ve 0.05'in altındaki p değerleri, istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edilmiştir. Araştırma verilerinin normallik dağılımı Shapiro-Wilk testi ile yapıldı. Kontrol ve deney gruplarına ait ölçümler arasındaki farkı belirlemek amacıyla non-parametrik testlerden Mann-Whitney U testinden yararlanılmıştır. Deney ve kontrol gruplarına ilişkin tekrarlı ölçümlerin karşılaştırılması için de non-parametrik testlerden Friedman testi kullanılmıştır. Farkın hangi günlere ait ölçüm sonuçlarından kaynaklandığını belirlemek amacıyla Wilcoxon testi yapılmıştır.

Bulgular

Uygulama sonrası birinci günde tüm hayvanlarda torakolumbal bölgede belirlenen 3x2 cm alanda kimyasal yanık yaralarının oluştuğu ve boyutlarının farklılık gösterdiği gözlemlendi. Bazı hayvanlarda sadece eritem gözlenirken bazılarında sarı-beyazımsı bülün oluştuğu görüldü. Bazı hayvanlarda ise belirli bölgede nekroze alan tespit edildi (Şekil 4).



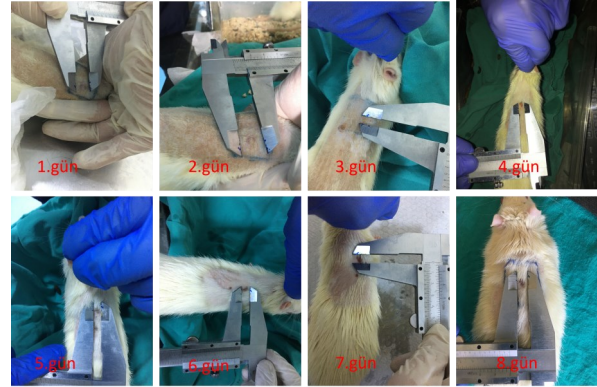
Şekil 4: A: Kontrol grubundaki bir hayvanda (K6) oluşan bül B: 1. gün kontrol grubundaki bir hayvanda (K7) oluşan bül ve eritemli alan ve ölçümü.

Deney grubunda 8 hayvanda sadece sarı-beyazımsı bül oluşumu gözlenirken 1 hayvanda bülün yanı sıra 2.7x2.0 cm alanda nekroze alan tespit edildi. 1 hayvanda ise 2.8x1.8 cm alanda sadece nekroz görüldü. Kontrol grubunda ise 7 hayvanda farklı sayıda ve değişik boyutlarda sarı-beyazımsı bülün gözlenirken 1 hayvanda sadece eritem gözlemlendi. 2 hayvandan bir tanesinde 1.4x1.2 cm nekroze alan oluştuğu, diğerinde ise 0.3x0.3 cm boyutlarında iki farklı nekroze alan oluştuğu gözlemlendi.

Uygulamanın ikinci gününde deney grubunda bülün

boyutunda bir değişim olmadığı ancak renk bakımından sarı-beyazdan kırmızıya döndüğü ve eritemli alanın belirginleştiği gözlemlendi. Kontrol grubunda ise oluşan bülün boyutunda değişiklik olmadığı rengin sarı-beyazımsıdan kırmızıya döndüğü gözlemlendi. Oluşan nekroze alanın siyahlaştığı belirlendi. Ayrıca kontrol grubundaki hayvanların yara bölgesini kaşıdığı görüldü.

Tedavinin 3. gününde deney grubundaki hayvanlarda oluşan bülün yapılan ölçümlerinde 0.1 cm kadar küçüldüğü ölçüldü. Yine deney grubundaki hayvanlardan nekroz oluşan bir hayvanda 0.2 cm kadar küçülme olduğu tespit edildi. Kontrol grubundaki bazı hayvanlarda bülün daha belirgin ve etrafının kırmızımsı bir hal aldığı, bazı hayvanlarda ise sarı-beyazımsı bülün aynı şekilde devam ettiği tespit edildi. Kontrol grubundaki bazı hayvanların yara boyutlarının da büyüdüğü görüldü (Şekil 5).



Şekil 5: Deney grubuna ait bir hayvanda yara boyutunun günlük olarak ölçülmesi.

Tedavinin 4. gününde ozonlanmış sıvı vazelin uygulanan grupta 2 hayvanda bülün nokta tarzında küçüldüğü bölgede ufak kabuklanmaların olduğu ve tüylerde uzama gözlemlendi. 2 hayvanda bülün yerinde nekroz oluştuğu tespit edildi. Oluşan bu nekroze alanın bülüne göre 0.1 cm daha küçük olduğu görüldü. 2 hayvanda ise bülün tamamen kaybolduğu ve bölgede eritem oluştuğu tespit edildi. Daha önce nekroz görülen 2 hayvanda nekroze alanda 0.2 cm küçülme olduğu, 2 hayvanda ise eritemli alan ve bülün varlığının devam ettiği tespit edildi. Kontrol grubunda ise 6 hayvanda yanık oluşturulan alanda bülün açılarak birleştiği ve yara bölgesinin genişlediği saptandı. 3 hayvanda oluşan nekroze alanın önceki güne göre 0.1 cm kadar genişlediği tespit edildi. 1 hayvanda ise var olan eritemli alanın devam ettiği görüldü. Kontrol grubunda kaşıntı devam ederken tüylenme görülmeydi.

Tedavinin 5. gününde deney grubundaki 2 hayvanda bülün nokta şeklinde küçüldüğü ve bölgede ufak çaplı eritem varlığı saptandı. Nekroz oluşan 4 hay-

vanda nekroze alan boyutunda 0.1 cm küçülme olduğu gözlemlendi. 1 hayvanda 0.2x0.1 cm alanda oluşan yaranın iyileştiği bölgede sadece eritem olduğu görüldü. 3 hayvanda eritemli alan boyutunun küçüldüğü saptandı. Kontrol grubundaki hayvanlarda yara boyutlarında değişme olmadığı görüldü. 1 hayvanda eritemli alanın kaybolduğu tespit edildi. Bunların yanı sıra kontrol grubundaki hayvanlarda kaşıntının devam etmesi ve herhangi bir tüylenme belirtileri izlenmedi.

Tedavinin 6. gününde ozonlanmış sıvı vazelin uygulanan grupta tüylerde belirgin uzama görüldü. Üç hayvanda sadece eritem olduğu, üç hayvanda tamamen iyileşme olduğu gözlemlendi. Dört hayvanda nekroze alanda 0.1 ve 0.2 cm küçülmeler tespit edildi. Kontrol grubundaki hayvanlarda ise iki hayvanda tamamen iyileşme gözlenirken, bir hayvanda yara boyutlarında 0.1 cm küçülme, bir hayvanda nokta şeklinde kabuklanmış yara ve tüylerde uzama diğer hayvanların yara boyutlarında değişim ve tüylerde uzama gözlenmedi. Kaşıntının devam ettiği görüldü.

Tedavinin 7. gününde deney grubundaki 10 hayvandan dört tanesinde tamamen iyileşme görüldü, dört hayvanda nekroze alan boyutlarında 0.1'er cm küçülme, iki hayvanda ise sadece eritemin devam ettiği tespit edildi. Kontrol grubundaki 10 hayvanın iki tanesinde tamamen iyileşmenin olduğu, diğer hayvanlarda oluşan yara ve nekroze alan boyutlarında 0.1 cm küçülmenin olduğu tespit edildi. Bazı hayvanların yara boyutlarında ufak çaplı küçülmeler olsa da deney grubuna göre iyileşmenin daha yavaş olduğu, tüylenmede bir değişim olmadığı saptandı.

Uygulama işlemi sonlandırıldıktan sonraki günde (8. günde) yapılan değerlendirmede deney grubunda 10 hayvandan yedi tanesi makroskopik olarak iyileştiği saptandı. İki hayvanda nekroze alan boyutu aynı kalırken bir hayvanda nekroze alanın en ve boyunda 0.2'şer cm küçülme olduğu tespit edildi. Kontrol grubunda ise 10 hayvandan üç tanesinin makroskopik olarak iyileştiği, bir hayvanda nekroze alanda 0.3x0.2 cm küçüldüğü, üç hayvanda yara boyutlarında değişim olmadığı, bir hayvanda 0.1 cm küçülme olduğu, iki hayvanda eritemli alanın devam ettiği gözlemlendi.

Deney ve kontrol gruplarına ait yapılan günlük ölçüm ve değerlendirme sonuçları tablo 1 ve 2 de gösterilmiştir. Deney grubuna ait ortalama bül değerleri günler arasında karşılaştırıldığında; 1., 2. ve 3. günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edildi ($P>0.05$). Benzer şekilde 4., 5., 6., 7. ve 8. günler arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($P>0.05$). Fakat 1., 2., ve 3. günlerdeki bül değerlerine kıyasla 4., 5., 6., 7. ve 8. günlerdeki bül değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($P<0.05$). Deney grubunda ortalama eritem oluşumu istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; 1., 2., 4., 5., 6. ve 7. günler arasında anlamlılık seviyesinde fark ortaya çıkmamıştır ($P>0.05$). Fakat 3. ve 8. gün ile 1., 2. ve 5.günler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ($P<0.05$). Deney grubuna ait nekroz skorlama sonuçları günler arasında karşılaştırıldığında; oluşan nekroz alanlarının ölçümünde günler arası herhangi bir istatistiksel fark tespit edilmemiştir ($P>0.05$). Deney grubuna ait tüylenmenin ise uygulamanın 4. gününden itibaren başladığı ancak istatistiksel olarak anlamlı farkın; 1., 2., 3. ve 4. günleri ile 5., 6., 7. ve 8. günleri arasında olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Aynı zamanda 8. gün ile 5. ve 6. günler arasında da tüylenme skorlanmasında da istatistiksel olarak anlamlı fark ortaya çıkmıştır ($P<0.05$). İyileşme için yapılan istatistiksel değerlendirilmede; 8. gün ile 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. günler arasında anlamlılık seviyesinde fark olduğu belirlendi ($P<0.05$). İlave olarak 7. gün ile 1., 2., 3., 4. ve 5. günler arasında da iyileşme skorlamaları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($P<0.05$). Alan ölçümlerinde ise 1. günden 8. güne doğru küçülme meydana geldiği tespit edildi. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; farkın 1. ve 2. güne ait alan ölçümleri ile 3., 4., 5., 6., 7. ve 8. günler arasında olduğu belirlendi ($P<0.05$). Aynı zamanda 4. ve 5. gün alan ölçümleriyle 3., 6., 7. ve 8. günler arasında da istatistiksel fark tespit edildi ($P<0.05$) (Tablo 1). Kontrol grubuna ait değerlendirmede bülün uygulamanın takip eden günlerde küçülmeye başladığı tespit edildi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı farkın 1., 2. ve 3. gün ile 4., 5., 6., 7. ve 8. günler arasında olduğu belirlendi ($P<0.05$). Günler arası eritem ve iyileşme ölçümlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı farka rastlanmamıştır ($P>0.05$). Kontrol grubuna ait nekroz skorları günler arasında karşılaştırıldığında; 1. gün ile 4., 5., 6., 7. ve 8. günler arasında istatistiksel olarak fark tespit edildi ($P<0.05$). Kontrol grubuna ait tüylenme skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farkın 8. gün ile diğer günler arasında olduğu tespit edildi ($P<0.05$). Kontrol grubuna ait alan ölçümleri günler arasında istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; farkın 1., 4. ve 5. gün ile 7. ve 8. günler arasındaki küçülmeden kaynaklandığı tespit edildi (Tablo 2).

Gruplar arası bül, eritem, nekroz, iyileşme skorları ve alan ölçümlerinin karşılaştırılmasında her ne kadar deney grubunun daha iyi olduğu görülse de istatistiksel olarak herhangi bir farka rastlanılmamıştır ($P>0.05$) (Tablo 3). Fakat 5. günden itibaren deney grubunda tüylenmenin kontrol grubuna göre daha iyi olduğu belirlendi. Deney ve kontrol grubuna ait tüylenme skorları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlılık seviyesinde fark vardı ($P<0.05$) (Tablo 3).

Tablo 1: Deney gruplarına ait bül, eritem, nekroz, tüylenme, iyileşme ve alan açısından günlere göre değerlendirme (n=10)

Klinik Bulgular	Deney (ortanca(Q1-Q3) Günler)								P
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Bül	1.00 (1.00-1.00) ^a	1.00 (1.00-1.00) ^a	1.00 (1.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^b	0.00 (0.00-1.00) ^b	0.00 (0.00-0.00) ^b	0.00 (0.00-0.00) ^b	0.00 (0.00-0.00) ^b	<0.001
Eritem	1.00 (0.00-1.00) ^a	1.00 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-0.00) ^b	0.00 (0.00-1.00) ^{ab}	1.00 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^{ab}	0.00 (0.00-0.25) ^{ab}	0.00 (0.00-1.00) ^b	<0.036
Nekroz	0.00 (0.00-0.25) ^a	0.00 (0.00-0.25) ^a	0.00 (0.00-0.25) ^a	0.50 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^a	<0.139
Tüylenme	0.00 (0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.25) ^{ab}	0.00 (0.00-1.00) ^{bc}	0.50 (0.00-1.00) ^{bc}	1.00 (0.00-1.00) ^{cd}	1.00 (1.00-1.00) ^d	<0.001
İyileşme	0.00 (0.00-0.00) ^{ab}	0.00 (0.00-0.00) ^{ab}	0.00 (0.00-0.00) ^{ab}	0.00 (0.00-0.00) ^{ab}	0.00 (0.00-0.00) ^{ab}	0.00 (0.00-1.00) ^{abc}	0.00 (0.00-1.00) ^{cd}	1.00 (0.00-1.00) ^d	<0.002
Alan	0.28 (0.14-1.53) ^a	0.28 (0.05-2.76) ^{abcd}	0.12 (0.05-1.43) ^b	0.05 (0.00-1.35) ^c	0.04 (0.00-1.05) ^c	0.00 (0.00-0.93) ^d	0.00 (0.00-0.75) ^d	0.00 (0.00-0.58) ^d	<0.005

^{a,b,c}: Aynı satırda yer alan farklı harfler istatistiksel farklılığı ifade etmektedir.

Tablo 2: Kontrol gruplarına ait bül, eritem, nekroz, tüylenme, iyileşme ve alan açısından günlere göre değerlendirme (n=10)

Klinik Bulgular	Kontrol (ortanca(Q1-Q3) Günler)								P
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Bül	1.00(0.75-1.00) ^{ab}	1.00(0.00-1.00) ^{abc}	1.00(0.00-1.00) ^b	0.00 (0.00-1.00) ^{cd}	0.00 (0.00-0.00) ^d	0.00 (0.00-0.00) ^d	0.00 (0.00-0.00) ^d	0.00 (0.00-0.00) ^d	<0.001
Eritem	1.00(0.00-1.00) ^a	1.00(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-0.25) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^a	0.00 (0.00-0.25) ^a	<0.235
Nekroz	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^{abc}	0.00(0.00-0.25) ^{ac}	1.00 (0.00-1.00) ^{bc}	1.00 (0.00-1.00) ^{bc}	1.00 (0.00-1.00) ^{bc}	0.50 (0.00-1.00) ^c	0.50 (0.00-1.00) ^c	<0.002
Tüylenme	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.00) ^{ab}	0.00 (0.00-1.00) ^b	<0.046
İyileşme	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.00) ^a	0.00 (0.00-0.25) ^a	0.00 (0.00-0.25) ^a	0.00 (0.00-1.00) ^a	<0.083
Alan	0.30(0.05-3.65) ^{ab}	0.36(0.09-3.65) ^{abc}	0.30(0.14-3.51) ^{abc}	0.99 (0.11-3.65) ^a	0.62 (0.07-1.82) ^a	0.14 (0.00-1.05) ^b	0.02 (0.00-0.23) ^c	0.02 (0.00-0.14) ^c	<0.036

^{a,b}: Aynı satırda yer alan farklı harfler istatistiksel farklılığı ifade etmektedir.

Tablo 3: Kontrol ve deney gruplarına ait bul, eritem, nekroz, tüylenme, iyileşme ve alan açısından günlere göre değerlendirme

Gün	n=10	Kontrol	Deney	P
1	Bül	1.00(0.75-1.00) ^a	1.00(1.00-1.00) ^a	.542
	Eritem	1.00(0.00-1.00) ^a	1.00(0.00-1.00) ^a	.648
	Nekroz	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.25) ^a	.542
	Tüylenme	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	1.000
	İyileşme	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	1.000
	Alan	0.30(0.05-3.65) ^a	0.28(0.14-1.53) ^a	.820
	2	Bül	1.00(0.00-1.00) ^a	1.00(1.00-1.00) ^a
Eritem		1.00(0.00-1.00) ^a	1.00(0.00-1.00) ^a	.648
Nekroz		0.00(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-0.25) ^a	.615
Tüylenme		0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	1.000
İyileşme		0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	1.000
Alan		0.36(0.09-3.65) ^a	0.28(0.05-2.76) ^a	.568
3		Bül	1.00(0.00-1.00) ^a	1.00(1.00-1.00) ^a
	Eritem	0.00(0.00-0.25) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	.542
	Nekroz	0.00(0.00-0.25) ^a	0.00(0.00-0.25) ^a	1.000
	Tüylenme	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	1.000
	İyileşme	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	1.000
	Alan	0.30(0.14-3.51) ^a	0.12(0.05-1.43) ^a	.254
	4	Bül	0.00(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a
Eritem		0.00(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a	1.000
Nekroz		1.00(0.00-1.00) ^a	0.50(0.00-1.00) ^a	.661
Tüylenme		0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.25) ^a	.146
İyileşme		0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	1.000
Alan		0.99(0.11-3.65) ^a	0.05(0.00-1.35) ^a	.064
5		Bül	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a
	Eritem	0.00(0.00-1.00) ^a	1.00(0.00-1.00) ^a	.189
	Nekroz	1.00(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a	.383
	Tüylenme	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^b	.029 [†]
	İyileşme	0.00(0.00-0.00)	0.00(0.00-0.00) ^a	.317
	Alan	0.62(0.07-1.82) ^a	0.04(0.00-1.05) ^a	.160
	6	Bül	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a
Eritem		0.00(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a	1.000
Nekroz		1.00(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a	.383
Tüylenme		0.00(0.00-0.00) ^a	0.50(0.00-1.00) ^b	.012 [†]
İyileşme		0.00(0.00-0.25) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a	.615
Alan		0.14(0.00-1.05) ^a	0.00(0.00-0.93) ^a	.250
7		Bül	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a
	Eritem	0.00(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-0.25) ^a	.615
	Nekroz	0.50(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a	.661
	Tüylenme	0.00(0.00-0.00) ^a	1.00(0.00-1.00) ^b	.022 [†]
	İyileşme	0.00(0.00-0.25) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a	.342
	Alan	0.02(0.00-0.23) ^a	0.00(0.00-0.75) ^a	.836
	8	Bül	0.00(0.00-0.00) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a
Eritem		0.00(0.00-0.25) ^a	0.00(0.00-0.00) ^a	.146
Nekroz		0.50(0.00-1.00) ^a	0.00(0.00-1.00) ^a	.374
Tüylenme		0.00(0.00-1.00) ^a	1.00(1.00-1.00) ^b	.022 [†]
İyileşme		0.00(0.00-1.00) ^a	1.00(0.00-1.00) ^a	.081
Alan		0.02(0.00-0.14) ^a	0.00(0.00-0.58) ^a	.669

^{a,b} : Aynı satırda yer alan aynı harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir.

Tartışma ve Sonuç

Hidroflorik asit yanıklarının fizyopatolojik olarak diğer asidik yanıklarından farklı olduğu bildirilmiştir. Bu farklılığın hidroflorik asidin süperfişiyal dokularda diğer inorganik asitler gibi koroziv etki yapması ve ileri derecede geçirgen olan florür iyonlarının süratle derin dokulara ulaşmasından kaynaklandığı ile açıklanmıştır (McKee ve ark., 2014). Sunulan çalışmada HFA'nın bu özelliği dikkate alınarak özellikle son yıllarda medikal olarak kullanılan HFA tarafından meydana gelen kimyasal yanıklarda klinik etkinliği araştırılmıştır.

Ozon medikal olarak anaerobik enfeksiyonlar, apseleler, dekübit yaraları, fistüller, diş eti iltihabı gibi birçok hastalıkta tedavi amaçlı kullanılmaktadır (Valacchi ve ark., 2005). İmmun sistem hücrelerinden Hidrojen Peroksit (H_2O_2) salınımını uyarıp immün sistem aktivasyonunu başlatan ozonun çeşitli uygulama şekilleri vardır. Bunlar hidroterapi, ozonlu yağ, ozon otohemoterapisi şeklindedir (Zeng ve Lu, 2018). Ayrıca patojenlerin fosfolipidlerini oksitleyerek viral ve bakteriyel patojenlerin hücre duvarında ciddi hasara yol açmaktadır. Bunun yanı sıra büyüme faktörlerini uyararak doku onarımında faydalı olduğu bildirilmiştir. (Fitzpatrick ve ark., 2018). Sonuç olarak ozon virüs, bakteri, mantar gibi patojenlerin yıkılmasına ve doku onarım sürecinin uyarılması ve immün sistemin aktive olmasını sağlamaktadır (Pivotto ve ark., 2020).

Roblin ve ark. (2006), deneysel olarak yaptıkları çalışmada ratlarda %40'lık HFA ile sağ paralumbal boşlukta oluşturdukları deri yanık alanında %2.5'lük kalsiyum glukonat jelini topikal olarak uygulamışlardır. Sunulan çalışmada yanık oluşumundan hemen sonra kalsiyum glukonat jelin bölgeye penetre olması amacıyla bir dakika boyunca masaj yapmışlar ve yarım saat ara ile dört saatlik zaman diliminde topikal olarak, daha sonra günde bir kere uygulamaya devam etmişlerdir. Tedavide 17 gün sonra başarıya ulaştığını belirtmişler ve yanık yaralarında ilk yardımda kullanılması gerektiğini savunmuşlardır. Sunduğumuz çalışmada ratlarda torakalumbal alanda 2x3 cm'lik alanda %38'lik HFA ile oluşturulan yanık yaralarında; deney grubunda ozon tedavisi, kontrol grubunda ise steril serum fizyolojik ile hidroterapi uygulanmıştır. Her iki grupta da HFA bağlı bül, nekroz, eritem ve büllerin açılarak yara oluşturduğu görülmüştür. Çalışmamızda %38'lik HFA kullanılmasına rağmen Roblin ve ark. (2006) elde etmiş olduğu benzer klinik bulgular görülmüştür. Bu durumun ajan uygulama süresi ve uygulanan alan farkından dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir.

Deney grubunda ozonlanmış sıvı vazelin günlük hazırlanarak, yanık oluşturulan torako-lumbal bölgeye günde bir kere uygulanmıştır. Yedi günlük uygulama sürecinin ardından günlük olarak klinik takip yapılmış ve yedi hayvanda makroskopik iyileşme tespit edil-

miştir. Bu durumun ozonun doku onarım sürecini daha hızlı ve daha etkin olarak tetiklediğini, %2.5 kalsiyum glukonat'a oranla HFA yanıklarının iyileşmesinde daha iyi sonuç verdiğini ve daha kısa sürede iyileştirdiğini göstermektedir. Ayrıca ozonlanmış sıvı vazelinin topikal olarak daha az uygulama ve daha kısa zamanda hızlı sonuç vererek kimyasal deri yanıklarında uygulanabilirliğini kanıtlamıştır. Bu durumu gruplarda günlük olarak takibi ve ölçümü yapılan klinik parametrelerde desteklemektedir. Özellikle deney grubunda 3. günden itibaren büllerde meydana gelen küçülme uygulama sonunda ise yapılan klinik değerlendirmede yedi hayvanın makroskopik olarak iyileşmesi ozonun pozitif etkisini göstermektedir.

Kodik ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, ratlarda deride 6x4 cm alanda %40'lık HFA ile yanık oluşturmuşlar ve epidermal büyüme faktörünü (EBF) subkutanöz uygulamışlardır. Çalışma sonucunda EBF'nin HFA ile oluşan deri yanığında ilk müdahalede kullanılması gerektiğini ancak dezavantaj olarak pahalı olması ve temininde güçlük çekileceğini belirtmişlerdir. EBF bulunmadığında magnezyum sülfat ve kalsiyum glukonat önermişlerdir. Yapılan çalışmada %38'lik HFA ile 3x2 cm alanda kimyasal yanık oluşturulmuştur. Topikal ozon uygulaması ise yanık oluşumunu takiben bir gün sonra uygulanmaya başlanmış ve kontrol grubuna oranla daha iyi makroskopik iyileşme elde edilmiştir. Bu sonuç Kodik ve ark. (2011) önerilerine ek olarak ozonunda kimyasal yanıklarda acil olarak kullanılabileceğini, ayrıca ozon cihazının günümüz şartlarında birçok klinik ve sağlık kuruluşunda bulunmasından dolayı ozonun temininin kolay olması tedavi maliyetinin düşük olacağını göstermektedir.

Çalışmamızda kontrol grubundaki hayvanlarda tüylerin uzamamasına karşın deney grubundaki hayvanlarda tüylerin 4. günden itibaren uzamaya başladığının görülmesi ozonun büyüme faktörlerini de uyardığının kanıtı olduğu düşünülmektedir. Sunulan çalışmada ozonun iyileşmeyi hızlandırması, temininin kolay olması ve ucuz olması nedeniyle klinik pratikte daha kolay kullanılabilmesi önerilmektedir.

Mohammed Al-Dalain ve ark. (2001) deneysel olarak diyabetik ayak görülen hastalarda yaptıkları çalışmada ozon tedavisinin etkinliğini değerlendirmişlerdir. Ozon uygulanan hastalarda yara iyileşmesinin daha hızlı, glisemi düzeylerinin daha kontrol edilebilir ve antioksidan enzim düzeylerinin de arttığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda deney grubundaki hayvanlarda iyileşmenin kontrol grubuna göre daha kısa sürede olduğu ve tüylerin uzadığı görüldü. Bu durum ozonun antioksidan özellik göstermesi ve doku onarım sürecini hızlandırması ile paralellik göstermektedir.

Yamanel ve ark. (2011) sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan sepsiste, hiperbarik oksijen tedavisi ile medikal ozon tedavisinin akciğer yaralanmaları üzerine etkisini değerlendirmiştir. Antibiyoterapiye adjuvan

tedavi olarak uygulanan hiperbarik oksijen tedavisi ve medikal ozon tedavisinin yalnızca antibiyoterapi alan gruba göre iyileştirici etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Sunduğumuz çalışmada makroskobik olarak kontrol ve deney gruplarında yara bölgesinde enfeksiyon ve ödem saptanmamıştır. Bu durumun ozonun virüs, bakteri, mantar gibi patojenlerin yıkımlayıcı etkisi ile paralellik göstermektedir. Bunun yanı sıra çalışmamızda tedavinin ilk üç gününde kullanılan oral antibiyotik bu duruma katkısının olabileceği düşünülmektedir. Fakat kontrol grubundaki hayvanlarda yanık oluşturulan bölgede kaşıntı görülmesi nedeniyle yara iyileşmesinin ve tüylenmenin gecikebileceği göz ardı edilmemelidir.

Yapılan çalışmada deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında istatistiksel olarak; bül, eritem ve nekroz açısından oluşan hasar alanında anlamlı farklılık tespit edilmemiş olsa da, kontrol ve deney grupları rakamsal olarak karşılaştırıldığında deney grubundaki hayvanların iyileşme hızı ve tüylenmenin yani doku onarımının kontrol grubuna göre daha hızlı olduğu görülmüştür. Çalışmamızda yedi günlük tedavi süresi boyunca kontrol grubundaki hayvanlarda, yara bölgesinde kaşıntı ve yara boyutunda büyümeler olduğu gözlenmiştir. Buna karşın ozon grubunda kaşıntı olmaması, yaranın iyileşmesi ve yara bölgesindeki tüylerde uzama olduğu görülmüştür. Bu bilgiler ışığında ozonun kaşıntıyı önlediği böylece hayvanların yara bölgesine yapabilecekleri bireysel travma riskini azalttığı ve antioksidan etkisinden dolayı iyileşmeyi hızlandırdığı düşünülmektedir. Sunulan çalışmada ozon uygulaması ozonlu yağ (Zeng ve Lu, 2018) şeklinde sıvı vazelinin ozonlanması ve kimyasal yanık oluşturulan alana jel tarzında uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde bu uygulama metodunun kullanılabilirliği görülmüş olup literatür veriler ile paralellik göstermesinin yanı sıra medikal ozonun asidik deri yanıklarının iyileşmesi üzerine pozitif etkisinin olduğu görülmüş ve konuyla ilgili daha fazla araştırma yapılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TYL-11042 kodlu "Ratlarda Deneysel Olarak Oluşturulan Asidik Deri Yanıklarında Ozon Tedavisinin Etkinliğinin Araştırılması" proje adı ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

Abazari M, Ghaffari A, Rashidzadeh H, Badeleh SM, Maleki Y. A Systematic review on classification, identification and healing process of burn wound healing. *Int J Low Extrem Wounds* 2020; 21(1): 18-30.

Altan S, Oğurtan Z. Dimethyl sulfoxide but not indomethacin is efficient for healing in hydrofluoric acid eye burns. *Burns* 2017; 43(1): 232-44.

Altan S, Sağsöz H, Oğurtan Z. Topical dimethyl sulfoxide inhibits corneal neovascularization and stimulates corneal repair in rabbits following acid burn. *Biotec Histochem* 2017; 92(8): 619-36.

Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2006; 117(7): 12-34.

Burgher F, Mathieu L, Lati E, Gasser P, Peno-Mazzarino L, Blornet J, Hall AH, Maibach HI. Experimental 70% hydrofluoric acid burns: histological observations in an established human skin explants ex vivo model. *Cutan Ocul Toxicol* 2011; 30(2): 100-7.

Campanati A, De Blasio S, Giuliano A, Ganzetti G, Giuliadori K, Pecora T, Consales V, Minnetti I, Offidani A. Topical ozonated oil versus hyaluronic gel for the treatment of partial to full thickness second degree burns: A prospective, comparative, single-blind, non-randomised, controlled clinical trial. *Burns* 2013; 39(6): 1178-83.

Canedo-Dorantes L, Canedo-Ayala M. Skin acute wound healing: A comprehensive review. *Int J Inflam* 2019; 19(1): 1-15.

Degli Agosti I, Ginelli E, Mazzacane B, Peroni G, Bianco S, Guerriero F, Ricevuti G, Perna S, Rondanelli M. Effectiveness of a short-term treatment of oxygen-ozone therapy into healing in a posttraumatic wound. *Case Rep Med* 2016; 16(1): 1-6.

Fitzpatrick E, Holland OJ, Vanderlelie JJ. Ozone therapy for the treatment of chronic wounds: A systematic review. *Int Wound J* 2018; 15(4): 633-44.

Gantwerker EA, Hom DB. Skin: Histology and physiology of wound healing. *Clin Plast Surg* 2012; 39(1): 85-97.

Han HH, Kwon BY, Jung SN, Moon SH. Importance of initial management and surgical treatment after hydrofluoric acid burn of the finger. *Burns* 2017; 43(1): 1-6.

Hoffmann S, Parikh P, Bohnenberger K. Dermal hydrofluoric acid toxicity case review: Looks can be deceiving. *J Emerg Nurs* 2021; 47(1): 28-32.

Kodik MS. Deneysel hidroflorik asit deri yanıklarında acil uygulanan tedavi metodlarının iyileşme üzerine etkilerinin karşılaştırılması, Uzmanlık tezi, Ege Üniv. Tıp Fak. Acil Tıp ABD, İzmir 2011; ss.1-72.

McKee D, Thoma A, Bailey K, Fish J. A review of hydrofluoric acid burn management. *Can J Plast*

- Surg 2014; 22(2): 95-8.
- Mohammed Al-Dalain S, Martinez G, Candelario-Jalil E, Menendez S, Re L, Giuliani A, Sonia Leon O. Ozone treatment reduces markers of oxidative and endothelial damage in an experimental diabetes model in rats. *Pharmacol Res* 2001; 44(5): 391-6.
- Özcan M, Allahbeickaraghi A, DüNDAR M. Possible hazardous effects of hydrofluoric acid and recommendations for treatment approach: A review. *Clin Oral Investig* 2012; 16(1): 15-23.
- Pivotto AP, Banhuk FW, Staffen IV, Daga MA, Ayala TS, Menolli RA. Clinical uses and molecular aspects of ozone therapy: A review. *Online J Biol Sci* 2020; 20(1): 37-49.
- Rippa AL, Kalabusheva EP, Vorotelyak EA. Regeneration of dermis: Scarring and cells involved. *Cells* 2019; 8(6): 607.
- Robinson EP, Chhabra AB. Hand chemical burns. *J Hand Surg* 2015; 40(3): 605-12.
- Roblin I, Urban M, Flicoteau D, Martin C, Pradeu D. Topical treatment of experimental hydrofluoric acid skin burns by 2.5% calcium gluconate. *J Burn Care Res* 2006; 27(6): 889-94.
- Roosterman D, Goerge T, Schneider SW, Bunnett NW, Steinhoff M. Neuronal control of skin function: The skin as a neuroimmunoendocrine organ. *Physiol Rev* 2006; 86(4): 1309-79.
- Rowan MP, Cancio LC, Elster EA, Burmeister DM, Rose LF, Natesan S, Chan RK, Christy RJ, Chung KK. Burn wound healing and treatment: Review and advancements. *Crit Care* 2015; 19(1): 1-12.
- Sciorsci RL, Lillo E, Occhiogrosso L, Rizzo A. Ozone therapy in veterinary medicine: A review. *Res Vet Sci* 2020; 130(1): 240-6.
- Travagli V, Zanardi I, Valacchi G, Bocci V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: A review. *Mediators Inflamm* 2010; 10(1): 1-10.
- Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol Suppl* 2005; 153(6): 1096-100.
- Williams FN, Lee JO. Chemical burns. In: *Total Burn Care*. New York: Elsevier Inc, 2018; pp. 408-13.
- Wu ML, Deng JF, Fan JS. Survival after hypocalcemia, hypomagnesemia, hypokalemia and cardiac arrest following mild hydrofluoric acid burn. *Clin Toxicol* 2010; 48(9): 953-5.
- Xingang W, Yuanhai Z, Liangfang N, Chuangang Y, Chunjiang Y, Ruiming J, Liping L, Jia L, Chunmao H. A review of treatment strategies for hydrofluoric acid burns: Current status and future prospects. *Burns* 2014; 40(8): 1447-57.
- Yamanel L, Kaldırım U, Oztas Y, Coskun O, Poyrazoglu Y, Durusu M, Cayci T, Ozturk A, Demirbas S, Yasar M, Cinar O, Tuncer SK, Eyi YE, Uysal B, Topal T, Oter S, Korkmaz A. Ozone therapy and hyperbaric oxygen treatment in lung injury in septic rats. *Int J Med Sci* 2011; 8(1): 48-55.
- Yaşar Z. Deneysel haşlanma yanık modelinde hiperbarik oksijen tedavisi ve medikal ozon tedavisinin yara iyileşmesinde etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık tezi, Dicle Üniv Tıp Fak, Diyarbakır 2011; s.1-112.
- Zeng J, Lu J. Mechanisms of action involved in ozone therapy in skin diseases. *Int Immunopharmacol* 2018; 56(1): 235-41.



Sağlıklı ve İshalli Buzağlarda İndirekt Osilometrik Yöntemle Ölçülen Kan Basıncı Değerlerinin Karşılaştırılması

Ömer DENİZ^{1,a}, Gencay EKİNCİ^{2,b}, Mehmet ÇİTİL^{2,c}

¹Türkiye Jokey Kulübü İzmit Merkez Aşım İstasyonu, Kocaeli-TÜRKİYE

²Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri-türkiye
ORCID: ^a0000-0002-2981-2032; ^b0000-0002-4551-8749; ^c0000-0001-9839-7533

Sorumlu yazar: Ömer DENİZ; E-posta: vetomerdeniz@gmail.com

Atf yapmak için: Deniz Ö, Ekinci G, Çitil M. Sağlıklı ve ishallerli buzağlarda indirekt osilometrik yöntemle ölçülen kan basıncı değerlerinin karşılaştırılması. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):220-225

Öz: Kan basıncı, kardiyovasküler sistem fonksiyonunun değerlendirilmesi için ölçülmesi gereken önemli bir parametredir. Çiftlik hayvanı hekimliğinde kan basıncının ölçülmesi rutinde yaygın olarak kullanılmamaktadır. Oysaki ishal nedeniyle oluşan; periferik dolaşım bozukluğu, hipovolemi ve kollaps buzağlarının kan basıncı değerlerinde anormalliklere sebep olabilir. Ayrıca, kan basıncı değerleri ishal ve çeşitli enfeksiyonlara bağlı olarak gelişen sepsis, SIRS ve septik şok gibi buzağlarda genel durum bozukluğuyla seyreden durumların teşhis ve prognoz tahmin edilmesinde yardımcı bir faktör olabilir. Bu çalışmada; indirekt osilometrik yöntem ile sağlıklı ve ishallerli buzağlardan elde edilen kan basıncı [sistolik kan basıncı (SKB), diyastolik kan basıncı (DKB) ve ortalama arter basıncı (OAB)] değerlerinin karşılaştırılması amaçlandı. Bu amaçla, 20 sağlıklı ve 20 ishallerli olmak üzere toplam 40 adet buzağının kan basıncı değerleri non-invaziv osilometrik kan basıncı cihazı ile 3 farklı bölgeden (sağ ön ekstremitte, sol ön ekstremitte ve kuyruk kökü) ölçüldü. İshallerli buzağlardan sağ ön ekstremitte, sol ön ekstremitte ve kuyruk kökünden kan basıncı ölçümleri elde edildi [Sağ ön ekstremitte; SKB (mmHg) (87.07±27.32), DKB (mmHg) (100.33±26.55), OAB (mmHg) (95.07±21.02), Sol ön ekstremitte; SKB (mmHg) (82.80±22.50), DKB (mmHg) (94.47±20.62), OAB (mmHg) (90.27±19.69), kuyruk; SKB (mmHg) (56.73±12.38), DKB (mmHg) (75.60±12.21), OAB (mmHg) (91.20±22.73)] değerleri elde edildi. Sonuç olarak, osilometrik kan basıncı ölçme işlemi klinik pratikte hızlı ve kullanışlı bir tekniktir. İshallerli buzağlarının sağ ön ekstremitelerinden ölçülen SKB (87.07±27.32 mmHg) ve OAB (95.07±21.02 mmHg) değerleri, sağlıklı buzağlardan (SKB; 158.80±13.12 mmHg, OAB; 123.67±21.70 mmHg) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (P<0.001). Bu çalışmadan elde edilen bulgular ishale bağlı olarak gelişen düşük arteriyel kan basıncı gibi hayati tehdit eden durumlarda kan basıncını artırmaya yönelik terapötik ajanların tedavi stratejileri arasında yer alması gerektiğinin önemini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Buzağı, ishal, kan basıncı, osilometri

Comparison of Blood Pressure Values Measured by Indirect Oscillometric Method in Healthy and Diarrheic Calves

Abstract: Blood pressure (BP) is an important parameter to be measured for the evaluation of cardiovascular system function. Measuring BP in farm animals does not require routine use of medicine. However, due to diarrhea peripheral circulatory disorders, hypovolemia and collapse may cause abnormalities in BP values of calves. In addition, BP values can be a helpful factor in diagnosing and predicting prognosis of conditions with poor general condition in calves, such as sepsis due to diarrhea and various infections, SIRS and septic shock. In this study; It was aimed to compare the BP [systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP) and mean arterial pressure (MAP)] values obtained from healthy calves with and diarrheic calves by indirect oscillometric method. For this purpose, a total of 40 calves, 20 diarrheic calves with diarrhea and 20 calves with healthy. BP were measured from 3 different regions: right forelimb [SBP (mmHg) (87.07±27.32), DBP (mmHg) (100.33±26.55), MAP (mmHg) (95.07±21.02)], left forelimb [SBP (mmHg) (82.80±22.50), DBP (mmHg) (94.47±20.62), MAP (mmHg) (90.27±19.69)] and tail [SBP (mmHg) (56.73±12.38), DBP (mmHg) (75.60±12.21), MAP (mmHg) (91.20±22.73)]. In conclusion, indirect oscillometric BP measurement is a fast and useful technique in clinical practice. SBP (87.07±27.32 mmHg) and MAP (95.07±21.02 mmHg) values measured from the right forelimb of calves with diarrhea were statistically significantly lower than healthy calves (SBP; 158.80±13.12 mmHg, MAP; 123.67±21.70 mmHg) (P<0.001). The findings of this study show the importance of including the therapeutic agents to increase BP should be among the treatment strategies in life-threatening conditions such as low arterial BP due to diarrhea.

Keywords: Blood pressure, calf, diarrhea, oscillometer

Giriş

Kan basıncı (KB); kalp atım hızı, kardiyak output ve sistemik vasküler direnç tarafından düzenlenen fizyolojik bir durumdur (Yamakoshi ve ark., 1988; Durham, 2019). Çeşitli fiziksel ve patolojik durumlardan etkilendiği için, kardiyovasküler sistem fonksiyonunun değerlendirilmesi amacıyla kedi, köpek, at ve sığırlarda kullanılan önemli bir dinamik parametredir (Wagner ve Brodbelt, 1997; Brown ve ark., 2007; Elena ve ark., 2008; Aarnes ve ark., 2014; Guneş ve ark., 2022).

Arteriyel KB ölçümleri invaziv ve non-invaziv yöntemlerle yapılabilir. En güvenilir yöntem, doğrudan veya invaziv yöntemdir (Offinger ve ark., 2011; Yasuoka ve ark., 2020). Bu yöntem, KB ölçümünün altın standardı olarak kabul edilir. Ancak, tekniğin zorluğu, anestezi veya sedasyon gerektirmesi gibi dezavantajlara sahip olması nedeniyle çiftlik hekimliğinde pratikte çok fazla kullanılmamaktadır (Branson ve ark., 1997; Elena ve ark., 2008; Aarnes ve ark., 2014; Yasuoka ve ark., 2020). Bu gerekçelerle invaziv olmayan yöntemler klinik pratik uygulamalarda daha yaygın kullanım alanı bulmuştur (Grandy ve ark., 1992; Binns ve ark., 1995; Brown ve ark., 2007; Elena ve ark., 2008; Aarnes ve ark., 2014). Doppler sfigmomanometre, osilometrik sistem ve fotopleitismografi en çok kullanılan invaziv olmayan yöntemlerdendir (Bins ve ark., 1995; Elena ve ark., 2008; Aarnes ve ark., 2014; Agudelo ve ark., 2016). Osilometrik KB monitörleri, arter duvarının hareketi ile kaf içine iletilen basınç titreşimlerini (hareketlerini) tespit eder. Osilometrik sistemler sistolik kan basıncı (SKB) ve diyastolik kan basıncını (DKB) ölçer ve bu değerlerden ortalama arter basıncı (OAB) hesaplanmaktadır (Elena ve ark., 2008; Durham, 2019). Hayvanlarda manşet yerleşmeye uygun birkaç yer vardır. Bu amaçla ön ekstremitte, kuyruk kökü ve arka ekstremitte kullanılabilir. Ölçüm yerlerine bağlı olarak KB değerlerinde birtakım farklılıklar olabilir (Carr, 1994; Elena ve ark., 2008; Agudelo ve ark., 2016).

Neonatal buzağı ishali (NBİ), 1 aylıktan küçük buzağılarda önemli bir hastalık ve ölüm nedenidir (McClure, 2001; Berber ve ark., 2021; Ekinci ve ark., 2022; Keleş ve ark., 2022). NBİ, neden olan patojenler veya patofizyolojik mekanizmalardan bağımsız olarak, dehidrasyon, elektrolit kaybı, metabolik asidozis, hiperkalemi, kardiyovasküler ve renal fonksiyonların bozulmasına sebep olarak ölüme yol açabilir (Kasari, 1999; Foster ve Smith, 2009; Butler, 2011). Ayrıca, NBİ'den kaynaklanan dehidratasyon, metabolik asidoz, hipovolemik şok, sepsis, elektrolit anormallikleri (genellikle azalmış sodyum ve artan veya azalan potasyum), artan D-laktat konsantrasyonları ve negatif enerji balansı gibi bazı fizyolojik ve metabolik bozukluklar KB'da anormalliklere sebep olabilir (Naseri ve ark., 2019; Naseri ve İder, 2021).

Bu çalışmada; indirekt osilometrik yöntem ile sağlıklı ve ishali buzağılardan elde edilen KB (SKB, DKB ve OAB) değerlerinin karşılaştırılması amaçlandı. Sağ ön ekstremitte, sol ön ekstremitte ve kuyruk kökünden elde edilen indirekt osilometrik KB ölçümlerinin karşılaştırılması da çalışmanın bir diğer amacıdır.

Gereç ve Yöntem

Etik Onay

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Onay No: 22/218) alınan onay sonrasında gerçekleştirilmiştir.

Hayvan materyali

Araştırma Şato Yemek Hizmetleri Süt Sığır İşletmesinde toplam 40 adet neonatal buzağı (0-28 gün) üzerinde yapıldı. Kontrol grubunda yer alan buzağılar yapılan fiziksel muayene sonucunda herhangi bir hastalık belirtisi göstermeyen buzağılar arasından rastgele örnekleme ile seçildi.

Kontrol grubuna dahil edilen sağlıklı buzağılardan (n=20) yaşları, ortanca 15 (0-28) gün ve canlı ağırlıkları ortalama 40.4±4.4 arasında değişmekteydi. Sağlıklı buzağılardan %50'si (10/20) dişi ve %50'si (10/20) erkekti.

Çalışma grubuna dahil edilen ishali buzağılar anamnez ve fiziksel muayene bulgularına göre klinik ishal belirtileri gösteren buzağılardan seçildi. Bir buzağıdan alınan dışkı sulu veya yumuşak kıvamda, anormal sıklıkta ve/veya kötü kokulu ise ishal vakası olarak değerlendirildi. Çalışma grubunda yer alan ishali buzağılardan (n=20) yaşları ortanca 12 gün (0-28) ve canlı ağırlıkları ortalama 38.2±6.2 arasında değişmekteydi. İshali buzağılardan %55'i (11/20) dişi ve %45'i (9/20) erkekti.

İshale sebep olan enteropatojenlerin belirlenmesi

İshali buzağılardan rektal stimülasyon ile steril dışkı kaplarına örnekler alındı. Bu dışkı örneklerinden, neonatal ishali buzağılarda yaygın olarak görülen majör enteropatojenleri (*E. coli* K99+, BRV, BCoV, *Cryptosporidium* spp., ve *Giardia* spp.) belirlemek için immünokromatografik tanı kitleri (Anigen Rapid BovID-5 Ag Test Kit, Bionote, Inc. Korea) kullanıldı. Analizler sırasında test kitinin kullanım kılavuzundaki talimatlar takip edilerek sonuçlar kalitatif (pozitif veya negatif) olarak değerlendirildi. Çalışmaya dahil edilen ishali buzağılardan hızlı tanı test kitleri ile yapılan analiz sonucunda %40'ında (8/20) sığır coronavirus (BCoV), %20'sinde (4/20) sığır rotavirus (BRV), %20'sinde (4/20) ETEC K99+, %10'unda (2/20) *Cryptosporidium* spp. ve %10'unda (2/20) *Cryptosporidium* spp. + BRV tespit edildi.

Kan basıncı ölçümü

Buzağılarda KB ölçümleri sırasında oluşabilecek stresi en aza indirmek ve buzağuların yabancı personele alışmasını sağlamak için 5-10 dakika süreyle barınak içerisinde beklenildi. KB ölçümü sırasında ortamda hayvan sahibi, yardımcı personel ve veteriner hekim vardı.

En uygun manşetin seçilmesi için buzağuların kuyruk kökü bölgesi, sağ ve sol ön ekstremitte çevresi esnek mezura yardımı ile ölçüldü. Buzağular için en uygun manşeti seçmek için sağ ön ekstremitte, sol ön ekstremitte ve kuyruk kökü çapının yaklaşık %30'u standart olarak kullanılmıştır. Ekstremitte ve kuyruk çaplarına göre 4.05-4.55 cm (pembe) ve 4.55-5.55 cm (gri) boyutlarındaki manşetlerden uygun olan kullandı. Buzağuların kan basıncı (SKB, DKB ve MAP) değerleri taşınabilir non-invaziv kan basıncı ölçüm cihazı (Pettrust, BioCARE Corporation/Taiwan) kullanılarak ölçüldü. Sağ ön ekstremitte ve sol ön ekstremitte proksimalinden kan basıncının ölçülmesinde manşetin mesane kısmı antebrachiumun ortasındaki arteria radialis üzerine ne çok sıkı ne de çok gevşek olacak şekilde yerleştirildi. Kuyruk kökü bölgesinden kan basıncının ölçülmesinde manşet, medyan hatta arteria coccygea medialis üzerinden kuyruk köküne mümkün olduğunca en yakın yere yerleştirildi. Cihaz çalıştırıldığında, manşet otomatik olarak şişirildi. Cihaz SKB, DKB, MAP değerlerini osilometrik ölçüm yöntemini kullanarak ölçtüktan sonra veriler kaydedildi. Tüm ölçümler deneyimli bir veteriner hekim tarafından yapıldı. Potansiyel hatayı önlemek için, ölçüm yerleri (sağ ön ekstremitte, sol ön ekstremitte ve kuyruk kökü) rastgele seçildi. İlk ölçülen KB değerleri ihmal edildi. Daha sonra ardışık okumalar arasında 15 saniye beklemek şartıyla toplam 3 adet ölçüm yapıldı. Bu üç okumanın aritmetik ortalaması alınarak kaydedildi.

İstatistik analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi, histogram ve Q-Q grafikleri ile değerlendirildi.

Tablo 1. Sağlıklı ve ishali buzağuların sağ ön ekstremitte, sol ön ekstremitte ve kuyruk kökünden ölçülen kan basıncı değerlerinin karşılaştırılması

Parametreler	Sağlıklı Buzağı (n=20)	İshali Buzağı (n=20)	P değeri
Sağ-SKB (mmHg)	158.80±13.12	87.07±27.32	<0.001***
Sağ-DKB (mmHg)	111.86±18.76	100.33±26.55	0.180
Sağ-OAB (mmHg)	123.67±21.70	95.07±21.02	0.001**
Sol-SKB (mmHg)	154.00±15.78	82.80±22.50	<0.001***
Sol-DKB (mmHg)	114.00±19.81	94.47±20.62	0.013*
Sol-OAB (mmHg)	127.80±16.30	90.27±19.69	<0.001***
K-SKB (mmHg)	111.40±18.31	56.73±12.38	<0.001***
K-DKB (mmHg)	51.13±9.86	75.60±12.21	<0.001***
K-OAB (mmHg)	70.67±9.28	91.20±22.73	0.004**

SKB; sistolik kan basıncı, DKB; diastolik kan basıncı, OAB; ortalama arter basıncı, K; kuyruk *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

Veriler ortanca (1. ve 3. çeyrek), ortanca (min ve max) ve ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. Gruplar arasında KB değişkenlerinin karşılaştırılmasında; normal dağılım gösteren değişkenler için bağımsız iki örneklem t testi, normal dağılım göstermeyen değişkenler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. P<0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analiz IBM SPSS Statistics 21.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Araştırmaya dahil edilen ishali buzağuların ortalama vücut sıcaklığı (39.10±0.74°C) ve solunum sayısı (42±4/dk) sağlıklı buzağulardan (sırasıyla; 38.30±0.85°C, 32±4.0/dk) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0.05). Kalp atım sayısı (92±12 atım/dk) ise sağlıklı buzağulardan (105±10 atım/dk,) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (P<0.05).

İshali buzağuların sağ ön ekstremitelerinden ölçülen ortalama SKB (mmHg) ve OAB (mmHg) değeri sağlıklı buzağulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (sırasıyla, P<0.001, P=0.001). Sağ ön ekstremiteden ölçülen DKB (mmHg) değişkeni açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görülmedi (Tablo 1).

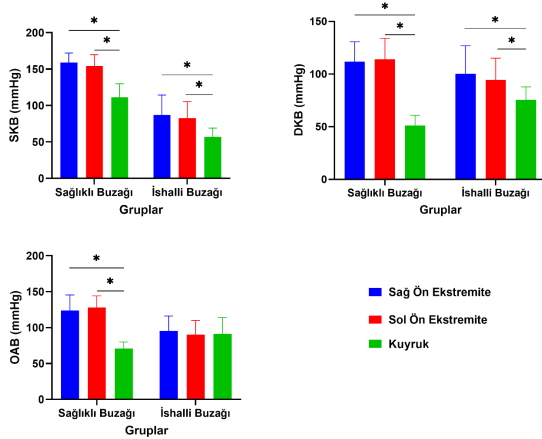
İshali buzağuların sol ön ekstremitelerinden ölçülen ortalama SKB (mmHg), DKB (mmHg) ve OAB (mmHg) değerleri sağlıklı buzağulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (sırasıyla, P<0.001, P=0.013, P<0.001) (Tablo 1).

İshali buzağuların kuyruk kökünden ölçülen SKB (mmHg) değeri sağlıklı buzağulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (P<0.001). İshali buzağuların kuyruk kökünden ölçülen ortalama DKB (mmHg) ve OAB (mmHg) değerleri ise sağlıklı buzağulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0.01) (Tablo 1).

Sağlıklı buzağuların sağ ve sol ön ekstremitelerinden ölçülen ortalama SKB (mmHg) değerleri, kuyruk kökünden ölçülen SKB (mmHg) değerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($P<0.001$). Benzer şekilde, ishallerli buzağuların sağ ve sol ön ekstremitelerinden ölçülen SKB (mmHg) değerleri de kuyruk kökünden ölçülen SKB (mmHg) değerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($P<0.001$) (Şekil 1).

Sağlıklı buzağuların sağ ve sol ön ekstremiteden ölçülen DKB (mmHg) değerleri, kuyruk kökünden ölçülen DKB (mmHg) değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($P<0.001$). Benzer şekilde, ishallerli buzağuların sağ ve sol ön ekstremitelerinden ölçülen ortalama DKB (mmHg) değerleri de, kuyruk kökünden ölçülen DKB (mmHg) değerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Sırasıyla; $P=0.006$, $P=0.042$) (Şekil 1).

Sağlıklı buzağuların sağ ve sol ön ekstremiteden ölçülen ortalama OAB (mmHg) değerleri, kuyruk kökünden ölçülen OAB (mmHg) değerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($P<0.001$). İshallerli buzağılarda ise OAB (mmHg) değişkeni açısından kuyruk kökü, sağ ve sol ön ekstremitelerde ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görülmedi (Şekil 1).



Şekil 1. Sağlıklı ve ishallerli buzağuların sağ ön ekstremitede, sol ön ekstremitede ve kuyruk kökünden ölçülen ortalama SKB (mmHg), DKB (mmHg) ve OAB (mmHg) değerlerinin karşılaştırılması, * $P<0.05$, SKB; sistolik kan basıncı, DKB; diyastolik kan basıncı, OAB; ortalama arter basıncı.

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, sağlıklı ve ishallerli buzağuların SKB (mmHg), DKB (mmHg) ve OAB (mmHg) değerleri

indirekt osilometrik kan basıncı ölçüm cihazı ile 3 farklı bölgeden (sağ ön ekstremitede, sol ön ekstremitede, kuyruk kökü) uygulama açısından herhangi bir problemle karşılaşılmadan ölçüldü. Sonuçlarımız ishallerli buzağılarda ön ekstremitelerden ölçülen SKB (mmHg) ve OAB (mmHg) değerlerinin sağlıklı buzağılardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğunu gösterdi ($P<0.05$). Ayrıca sağlıklı buzağılarda kuyruk kökünden ölçülen kan basıncı değerleri sağ ve sol ön ekstremitede proksimalinden elde edilen ölçümlerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ($P<0.05$). Benzer şekilde, ishallerli buzağılarda kuyruk kökünden ölçülen SKB (mmHg) değerleri de sağ ve sol ön ekstremitede proksimalinden elde edilen ölçümlerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ($P<0.05$). İshallerli buzağuların kuyruk kökünden ölçülen OAB (mmHg) değeri ise, sol ön ekstremitenin proksimalinden ölçülen OAB (mmHg) değerinden yüksek bulundu ($P<0.05$).

Mevcut çalışmada sağlıklı buzağuların kuyruk kökünden elde edilen kan basıncı ölçümleri (SKB; 111.40 ± 18.31 mmHg, DKB; 51.13 ± 9.86 mmHg ve OAB; 70.67 ± 9.28 mmHg), Bräsläşu ve ark., (2007) tarafından rapor edilen, kuyruk kökünden elde edilen indirekt osilometrik kan basıncı (SKB; 103.75 ± 20.61 mmHg, DKB; 56.46 ± 18.88 mmHg ve OAB; 72.26 ± 16.77 mmHg) değerleriyle uyumlu bulundu. Ayrıca, mevcut çalışmada sağlıklı buzağuların kuyruk kökünden elde edilen SKB (111.40 ± 18.31 mmHg) değeri de bir diğer çalışmada tarafından rapor edilen SKB değeri [126 ($110-165$) mmHg] ile uyumluydu (Naseri ve ark., 2019). Kuyruk kökünden elde edilen DKB (51.13 ± 9.86 mmHg) ve OAB (70.67 ± 9.28 mmHg) değerleri aynı çalışmada tarafından rapor edilen değerlerden [DKB; 77 ($64-116$) mmHg, OAB; 93 ($79-132$) mmHg] düşük bulundu (Naseri ve ark., 2019). Mevcut çalışmanın sınırlayıcı bir yönü olarak hem ishallerli hem de sağlıklı buzağılarda kuyruk kökünden elde edilen ölçümler sağ ve sol ön ekstremitede ölçümlerinden genel olarak düşük bulundu (Tablo 1). Bu durum hareket artefaktı, distal nabız dalgası amplifikasyon fenomeni ve manşet yerleşmesindeki hatadan kaynaklanabilir (Ng ve Small, 1993; Carr, 1994; Avolio ve ark., 2009).

İshallerli ve sağlıklı buzağuların sağ ve sol ön ekstremitede proksimalinden elde edilen kan basıncı değerleri [SKB (mmHg) ve DKB (mmHg)] kuyruk kökünden ölçülen değerlerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($P<0.05$). Bir diğer memeli çalışmasında da sağlıklı kedilerin ön ekstremitelerinden indirekt osilometrik yöntem ile ölçülen kan basıncı değerleri kuyruk kökünden elde edilen değerlerden yüksek rapor edilmiştir (Güneş ve ark., 2022). Benzer şekilde sağlıklı köpeklerinde sağ ve sol ön ekstremitelerinden ölçülen kan basıncı değerleri de kuyruk kökü ölçümlerinden yüksek rapor edilmiştir (Agudelo ve ark., 2016). Bulgularımızla ilgili olası açıklama distal nabız dalgası amplifikasyon fenomeninden kaynaklanabilir

(Avolio ve ark., 2009). Kuyruk bölgesinden ölçülen değerlerin düşük olmasının bir diğer nedeni kan basıncı ölçme işlemi esnasında buzağuların kuyruklarını hareket ettirmelerinden kaynaklanabilir.

Mevcut çalışmada, ishali buzağuların sağ ve sol ön ekstremitte proksimalinden ölçülen ortalama SKB (mmHg), OAB (mmHg) ve sol ön DKB (mmHg) değerleri sağlıklı buzağulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ($P<0.05$). Benzer şekilde, Naseri ve ark.'da (2019), yenidoğan buzağı ishali ile ilişkili sepsisli buzağularda indirekt osilometrik yöntem ile kuyruk bölgesinden ölçtükleri SKB, DKB ve OAB değerlerini sağlıklı buzağulardan düşük rapor etmişlerdir. Kuyruk kökünden yapılan ölçümlerde ise, ishali buzağuların DKB (mmHg) ve OAB (mmHg) değerleri sağlıklı buzağulardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($P<0.05$). Mevcut çalışmada ishali buzağulardan elde edilen ortalama kalp atım sayıları sağlıklı buzağulardan düşük bulundu ($P<0.05$). İshale bağlı olarak gelişen hipovolemi, yetersiz kardiyak output veya vazodilatasyon gibi durumlarda hipotansiyon yaygın olarak görülen bir komplikasyondur (Foster ve Smith, 2009; Butler, 2011; Naseri ve İder, 2021).

Mevcut çalışmada, çalışmaya dahil edilen sağlıklı ve ishali buzağuların indirekt osilometrik yöntemle farklı bölgelerden elde edilen kan basıncı değerlerinin altın standart bir yöntemle (invaziv yöntem; direkt arter içi kan basıncı ölçme) göre doğruluğunun ve standardizasyonunun yapılamaması çalışmanın ana sınırlayıcı yönlerinden biridir (Aarnes ve ark., 2014). Hem sağlıklı hem de ishali buzağularda kuyruk kökünden elde edilen kan basıncı ölçümleri ile sağ ve sol ön ekstremitelerden elde edilen ölçümlerin tutarsız olması ve ekstremitte ölçümlerin önceki çalışmaların sonuçlarıyla daha uyumlu olması nedeniyle bu çalışmada sağ ve sol ön ekstremitte ölçümlerinin daha kullanışlı ve doğru olabileceği ifade edilebilir. Söz konusu sınırlamaların dikkate alındığı daha kontrollü çalışmalar ile bu konudaki haklı endişeleri giderilecektir.

Sonuç olarak, indirekt osilometrik kan basıncı ölçme işlemi klinik pratikte kullanılabilecek hızlı ve invaziv olmayan bir yöntemdir. Sağlıklı buzağularda ekstremitelerden ölçülen kan basıncı değerleri kuyruk kökünden ölçülen değerlerden genel olarak yüksek bulundu. Bulgularımız kuyruk kökü ölçümlerinin ekstremitte ölçümlerine göre daha değişken olabileceğini göstermektedir. İshali buzağularda sağ ve sol ön ekstremitelerden ölçülen SKB (mmHg), OAB (mmHg) ve sol ön DKB (mmHg) değerleri sağlıklı buzağulardan daha düşük bulundu. Bu çalışmada elde edilen bulgular ishale bağlı olarak gelişen düşük arteriyel kan basıncı gibi hayati tehdit eden durumlarda kan basıncını artırmaya yönelik terapötik ajanların tedavi stratejileri arasında yer alması gerektiğinin önemini göstermektedir.

Kaynaklar

- Aarnes TK, Hubbell JA, Lerche P, Bednarski RM. Comparison of invasive and oscillometric blood pressure measurement techniques in anesthetized sheep, goats, and cattle. *Vet Anaesth Analg* 2014; 41(2): 174-85.
- Agudelo CF, Dvir S, Yılmaz Z, Kocaturk M. Effect of cuff placement on blood pressure measurement in conscious healthy dogs. *J Vet Sci Technol* 2016; 7 (5): 363.
- Avolio AP, Van Bortel LM, Boutouyrie P, Cockcroft JR, McEniery CM. Role of pulse pressure amplification in arterial hypertension: Experts' opinion and review of the data. *J Hypertens* 2009; 54(2): 375-383.
- Berber E, Çanakoğlu N, Sözdutmaz İ, Simsek E, Sursal N, Ekinci G, Kökkaya S, Arıkan E, Ambarcıoğlu P, Göksu AG, Keleş İ. Seasonal and age-associated pathogen distribution in newborn calves with diarrhea admitted to ICU. *Vet Sci* 2021; 8(7): 128.
- Binns SH, Sisson DD, Buoscio DA, Schaeffer DJ. Doppler ultrasonographic, oscillometric phrygmanometric and photoplethysmographic techniques for noninvasive blood pressure measurement in anesthetized cats. *J Vet Intern Med* 1995; 9 (6): 405-14.
- Branson KR, Wagner Mann CC, Mann FA. Evaluation of an oscillometric blood pressure monitor on anaesthetised cats and the effect of cuff placement and fur on accuracy. *Vet Surg* 1997; 26(4): 347-53.
- Brăşlaşu MC, Daniela Elena B, Cătălina B, Emilia B, Eugenia T. Indirect oscillometric blood pressure in conscious calves. The European College of Veterinary Internal Medicine – Companion Animals. Seventeenth ECVIM-CA Congress & Ninth ESVCP Congress. September, 13-15, 2007; Budapest-Hungary.
- Brown S, Atkins C, Bagley R, Carr A, Cowgill L, Davidson M, Egner B, Elliott J, Henik R, Labato M, Littman M, Polzin D, Ross L, Snyder P, Stepien R. Guidelines for the identification, evaluation and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 2007; 21(3): 542-58.
- Butler AI. Goal-directed therapy in small animal critical illness. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2011; 41(4): 817-38.
- Carr AJ. Blood pressure measurement in small animal practice. *Vet Tech* 1994; 15: 163-7.
- Durham HE. Arterial blood pressure measurement. *Vet Tech* 2019; 1: 1-19.

- Ekinci G, Tüfekçi E, Onmaz AC, Çiğil M, Keleş İ, Güneş V. Erciyes Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne 2019-2021 yılları arasında getirilen neonatal ishallerli buzağılarda majör enteropatojenlerin yaygınlığının araştırılması. *Erciyes Univ Vet Fak Derg* 2022; 19 (2): 113-122.
- Elena BD, Brăslăşu MC, JoiŃa S, GhiŃă M, Ionescu S. Indirect oscillometric blood pressure in conscious calves. *Bulletin UASVM*. 2008; 65(2): 4-8.
- Foster DM, Smith GW. Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2009; 25(1): 13-36.
- Grandy JL, Dunlop CI, Hodgson DS, Curtis CR, Chapman PL. Evaluation of the Doppler ultrasonic method of measuring systolic arterial blood pressure in cats. *Am J Vet Res* 1992; 53(7): 1166-9.
- Gunes V, Onmaz AC, Keleş İ, Çiğil M, Ekinci G, Tüfekçi E. Comparison of wall mounted and mobile blood pressure devices values obtained from healthy cats. *Erciyes Univ Vet Fak Derg* 2022; 19(1): 30-6.
- Kasari TR. Metabolic acidosis in diarrheic calves: The importance of alkalinizing agents in therapy. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1999; 6(1): 629-43.
- Keleş İ, Ekinci G, Tüfekçi E, Çiğil M, Güneş V, Aslan Ö, Onmaz AC, Karaca Bekdik İ, Varol K, Deniz Ö. Etiological and Predisposing Factors in Calves with Neonatal Diarrhea: A Clinical Study in 270 Case Series. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2022; 28 (3): 315-326.
- McClure JT. Oral fluid therapy for treatment of neonatal diarrhoea in calves. *Vet J* 2001; 162(2): 87-9.
- Naseri A, Sen I, Turgut K, Guzelbektes H, Constable PD. Echocardiographic assessment of left ventricular systolic function in neonatal calves with naturally occurring sepsis or septic shock due to diarrhea. *Res Vet Sci* 2019; 126: 103-112.
- Naseri A, İder M. 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* 2021; 37(1): 1-8.
- Ng KG, Small CF. Changes in oscillometric pulse amplitude envelope with cuff size: Implications for blood pressure measurement criteria and cuff size. *J Biomed Eng* 1993; 15(4): 279-82.
- Offinger J, Fischer J, Rehage, J, Meyer H. Percutaneous, ultrasonographically guided technique of catheterization of the abdominal aorta in calves for serial blood sampling and continuous arterial blood pressure measurement. *Res Vet Sci* 2011; 90(3): 521-5.
- Wagner AE, Brodbelt DC. Arterial blood pressure monitoring in anesthetized animals. *J Am Vet Med Assoc* 1997; 210(9): 1279-85.
- Yamakoshi K, Rolfe P, Murphy C. Current developments in non-invasive measurement of arterial blood pressure. *J Biomed Eng* 1988; 10(2): 130-7.
- Yasuoka MM, Monteiro BM, Fantinato Neto P, Paiano RB, Fantoni DT, Otsuki DA, Birgel Junior EH. Transient pulmonary artery hypertension in holstein neonate calves. *Animals (Basel)* 2020; 10(12): 2277.



Köpeklerde İmmun Aracılı Göz Hastalıkları

İrem ERGİN^{1,a}, Kübra Gamze ÇETİN^{1,b}

¹Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Ankara-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0003-2373-5133; ^b0000-0001-9008-783X

Corresponding author: İrem ERGİN; E-posta: iremerg@gmail.com

How to cite: Ergin İ, Çetin KG. Köpeklerde immün aracılı göz hastalıkları. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):226-232

Öz: Bağışıklık sistemi vücudun en karmaşık ve kapsamlı parçalarından birisidir. Canlının yaşamı boyunca karşılaşılabileceği potansiyel patojenlerin etkili bir şekilde eliminasyonunu sağlamak için gelişmiştir. Vücudun bu savunma sistemi, fizyolojik düzeni bozan patojenler yerine konağa yönlendirildiğinde otoimmün hastalıklar ortaya çıkar. Göz, vücuttan bağımsız olarak kendi içinde lokal bağışıklığı sağlayıp korumak ve kontrol altına almak için organa özgü immunolojik bir yapı ile şekillenmiştir. Göz içinde herhangi bir patojene ya da yerleşik bulunan hücre gruplarına verilen anormal immün yanıt sonucu oluşacak patolojik değişimler görmeyi tehdit edebilir. Köpeklerde özellikle gözün anterior segmentinde bulunan yapılara karşı istenmeyen immunolojik reaksiyonlar ortaya çıkabilmektedir. İmmün aracılı hastalıkların klinik muayene ve laboratuvar testleri ile erken tanısı, hastalığın tedavisi ve prognozu açısından önem arz eder. Bu derlemenin amacı, köpeklerde en sık karşılaşılan immün sistem kaynaklı göz hastalıklarının etiyojisi, klinik görünüm, histopatolojik bulgular ve tedavisi hakkında bilgi vermektir.

Anahtar kelimeler: Bağışıklık, bulbus okuli, konjunktiva, otoimmün

Immune-Mediated Eye Diseases in Dogs

Abstract: The immune system is one of the most complex and comprehensive parts of the body. It has been developed to effectively eliminate potential pathogens that may encounter throughout the animals' life. Autoimmune diseases occur when this defence system of the body is directed to the host instead of pathogens that disrupt the physiological order. The eye has consisted of an organ-specific immunological structure in order to maintain and control local immunity, independent of the body. Pathological changes that will occur as a result of an abnormal immune response to any pathogen or resident cell groups in the eye may threaten the vision. Undesirable immunological reactions can occur in dogs, especially against structures in the anterior segment of the eye. Early diagnosis of immune-mediated diseases with clinical examination and laboratory tests is important for the treatment and prognosis of the disease. The purpose of this review is to provide information about the etiology, clinical appearance, histopathological findings and treatment of the most common immune system-related eye diseases in dogs.

Keywords: Autoimmune, bulbus oculi, conjunctiva, immunity

Giriş

Köpek ve kedilerde etiyojisi net olarak ortaya konamamış ve halen araştırma konusu olan pek çok göz hastalığı vardır. Bu hastalıkların pek çoğunun temelini gözün çeşitli doku ve hücrelerini etkileyen farklı şiddetlerdeki immün yanıtlar oluşturur. Bu yanıtlar kimi zaman korneanın derin katmanlarında pigment birikimi, kimi zaman apoptozis olarak ortaya çıkar (Ergin, 2016; Ergin, 2018).

Gözün immün yanıtı doğmasal ya da edinsel olarak şekillenir. Doğmasal yanıt, gözün mikroorganizmalara, kimyasal veya alerjenlere karşı korunmasına katkıda bulunan gözyaşı tabakası, göz kırpması, üçüncü göz kapağı gibi fiziksel engellerin söz konusu olduğu ilk savunma hattıdır. Edinsel yanıt ise, ikinci savunma hattı olarak hareket eder ve hem humoral hem de

hücresele bağışıklık mekanizmaları tarafından desteklenir (Dall'Ara ve Turin, 2019). Göz, immün mekanizmalar açısından ayrıcalıklı bir bölgedir. Kornea epitelinin periferindeki sınıf II Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC) ve Langerhans hücreleri, konjunktivadaki lenfatik drenaj bölgesi, kan-aköz ve kan-retina bariyerleri, karmaşık ve özelleşmiş immunolojik mekanizmalardır (Day, 2011).

İmmün-aracılı blefaritis pemfigus kompleksi

Pemfigus kompleksi, beş forma sahip, oldukça nadir görülen immün aracılı bir hastalık grubudur. Tüm pemfigus türlerinde, oluşan antikorlar tip II aşırı duyarlılık reaksiyonuna yol açarak deri lezyonlarına neden olur (Goodale, 2019). Hastalığın patogenezi, epidermisdeki epitel hücrelerinin adezyonunda rol oynayan bir protein olan desmogleine yönelik otoantikor oluşumunu içerir. Otoantikorların hedefi olan iki tür desmoglein vardır: Desmoglein 1 ve 3. Deneysel çalışmalarda desmoglein 1 antikorlarının patojenik

olduğu görülmüştür (Gershwin, 2018).

Pemfigus kompleksine yatkın ırk olarak Akita ve Chow chow'lar bildirilmiştir. Görülen diğer ırklar Cocker Spaniel, Dachshund, Doberman, Collie ve Shar-pei'dir. Klinik olarak özellikle yüz bölgesinin mukokutanöz birleşim yerlerinde ve göz kapaklarında ülseratif ve irinli alanlar dikkati çeker. Bu lezyonlar kabuklanma, pullanma ve hipopigmentasyon ile karakterizedir. Şiddetli formlarında ağız boşluğu, tırnak yatakları, deri, göz kapakları, dudaklar ve burun deliklerinin etkilendiği görülür. Histopatolojik inceleme ile biyopsi, varyantlar arasındaki ayırım için önemlidir (Goodale, 2019). Sağaltım, prednizon ile birkaç immunsupresif ilacın (siklosporin, klorambusil, azatiopirin) kombinasyonunu içerir (Gershwin, 2018).

Uveodermatolojik sendrom / Vogt-Koyanagi-Harada benzeri sendrom

İnsanlardaki Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) hastalığına benzeyen, köpeklere özgü immün aracılı bir hastalıktır. Uveodermatolojik sendrom (UDS), melanin yüklü dokularda bağışıklık aracılı hasara neden olur. Köpekler için UDS terimi, VKH sendromundan daha uygundur, zira köpekler çoğunlukla VKH sendromunu karakterize eden nörolojik tutulum göstermezler. Bununla birlikte, optik sinir menenjitisi, UDS'li köpeklerde histolojik olarak da tespit edilmiştir (Zarfoss ve ark., 2018). UDS'li köpeklerde retina dekolmanı, disk ödemi ve vitreus yangısı ile şiddetli bilateral granümatöz posterior üveitis ya da panüveitis gelişir. Bu semptomlara, insanlarda da görülen kulak çınlaması, işitme kaybı, baş dönmesi, menenjitisi, poliozi (saç tutamlarının depigmentasyonu veya lökotrişi) ve vitili-go eşlik edebilir. Hastalığa özellikle Akita, Samoyed ve Sibiry kurtları yatkındır (Tham ve ark., 2019). Derinin histolojik değerlendirmesi, belirgin bir melano-faj bileşeni olan granümatöz likenoid dermatitisini ortaya koyar. Deri lezyonlarının varlığı yararlı bir tanısal özelliktir (Zarfoss ve ark., 2018).

Hastalığın sağaltımı zor, prognozu şüphelidir. Topikal oküler tedavi glukokortikoidlerden oluşur. Şiddetli vakalarda topikal bir NSAID, glukokortikoidlerin tamamlayıcısı olarak kullanılabilir. Akut miyozisin üstesinden gelmek için gerektiği sıklıkta, göz içi basıncını kontrol ederek bir sikloplejik ajan uygulanabilir (Day, 2011). Azatiopirin veya siklosporin gibi diğer immunsupresif ajanlar glukokortikoid tedavisinin klinik iyileşme sağlamadığı durumlarda sağaltıma eklenmelidir (Tham ve ark., 2019). UDS'de, hem topikal hem de sistemik sağaltıma, klinik iyileşme sağlanana kadar devam edilir. Daha sonra sağaltımın süre ve sıklığı kademeli olarak azaltılır. Tedavinin aniden kesilmesi, daha sonrasında yangının şiddetli şekilde nüksetmesine neden olabilir (Day, 2011).

Alerjik/immün-aracılı konjunktivitiser

Alerjik konjunktivitiser, anamnez bilgisi ve steroid tedavisine olumlu yanıt vermesiyle tanısı kolay konulan otoimmün reaksiyonlardır. Konjunktiv dokunun bir alerjene tepkisi genellikle seröz akıntı ve orta ile şiddetli arasında değişen hiperemidir. Kaşıntı, özellikle mast hücre degranülasyonunda ortaya çıkar. Farinks, dış etleri ve dış kulak yolunun yangısı, seröz rinitis ve dermatolojik reaksiyonlar eşzamanlı olabilir. Konjunktival sitolojide eozinofil, lenfosit ve plazma hücrelerinin varlığı tanıyı güçlendirir (Spiess, 2019).

Oküler alerji tipik olarak üç aşama halinde, duyarılılaşma fazı, erken faz ve son fazı içerir. Duyarılılaşma aşaması oküler yüzeyin antijenlere maruz kalmasıyla başlar ve bu aşamada alerjiye verilen yanıt oküler bulgu oluşturmaz. Her bir alerjen için spesifik olarak üretilen IgE antikoları, mast hücrelerinin ve bazofililerin yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanır. Bu aşama, mast hücrelerini ileride maruz kalınan antijene hazırlar ve böylece duyarılılaşma fazı tamamlanır. Hipersensitivitenin erken fazında, daha önceki bir alerjene duyarlı hale gelen gözde, tekrar karşılaşılan alerjen, duyarılılaşmış mast hücrelerinin yüzeyinde bulunan spesifik reseptörler üzerindeki IgE molekülüne bağlanarak, tip I aşırı duyarılılık reaksiyonu oluşturur. Son faz, T lenfositlerinin aktivasyonu, Th2 sitokinlerinin üretimi ve konjunktivanın eozinofil, nötrofil ve bazofil tarafından infiltrasyonu ile karakterizedir. Yangı hücreleri tarafından salınan farklı mediyatörler, kronik alerjik konjunktivitisi karakterize eden klinik belirtilerin ilerlemesine katkıda bulunur (Varandas ve ark., 2020).

Sağaltımda alta yatan neden uzaklaştırılmalıdır. Göz semptomlarıyla sınırlı olgularda düşük doz topikal steroidler, belirtilerin sistemik olduğu durumlarda ise sistemik steroidler kullanılır. Hastalığı kontrol altına almak için hem konsantrasyon, hem de uygulama sıklığı bakımından en az miktarda ilaç kullanılmalıdır. Hafif vakalarda, topikal antihistaminiklerin kullanımı önemlidir. Kromolin sodyum gibi mast hücre granül stabilizatörleri tedavide etkili olabilir. Topikal siklosporinler, mast hücreleri ve eozinofillerin aracılık ettiği durumlarda uygulanabilir. Topikal nonsteroid ilaçlar da mevsimsel alerjik konjunktivitiserin belirtilerini azaltır ve glukokortikoidlere alternatif olarak kullanılabilir (Spiess, 2019).

Kanin niktans plazmasitik konjunktivitisi / Plazmoma

Üçüncü göz kapağında follikül oluşumu ve depigmentasyonuyla birlikte, plazma hücreleri ve lenfositlerinin filtrasyonu ile karakterize immün aracılı bir hastalıktır. Alman çoban köpeği, Belçika çoban köpeği, Borzio, Doberman Pincher ve İngiliz Springer Spaniel ırklarında yaygın şekilde görülür (Gelatt ve Plummer, 2017). Lezyonlar, üçüncü göz kapağının ön yüzeyin-

de, taşkın, noktasal nodüller olarak ortaya çıkar. Hastalık, en az altı hafta boyunca 1-2 saatte bir uygulanan topikal siklosporine yanıt verir. Tedavi sonrası biyopsilerde plazma hücrelerinin sayısında azalma gözlenir. Tedavi durdurulduğunda durum tekrarladığından, nüksü önlemek için düşük doz ilaç uygulaması ile ömür boyu tedavi gerekebilir. Bu nedenle, tam iyileşme için prognoz belirsizdir (Day, 2011).

Kronik superfisiyal keratit / pannus / Überreiter sendromu / dejeneratif pannus

Köpek korneasının ilerleyici, yangısal ve potansiyel olarak körlükle sonuçlanan bir hastalığıdır. Progresif olması ve yangısal karakteri sebebiyle, köpeklerde görme kaybına neden olma potansiyeli yüksektir. Klinik tablo genellikle korneanın ventral ve temporal kadranslarından başlar, yangı ve pigmentasyon süreci zamanla korneanın geri kalanına ilerler. Bir süre sonra limbal melanosit göçü meydana gelir (Şekil 1) (Castillo, 2019; Ergin, 2021).



Şekil 1. Bir Belçika çoban köpeğinde kronik superfisiyal keratit (Überreiter sendromu). Korneanın lateral kadransından başlayarak merkeze doğru ilerleyen belirgin pigment oluşumu dikkati çekmektedir.

Petrick ve Van Rensburg yaptıkları çalışmalarında, Überreiter sendromlu Alman çoban köpeklerinin kornealarında epitel katmanının diğer ırklara göre çok daha ince olduğunu ortaya koymuştur. Bu köpeklerde stromal katmanın gevşediği ve korneanın gerilme kuvvetinin azaldığı dikkati çekmiştir. Bu bulguların hastalık için bir predispoze faktör olabileceği düşünülmüştür (Petrick, 2008). Diğer ırklara kıyasla Alman çoban köpeklerinin limbus bölgesinde eozinofil ve mast hücrelerinde artış olduğu bildirilmiş, bu durumun güneş ışığına maruz kalma ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (Moore, 2019).

Yapılan araştırmalarda, sendromlu köpeklerin kan serumunda malondialdehit, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, bitirozin ve formilkinuren seviyelerinde artış ve oksidatif değişimler gözlenmiştir. Bu değişikliklerin sebebinin, lipid ve protein peroksidasyonunun eşlik ettiği antioksidan sistem bozuklukları olduğu düşünülmektedir. Kronik yangısal hastalıkların gelişimi, lipid peroksidasyon son ürünlerinin ve nitrik oksit iyonlarının (NO) üretimi ve salınımı ile bağlantılıdır. NO iyonları, vasküler düz kasların gevşemesini etkileyerek vasküler gerilimi düzenler, kan trombositlerinin ve lökositlerin agregasyonunu inhibe eder, nörotransmitter olarak görev yapar. Nötrofilleri ve makrofajları içeren bir dizi immun mekanizmayı etkilerler. Bu değişiklikler, yangı sürecine dahil olan miyeloperoksidaz ve eozinofil peroksidazın artan aktivasyonu ile indüklenir ve Hsp70 gibi ısı şok proteinlerinin üretimini ve salınmasını uyarır. Hsp 70 kDa ölçümlerine dayanılarak, hastalık sürecini kontrol etmede önemli rol oynadıkları varsayılabilir, ancak hastalığın etiolojisinde veya ilerlemesinde bir faktör olmaktan ziyade, hastalığa sekonder olarak etki eder. Bu proteinlerin, kornea ve konjunktivayı içeren yangılarda dahil olmak üzere birkaç hastalıkta, hücre içi yapıları etkileyen onarıcı ve stabilize edici süreçlere katkıda bulunduğu altı çizilmelidir. Bu proteinlerin konsantrasyonlarının ölçümleri, hastalığın klinik semptomlarından muzdarip köpeklere uygulanan tedavi sırasında, hücre hasarının derecesini değerlendirmek ve hastalık sonucunu tahmin etmek için önemli bir tanısal belirteç sağlayabilir (Urban-Chmiel, 2017). Peterson tarafından yapılan bir çalışmada, kornea yara iyileşmesi sırasında Hsp 47 ve 70 salınmasında bir artış gözlemlenmiştir. Isı şoku proteinleri ayrıca yangı sürecinin yayılmasını kontrol etmede önemli bir rol oynar (Peterson ve ark., 2015).

Standart bir tedavi protokolü yoktur. Amaç, hastalığın ilerlemesini kontrol etmek ve lezyonların şiddetini azaltmaktır. Hafif ya da orta derecede etkilenen vakalarda klasik yaklaşım, tek başına veya topikal siklosporine ek olarak uzun süreli kortikosteroidli göz damlası ya da merhemlerin uygulanmasını içerir. X-ray terapisi, UV-filtreli kontakt lensler, topikal pimekrolimus uygulaması ve yüzeysel keratektomi hastalığın ilerlemesini kontrol etmek ve spesifik semptomları hafifletmek için diğer tedavi seçenekleri arasında bulunmaktadır. Takrolimus ve dimetil sülfoksit damlalarının uygulanması, yangısal aktivite ve vaskülarizasyonda azalma ile sonuçlanmakta, fakat bu tedavi seçeneği pigmentasyonun kademeli olarak ilerlemesini durdurmamaktadır. Topikal uygulamaya ek olarak depo kortikosteroidlerin subkonjunktival enjeksiyonları şiddetli veya yanıt vermeyen vakalarda endikedir. Son zamanlarda yapılan araştırmalar, topikal steroid-antibiyotik tedavisine ek olarak subkonjunktival triamsinolon asetonid enjeksiyonunun, topikal steroidlere yanıt vermeyen köpeklerde uzun vadeli hastalık yönetimi için etkili bir seçenek olabileceğini ortaya koymuştur. Çalışmalarda, korneadaki ödem ve vasküleri-

zasyon tedaviye olumlu yanıt verirken, pigmentasyonun uzun vadede kontrol altına alınmasının daha zor olduğu sonucuna varılmıştır (Beteg ve ark., 2020).

Keratokonjunktivitis sikka / Kuru göz sendromu (KCS)

Gözyaşı filmindeki bir ya da daha fazla elementin eksikliğinden kaynaklanan bir hastalıktır. KCS iki bölüme ayrılır. Birincisi, azalmış gözyaşı üretimi veya yetersiz gözyaşı salgılanmasıdır, diğeri özellikle brahisefalik ırklarda belirgin olan gözyaşının aşırı buharlaşmasıdır (Dodi, 2015).

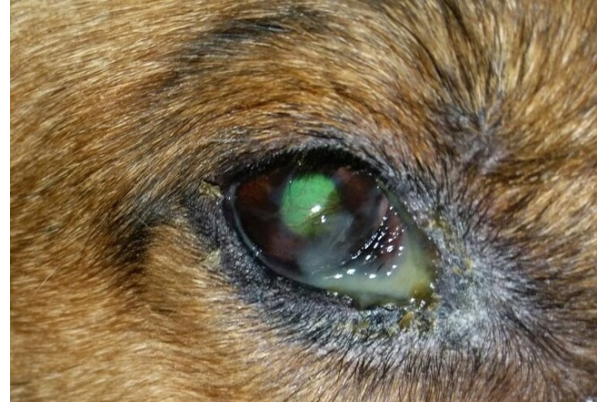
Gözyaşı filmi; epitel hücreler ile konjunktival goblet hücreleri tarafından salgılanan bir mukus katmanı, üçüncü göz kapağı bezi ve lakrimal bezler tarafından oluşturulan aköz katman ve primer olarak Meibomian bezlerinden köken alan yağlı bir katmandan oluşur. Aköz katmanda bulunan müsin, göz yüzeyinin savunmasında yer alan laktoferrin, lizozim, transferrin, gözyaşı spesifik prealbumin, albumin, seruloplazmin, glikoproteinler ve immunglobulinler içerir (Dall'Ara ve Turin, 2019).

Köpeklerde konjenital, metabolik, enfeksiyöz, ilaç kaynaklı, nörojenik, radyasyona bağlı, iatrojenik, idiyopatik ve immün aracılı olmak üzere farklı KCS nedenleri vardır, ancak sonuncusu köpeklerde en yaygın olanıdır (Dodi, 2015). Lakrimal kanal, Meibomian bezleri ve konjunktival goblet hücrelerini etkileyen immün kaynaklı reaksiyonlar, gözyaşı miktarını ve kalitesini etkiler. Bu durum KCS'nin ana nedenleri arasında yer alır (Sgrignoli ve ark., 2019). Williams ve Tighe (2018), üçüncü göz kapağı bezindeki mononükleer inflamatuvar hücrelerin idiyopatik KCS'de önemli ölçüde arttığını, ancak nörojenik KCS'de artmadığını, CD3 ekspresyon eden T hücrelerinin özellikle idiyopatik KCS'de sayısının oldukça yükseldiğini ortaya koymuştur. En sık görülen lezyonlar, değişen derecelerde fibrozis ile multifokal mononükleer hücre infiltrasyonudur. Antinükleer antikorlar ve romatoid faktör titreleri, KCS vakalarında sırasıyla %42 ve %50 oranında artış göstermiştir (Pickett, 2019). İmmünohistokimyasal çalışmalar, immün aracılı KCS'de oküler yüzeyde çeşitli yangı etkenlerinin biriktiğini göstermiştir. Bu etkenler arasında CD4 T lenfositleri (T yardımcı hücreler), interlökin (IL)-1, IL-6, tümör nekroz faktör alfa (TNF α) ve interferon gama (IFN γ) bulunmaktadır (Sgrignoli ve ark., 2019). T lenfositler, KCS'de yangı sitokinleri üretirler. Artmış lenfosit aktivasyonunu takiben doku ve gözyaşı filminde artan yangı sitokinleri, normal ortamının değişmesine yol açar (Dall'Ara ve Turin, 2019).

KCS, otoimmün bir hastalığın (örneğin SLE) parçası şeklinde ya da hipotiroidizm, romatoid artrit, diabetes mellitus, konjenital hipotiroidizm veya otoimmün cilt hastalığı ile eşzamanlı olarak ortaya çıkabilir (Day, 2011). En fazla etkilenen ırklar Cavalier King

Charles Spaniels, İngiliz bulldog, Lhasa Apso, Batı Highland Beyaz Terrier, Pug, Amerikan ve İngiliz Cocker Spaniels, İngiliz Springer Spaniels, Pekinez, Boston Terrier, Minyatür Schnauzer, Samoyed ve Shih-tzu'dur (Dodi, 2015).

KCS'nin erken evresinde etkilenen gözde başlangıçta aralıklı mukoid veya mukopurulent bir akıntının olduğu dikkati çeker. Hastalığın şiddeti arttıkça, oküler yüzey matlaşır, konjunktiva aşırı derecede hiperemik bir görünüm alır ve kalıcı mukopurulent bir akıntı oluşur (Şekil 2). Bazı durumlarda progresif keratitis tablosu oluşabilir. Tanı, tipik klinik belirtiler ve kantitatif gözyaşı ölçümünde azalma ile konur (Gelatt, 2013).



Şekil 2. Alman çoban köpeğinde keratokonjunktivitis sikka (kuru göz sendromu). Medial kantusta yoğun mukopurulent akıntı.

Medikal tedavi, nedeni ortadan kaldırmayı, gözyaşı üretimini uyarmayı ve sekonder bakteriyel enfeksiyonları önlemeyi amaçlar. Günümüzde farklı tedavi yöntemleri de geliştirilmektedir. Bu yöntemlerden biri sinir büyüme faktörünün (NGF) topikal kullanımınıdır (Dodi, 2015). Diğer yöntem ise kök hücre uygulamalarıdır. Kök hücreler, otoantikorların etkisiyle yıkılan dokuları onarma yetenekleri ile immün aracılı pek çok hastalığın tedavisinde kullanılırlar. Kök hücrelerin bir diğer önemli terapötik etkisi ise biyoaktif moleküllerin salınması yoluyla immün-modülasyondur. Bu moleküller, özellikle CD4 T yardımcı lenfositleri ve B lenfositleri için immüno-supresif etkiye sahiptir. Bu immüno-supresif etki, KCS'de bulunan IL-6 gibi IL'lerin salınımını azaltır, apoptozis ve proinflamatuvar mediyatörlerin salınımını önlemeye ek olarak anjiyogenez ve hücrel mitozu uyarır (Sgrignoli ve ark., 2019).

Superfisyal punktat keratitis

Korneada genellikle bilateral, diffuz, çok sayıda noktasal epitel defekti veya yüzeysel opasiteler olarak ortaya çıkan immün aracılı bir hastalıktır. En fazla etkilenen köpek ırkları Shetland çoban köpeği ve Dachshund'dur (Andrew S.E., 2008). Tedavi, üllerle-

rin mevcut olduğu durumlarda topikal siklosporin veya kortikosteroidlerin, antibiyotiklerle kombine edilmesinden oluşur. Tedaviye klinik yanıt tipik şekilde hızlıdır (Gelatt, 2013).

Enfeksiyöz kanin hepatitis / blue eye (mavi göz) sendromu

Kanin adenovirüs tip-1(CAV) ile enfekte olan ve hastalığı atlatan köpeklerin yaklaşık %20'sinde oküler lezyonlar gelişir. Klinik bulgu olarak fotofobi ile birlikte hafif şiddetli üveitis dikkati çeker. Daha sonraki aşamada kornea ödemi (Şekil 3) ile birlikte daha şiddetli kerato-üveitis gelişir (De Jonge ve ark., 2020).



Şekil 3. İki aylık melez bir köpekte aşı sonrası şekillenen mavi göz sendromu.

Vakaların çoğu 2-3 hafta içinde kendiliğinden düzelir, ancak bazı hastalarda kalıcı korneal ödem ve sekunder olarak glom kom gelişebilir. Sibiry kurdu ve Afgan tazısında komplikasyonların görülme sıklığı daha fazladır. CAV'li genç köpeklerin böbrek glomerüllerinde IgG ve CAV-1 antijen kompleksleri tespit edilmiştir. Bu durumun muhtemel sebebi tip IV aşırı duyarlılığa bağlanmaktadır (Andrew, 2008). Göz için uygulanan topikal tedavinin, hastalığın seyrini değiştirip değiştirmediği şüphelidir. Topikal steroid, ve nonsteroidler endikedir. Göz içi basıncının düzenli olarak ölçümü yapılmalıdır (Moore, 2019).

Uveitis

Uveitis pek çok durumda immün kaynaklı olarak düşünülür. Yapılan araştırmalar yangısal reaksiyonun ortaya çıkışında doğal bağışıklık sisteminin rolü olduğunu ortaya koymuştur. Akut anterior uveitis olan köpeklerin sağlıklı köpeklere kıyasla humor aközlerinde TNF- α konsantrasyonlarının arttığı görülmüştür (Day, 2011). Uveitis, plazma proteinleri ve hücrelerinin humor aköze geçişini kontrol eden kan-aköz bari-

yerinin parçalanmasına neden olur. Belirgin semptomları iriste renk değişimi ve vaskülarizasyon (Şekil 4) ve humor aközdeki hücresel presipitata bağlı bulanık görünümdür (Sato ve ark., 2019).



Şekil 4. Melez bir köpekte ani şekillenen, episkleritis ve şişkin, renk değişimi gösteren iris görüntüsüyle belirgin uveitis olgusu.

Lens kaynaklı uveitis, uveanın lens proteinine karşı yangısal bir tepkisidir. Normal koşullarda, T hücreleri tarafından lens antijenine karşı immunolojik toleransı sağlamak için, göz içinde devamlı olarak düşük konsantrasyonlarda lens proteini bulunur (Wasik ve Adkins, 2010). Köpeklerde lensin neden olduğu fakolitik ve fakoklastik iki uveitis formu belgelenmiştir (Day, 2011). Fakolitik uveitis rezorbe olan kataraktın sağlam kapsülünden lens proteininin sızmasıyla ilişkilidir. Fakoklastik uveitis lens kapsülünün yırtılmasının ardından ortaya çıkar ve şiddetli yangı, fibroplazi ve bazen endoftalmis ile ilişkilidir (Grahn ve ark., 2018).

Episkleritis ve skleritis

Episkleritis, primer ve sekonder tiplere ayrılabilir. Primer episkleritis, diffuz veya nodüler olarak sınıflandırılmıştır. Nodüler granümatöz episkleritis (NGE) yangısal nodüler histiyositik bir hastalıktır. Lezyonlar temporal limbusta ağrısız, tekli veya çoklu, proliferatif, vasküler kiteller halinde ortaya çıkar (Hamzianpour ve ark., 2019). Sağaltım çoğu zaman tam iyileşme ile sonuçlanmaz. İlaçların uygulama sıklığı ve konsantrasyonu ya da dozu, hasta iyileştikçe olabildiğince hızlı bir şekilde azaltılmalıdır. Kullanılan ilaç grupları arasında sistemik veya topikal kortikosteroidler, topikal siklosporin, sistemik tetrasiklin ve azatiopirin bulunmaktadır (Maggs, 2013).

Diffuz episkleritis ve bununla ilişkili konjunktivitis veya keratit, episkleral/konjunktival dokunun yangısı, vasküler konjesyon ve ödem ile karakterizedir. Bu değişiklikler genellikle bilateraldir ve tekrarlayabilir.

Sağaltımda topikal kortikosteroidler kullanılabilir (Day, 2011).

Skleritide lezyonlar limbusun çevresinde, pembe renkli bölgesel ortaya çıkar. Ağrı, fotofobi ve epiforavardır. Özellikle Amerikan Cocker Spaniel'de yaygındır (Gelatt, 2013). Prognoz kötüdür ve göz kaybedilebilir. Başlangıçta intravenöz glukokortikoid uygulaması gerekli olabilir ve daha sonra sağaltıma azatiopirin veya siklofosfamid ve siklosporin eklenir. Göze topikal glukokortikoid tedavisi uygulanmalıdır (Day, 2011).

Sonuç

Köpeklerin immün kaynaklı göz hastalıklarına dair araştırmalara halen devam edilmekle birlikte, hastalıkların altta yatan temel mekanizmaları tam olarak anlaşılmış değildir. İmmün aracılı hastalıkların, gözün edinsel ve doğumsal bağışıklığı üzerinde yarattığı değişimlerin daha detaylı ve iyi şekilde anlaşılması için gelecek dönemlerde daha fazla araştırmanın yapılması gereklidir. Böylece bu hastalıklara sebep olan spesifik moleküller, mediyatör yada hücre gruplarının keşfi ile erken tanıya gidilerek, öncü sağaltım protokolleri oluşturulabilir.

Kaynaklar

- Andrew SE. Immune-mediated canine and feline keratitis. *Vet Clin North Am Small Anim* 2008; 38(2): 269-90.
- Beteg F, Lelescu CA, Urda-Cimpean AE, Taulescu MA, Muresan C. Long-term prospective assessment of subconjunctival triamcinolone acetonide in addition to topical therapy in the management of chronic superficial keratitis. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2020; 68(1): 61-8.
- Castillo DU. Chronic superficial keratitis. *Veterinariae Zootecnia (On Line)* 2019; 13(2): 24-30.
- Dall'Ara P, Turin L. Immunology of the canine eye in health and disease: A concise review. *Vet Med* 2019; 64(1): 1-17.
- Day MJ, Crispin SM. Immune mediated ocular disease. Day MJ. ed. In: *Clinical immunology of the dog and cat*. Florida: CRC Press, 2011; pp. 263-85.
- De Jonge B, Van Brantegem L, Chiers K. Infectious canine hepatitis, not only in the textbooks: A brief review and three case reports. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 2020; 89(5): 284-91.
- Dodi PL. Immune-mediated keratoconjunctivitis sicca in dogs: Current perspectives on management. *Vet Med* 2015; 30(6): 341-47.
- Ergin I, Senel OO, Koc B. Kedi kornea nekrozlarının konjunktival flep ile sağaltımı. *Vet Hek Der Derg* 2016; 87(1): 44-54.
- Ergin I. Köpeklerde pigmenter keratitis. *Erciyes Üniv Sag Bil Derg* 2018; 27: 55-9.
- Ergin I, Sainkaplan S, Senel OO. Clinical assessment of chronic superficial keratitis (überreiter's syndrome) in dogs: A retrospective study (2012-2019). *Veterinaria* 2021; 70(2): 185-95.
- Gelatt KN. *Canine Cornea: Diseases and Surgery Essentials of Veterinary Ophthalmology*. New York: John Wiley and Sons, 2013; pp. 216-48.
- Gelatt, KN, Plummer CE. Canine conjunctiva and nictitating membrane (nictitans). Gelatt KN, Plummer CE. eds. In: *Color Atlas of Veterinary Ophthalmology*. New York: John Wiley and Sons, 2017; pp. 97-110.
- Gershwin, LJ. Current and newly emerging autoimmune diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2018; 48(2): 323-38.
- Grahn B, Peiffer R, Wilcock B. Histologic manifestations of disorders of the uvea. Grahn B, Peiffer R, Wilcock B. eds. In: *Histologic Basis of Ocular Disease in Animals*. New York: John Wiley and Sons, 2018; pp. 197-254.
- Goodale E. Pemphigus foliaceus. *Can Vet J* 2019; 60(3): 311-3.
- Hamzianpour N, Heinrich, C, Jones, R. G, McElroy, P, Wilson, N, Scurrill E. Clinical and pathological findings in three dogs with a corneocentric presentation of nodular granulomatous episcleritis. *Vet Ophthalmol* 2019; 22(4): 529-37.
- Maggs DJ. Cornea and sclera. Maggs DJ, Miller P, Ofri R. eds. In: *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*. Missouri: Saunders Elsevier, 2013; pp. 184-219.
- Moore PA. Cornea and sclera. Martin CL, Pickett JP, Spiess BM. eds. In: *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*. Florida: CRC Press, 2019; pp. 315-409.
- Peterson CWM, Carter R, Bentley E, Murphy CJ, Chandler HL. Heat-shock protein expression in canine corneal wound healing. *Vet Ophthalmol* 2015; 19 (3): 262-66.
- Petrack SW, Van Rensburg IBJ. Corneal anatomic differences in the aetiology of chronic superficial keratitis. *J Small Anim Pract* 2008; 30 (8): 449-53.
- Pickett JP. Lacrimal apparatus. Martin CL, Pickett JP, Spiess BM. eds. In: *Ophthalmic disease in Veterinary Medicine*. Florida: CRC Press, 2019; pp. 281-314.

Sato K, Kanai K, Ozaki M, Kagawa T, Kita M, Yamashita Y, Tajima K. Preventive effects of tyrosol, a natural phenolic compound, on anterior uveitis induced by anterior chamber paracentesis in healthy beagle dogs. *J Vet Med Sci* 2019; 81(4): 573-6.

Sgrignoli MR, Silva DA, Nascimento FF, Sgrignoli DAM, Nai GA, da Silva MG, Andrade SF. Reduction in the inflammatory markers CD4, IL-1, IL-6 and TNF α in dogs with keratoconjunctivitis sicca treated topically with mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res* 2019; 39: 1-7.

Spiess BM. Conjunctiva and third eyelid. Martin CL, Pickett JP, Spiess BM. eds. In: *Ophthalmic Disease in Veterinary Medicine*. Florida: CRC Press, 2019; pp. 235-80.

Tham HL, Linder KE, Olivry T. Autoimmune diseases affecting skin melanocytes in dogs, cats and horses: Vitiligo and the uveodermatological syndrome: A comprehensive review. *BMC Vet Res* 2019; 15 (1): 1-17.

Urban-Chmiel R, Balicki I, Wernicki A. Heat shock proteins 70 kDa, eosinophil cationic protein, and nitric oxide during chronic superficial keratitis in dogs. *Top Companion Anim Med* 2017; 32(1): 8-12.

Varandas C, Cartaxeiro C, Lourenço AM, Delgado E, Gil S. Selected cytokine expression in dogs with allergic conjunctivitis: Correlation with disease activity. *Res Vet Sci* 2020; 130: 33-40.

Wasik B, Adkins E. Canine anterior uveitis. *Compendium Contin Educ Vet* 2010; 32(11): 1-11.

Williams DL, Tighe A. Immunohistochemical evaluation of lymphocyte populations in the nictitans glands of normal dogs and dogs with keratoconjunctivitis sicca. *Open Vet J* 2018; 8 (1): 47-52.

Zarfoss MK, Tusler CA, Kass PH, Montgomery K, Lim CC, Mowat F, Thomas SM. Clinical findings and outcomes for dogs with uveodermatologic syndrome. *JAVMA* 2018; 252(10): 1263-71.



Şap Hastalığında Taşıyıcılık

Beyhan SAREYYÜPOĞLU^{1,a}

¹Tarım ve Orman Bakanlığı, Şap Enstitüsü Teşhis Bölümü, Seroloji Laboratuvarı, Ankara-TÜRKİYE
ORCID: ^a0000-0002-0279-1673

Corresponding author: Beyhan SAREYYÜPOĞLU; E-posta: beyhan.sar@gmail.com

How to cite: Sareyyüpoğlu S. Şap hastalığında taşıyıcılık. Erciyes Univ Vet Fak Derg 2022; 19(3):233-240

Öz: Şap virüsü taşıyan hayvan, hastalıktan arı ülkelerde hastalık oluşturma riski bakımından, hastalığın endemik olduğu Türkiye gibi ülkelerde ise hastalık risklerinin azaltılması ve eradikasyonunda kritik öneme sahiptir. Son yıllarda taşıyıcı hayvanların belirlenmesi ve taşıyıcılık ile mücadelede izlenecek yeni metotlar üzerinde tekrar durulmaya başlanmıştır. Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından hastalık eradikasyonu için Şap Hastalığı için Kademeli Kontrol Yolu (PCP-FMD) adı verilen beş aşamalı bir kademeli hastalık eradikasyon planı tasarlanmıştır. Dolayısıyla her aşamada bir sonraki basamağa geçiş için yapılacak faaliyetler bulunmaktadır. Bu faaliyetlerden birisi de sürülerde enfekte (akut veya persiste) hayvanın aşıllılardan ayrılması, riskin sıfır (zero risk) olduğunun gösterilmesidir. Bu derlemede şap enfeksiyonu ve persistenliği ile ilgili geçmişten günümüze yapılan çalışmalar değerlendirilerek bu konuyla ilgili önemli bilgiler verilmiştir. Ayrıca gelecekte bu konu ile ilgili yapılması gereken noktalara değinilmiştir.

Anahtar kelimeler: Persiste enfeksiyon, şap hastalığı, taşıyıcılık

Carrier Status in Foot-and-Mouth Disease

Abstract: In the disease endemic countries such as Turkey, a foot-and-mouth disease (FMD) virus carrier animal is critical in reducing the risk of disease and eradication. In recent years, FMD carrier animals, persistence mechanisms, and the fight against carriers have started to be focused on again. A five-stage gradual disease eradication plan called PCP-FMD (Progressive Control Pathway-FMD) was designed by Office International des Epizooties (OIE) and Food and Agricultural Organization United Nations (FAO) for disease eradication. Therefore, at each stage, there are activities to be done to move to the next step. One of these activities is the differentiation of infected animals (acute and persistent) from vaccinated ones in herds showing that the risk is zero (zero risk). In this review, studies related to FMD and persistent infections done so far have been evaluated and important information regarding the subject has been given. In addition, the points that need to be done in the future have been focused on.

Keywords: Carrier, Foot-and-mouth disease, Persistent infection

Giriş

Şap hastalığı (foot-and-mouth disease, FMD), evcil ve vahşi çift tırnaklı hayvanların viral, oldukça bulaşıcı ve yol açtığı ekonomik kayıplar nedeniyle ülke ekonomisine olumsuz etkileri olan bir hastalıktır. Virus, *Picornaviridae* ailesi içinde *Aphthovirus* genusuna ait tek iplikçikli pozitif polariteli bir RNA virüsüdür. O, A, Asia, SAT 1-2-3, C isimleriyle bilinen ve aralarında çapraz bağışıklığın bulunmadığı 7 serotip içerir. Virusun RNA virüsü olması ve çok fazla mutasyon geçirmesi nedeniyle her bir serotip kendi içinde çok sayıda alt tiplere sahiptir (Fry ve ark., 2005). Ülkemizde hastalık mücadelesinde yıllardır düzenli aşılama uygulaması önemli bir yer tutar (Çokçalışkan ve ark., 2017; Sareyyüpoğlu ve ark., 2019). Doğal enfeksiyon geçiren hayvanlarda olduğu gibi aşı uygulanan hayvanlar da şap hastalığına yakalandıktan sonra taşıyıcı

olabilmektedir. Bu nedenle, endemik ülkelerde aşı sürülerde taşıyıcı hayvanların belirlenmesi, hastalık kontrolü bakımından önemlidir.

Bu derlemede şap enfeksiyonu ve taşıyıcılık durumu ile ilgili geçmişten günümüze yapılan çalışmalar değerlendirilmiş, gelecekte bu konu ile ilgili yapılması gereken noktalar üzerinde durulmuştur.

Persiste şap virüsünün özellikleri

Şap hastalığı genel olarak akut seyirli bir enfeksiyon olarak bilinmektedir. Ancak enfeksiyonun kronik bir durum aldığı persiste enfeksiyon seyri de bulunmaktadır. Hastalığa duyarlı, aşısız hayvanlarda akut enfeksiyon; farenks bölgesinde primer virus replikasyonunu takiben, virusun kan dolaşımına katılmasıyla oluşan viremi sonrasında lezyonların görülmesi ve ardından virustan arınma ile son bulur. Akut seyirli şap enfeksiyonu oldukça bulaşıcıdır. Ağız ve ayaklarda şekillenen veziküllere bağlı artan

salivasyon ve topallık en belirgin klinik semptomlardır. Mukozal dokularda epitel kaybı nedeniyle iştahsızlık, süt ve et veriminde düşme gözlenir. Akut seyirli şap hastalığı 14-21 gün arasında değişen sürelerde seyrini tamamlar. Erişkin hayvanlarda mortalite düşük olmasına rağmen genç hayvanlarda kalp kas tutulumu nedeniyle mortalite gözlene bilmektedir (Fry, 2005; Stenfheldt ve Arzt, 2020). Şap persiste enfeksiyonu veya taşıyıcılığı ise viremi yaşanmadan ya da klinik semptomlar gözlenmeden virusun konakçı bağışıklık yanıtından kaçarak primer replikasyon bölgesi olan farenkste replikasyonunu sürdürmesidir. Farenks bölgesinde replikasyon ve viremi safhasından 28 gün sonra replikasyon yeteneğindeki virüsü farenks bölgesinde hala tutabilen hayvan, persiste enfeksiyon geçiren ya da taşıyıcı hayvan olarak tanımlanır (Salt, 1993). Şap persiste enfeksiyon geçiren bir hayvanın sonunda virustan arındığı bilinmektedir (Alexandersen ve ark., 2002; Arzt ve ark., 2018; Stenfheldt ve Arzt, 2020).

Persiste virusun mukozal bariyerleri aşarak farenkste duyarlı epitel hücrelere girdiği bilinmektedir. Şap taşıyıcı hayvanın dolaşım sisteminde şap virusuna karşı yüksek düzeyde antikor mevcut olmasına rağmen virus sadece orofarenks bölgesinde canlılığını devam ettirebilmektedir (Sutmoller ve Casas, 2002). Farenks bölgesinde virus bulunmasına rağmen kemik iliği, lenf bezleri, kas veya meme dokusunda virus belirlenmemiştir. Virusun farenks ve yumuşak damağın dorsal yüzeyinde belirlenmesi nedeniyle farenks bölgesinin, özellikle nazofarenks kısmının persiste virusun ilk lokalizasyon ve replikasyon yeri olabileceğini bildirilmiştir (Stenfheldt ve Arzt, 2020; Pacheco ve ark., 2015). Bu bölgenin boynuzlaşmış kornifiye epitelle kaplı olmaması nedeniyle virus girişine, dolayısıyla enfeksiyona daha açık olduğu, burada virusun kendisine sürekli replikasyonunu sağlayacak mevcut programlı hücre bölünmesi yaşayan bazal epitel hücreleri tercih ettiği belirtilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002). Yapılan bir çalışmada (Stenfheldt ve ark., 2019) hayvan türleri arasında persiste virusun yerleşim yeri üzerine inceleme yapılmış, sonuç olarak koyunlarda akut ve persiste enfeksiyon bölgeleri olarak belirlenen dokuların sığırlara göre domuzlarda farklı bir bölge olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma, tür bazında persiste virusun yerleşim yeri bakımından yeni bilgiler sağlamıştır. O'Donnel ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada ise sığır tiroid persiste enfekte hücrelerinde; virusun plak oluşturma büyüklüğü, farklı hücre hatlarında üreme kabiliyeti, integrin reseptörü kullanımında değişiklik oluşturabilmesi gibi yeni özellikleri tespit edilmiş, enfekte hücre kültürlerinde virusun ve hücrenin bir seri evrim geçirdiği belirlenmiştir. Bir başka çalışmada (Han ve ark., 2018) ise persiste virusun sekansları transkriptik çalışma düzeyinde incelenmiş, persiste yönde

evrimleşmiş hücrelerin normal hücrelere göre daha güçlü bir bağışıklık yanıtı gösterdiği bildirilmiştir.

Persiste şap enfeksiyonunun oluşum mekanizması

Genel olarak persistens, virüs ve konakçıda hücresel gen ekspresyonu ve bağışıklık tepkisinde gerçekleşen çeşitli modifikasyonlar ile oluşur (Oldstone, 2006). Viruslar farklı mekanizmalar kullanarak persiste enfeksiyona yol açabilir ve persistens mekanizması; virüsün replikasyon tipi (lytical, lysogenical), genom tipi (RNA, DNA) ya da hedef hücreye yani konakçıya bağlıdır. Minimum sayıda enfekte hücrenin yaşamaya devam etmesi, viral persistensin kurulması için temel koşuldur. Bu durumda virüs, konakçı olduğu hücreyi öldürmeden ya da aşırı zarar vermeden yaşamayı seçmektedir (Oldstone, 2006). Taşıyıcılık, hücrenin fonksiyonel reseptörlere sahip olduğu ancak bu reseptörlerin düşük etkinlikte kullanıldığı sonuçta hücre içinde viral replikasyonun sınırlandırıldığı bir durumda gerçekleşir (Saiz ve Domingo, 1996). Normalde konak hücre-sini lize eden şap virusu, persiste enfeksiyon oluşturmak için çok uygun özellikte değildir. Şap virusunun sitopatik etki göstermeden hücreyi enfekte edebilmesi için virüsün geçirdiği seleksiyona bağlı olarak nonlitik karakterde virus varyantlarının ortaya çıkmasının etkili olduğu bildirilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002; Zhang ve Kitching, 2001). Virusun konakçı bağışıklık yanıtından kaçabilmesi ise mutasyonların çok sık görülmesi nedeniyle oluşan varyant virusların konakçıda farenks bölgesine yerleşip düşük hızda replike olmasıyla açıklanmıştır (Salt, 1993). Ayrıca virulens artıçça persistensin daha kolay oluştuğu saptanmıştır (Saiz ve Domingo, 1996; Maree ve ark., 2016).

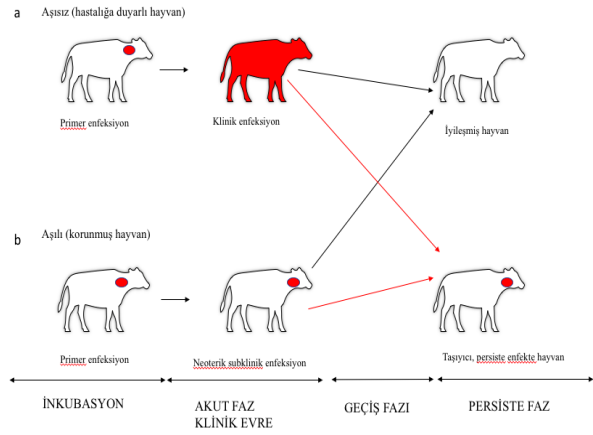
Taşıyıcılık mekanizmasını açıklayan baskın yaklaşım, farenkste şap virusu persistensi ile ilgili hücrelerin immünolojik olarak ayrıcalıklı oldukları, bu durumun bu hücrelerin geçirdikleri bir reseptör hücre regülasyonuna (down regülasyon) bağlı olduğu şeklindedir (Alexandersen ve ark., 2002; Pacheco ve ark., 2015). Böylece virus, enfekte ettiği hücrede MHC sınıf I'ler tarafından antijen sunulmasını baskılayarak sitotoksik T lenfositlerinin etkisinden kaçabilir (Childerstone ve ark., 1999). Persistens kurulmasındaki hassas dengede özellikle sitokinlerin önemli rolü olabileceği bildirilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002). Bu konuda yapılan bir çalışma (Pacheco ve ark., 2015) sonucunda nazofarengeal mukozada bazı sitokinlerin ekspresyonlarında azalma olduğu gösterilmiştir. Koyun, keçi, sığır ve manda türleri üzerinde yapılan bir diğer çalışmada (Parida ve ark., 2006) ise persistens durumunda hücresel immunitenin baskılandığı bildirilmiştir.

Proteogenomik düzeyde yapılan bir başka çalışmada ise (Pfaff ve ark., 2019), akut ve persiste enfeksiyon sırasında çeşitli farklılıklar tespit edilmiştir. Akut enfeksiyonda, interferon stimule eden genlerin aşırı

ekspresyonu nedeniyle apoptoz ve antiviral aktiviteyi işaret eden proteinlerin üretimi artmış, persiste enfeksiyonda ise tam tersine azalmıştır. Şap persistensi, 1950'li yıllarda tanımlanmasının üzerinden uzun yıllar geçmesine rağmen organizmada şap taşıyıcılığının kurulması ile ilgili mekanizmalar üzerinde hala bilgi boşlukları mevcuttur. Ancak son yıllarda virusun mikro-anatomik düzeyde replikasyon yeri ve persistensin kurulmasını kolaylaştıran konakçı cevabının açıklanması üzerinde oldukça ilerleme kaydedildiği bildirilmiştir (Stenfeldt ve Arzt, 2020). Persiste şap enfeksiyonu sırasında virüsün konakçı hücrelerle etkileşime girdiği, birlikte evrime uğradığı dolayısıyla konakçı hücrelerdeki değişikliklerin persiste enfeksiyonun kurulmasında belirleyici bir rol oynadığı bildirilmiştir (Han ve ark., 2018). Bu nedenle persiste enfeksiyonda şap ile enfekte dokuların konağa özgü cevabının hücresel düzeyde aydınlatılmasının şap persistens mekanizmalarının daha net anlaşılmasına imkan sağlayacağı bildirilmiştir (Stenfeldt ve Arzt, 2020)

Subklinik enfeksiyon ve taşıyıcılık (persistens)

Persiste enfeksiyonla sıkça karıştırılan ve persiste enfeksiyon yerine kullanılan "subklinik enfeksiyon", klinik belirtiler gözlenmeden enfeksiyonun geçirilmesidir. İki çeşit şap subklinik enfeksiyonu vardır. Bunlardan birisi "neoterik subklinik enfeksiyon" diğeri ise "persiste enfeksiyon-taşıyıcılık" olarak adlandırılır. Neoterik kelime olarak çok yeni anlamına gelmektedir. Neoterik subklinik enfeksiyon, akut ve persiste enfeksiyon arasında geçiş fazı olarak tanımlanabilir. Neoterik subklinik enfeksiyon, aşıllı hayvanlardaki (klinik olarak hastalıktan korunmuş hayvan) akut şap enfeksiyonunu ifade etmektedir. Aşıllı hayvanlarda virus, primer replikasyon bölgesi farenkste kalır yani viremi yaşanmaz dolayısıyla klinik belirtiler gözlenmez (Sutmoller ve Casas, 2002; Stenfeldt ve Arzt, 2020). Neoterik subklinik enfeksiyonda persiste enfeksiyona göre oronazal sekresyonlar ile daha yüksek virus saçılımı olduğundan neoterik subklinik enfeksiyonda hayvanın enfeksiyonunu daha fazla bulaştırıp yayabildiği öngörülmektedir (Stenfeldt ve Arzt, 2020). Şap hastalığına duyarlı veya aşıllı bir hayvan, geçiş fazı sonrasında iki ayrı enfeksiyon fazı geçirebilir. Buna göre, akut enfeksiyonun hemen ardından virustan arınmanın ve iyileşmenin gerçekleştiği normal seyirli şap enfeksiyonu veya virusun orofarenks bölgesinde uzunca bir süre kaldığı persiste enfeksiyonu geçirebilir (Şekil 1), (Stenfeldt ve Arzt, 2020)



Şekil 1. Aşılı ve aşızsız hayvanlarda şap enfeksiyonunun zamana bağlı ilerleyişi **a)** Hastalığa duyarlı bir hayvanda; virus, farenks bölgesinde primer replikasyonu takiben geçirilen viremi ve buna bağlı olarak klinik belirtilerin görülmesiyle akut enfeksiyon oluşabilir. Enfeksiyon iki şekilde sonuçlanabilir. Hayvan tamamen virustan arınarak iyileşebilir veya virus farenks bölgesinde kalarak hayvan şap virüsü taşıyıcı konuma geçebilir **b)** Aşıllı (korunmuş) hayvanda; virus, farenks bölgesinde primer replikasyonu takiben klinik tablonun gözlenmediği neoterik subklinik enfeksiyon fazını geçirebilir. Bu faz sonrasında, enfeksiyon iki şekilde sonuçlanabilir. Hayvan tamamen virustan arınarak iyileşebilir veya virus farenks bölgesinde kalarak hayvan şap virüsü taşıyıcı konuma geçebilir (Stenfeldt ve Arzt, 2020).

Taşıyıcılık ve konakçı

Şap taşıyıcılığı Afrika mandaları, sığır, koyun ve keçilerde belirlenmiş, domuzlarda ise tespit edilememiştir (Moonen ve Schrijver, 2000; Paton ve ark., 2017). Bu türün enfekte olabilmesi için muhtemelen daha yüksek dozda virusa veya farklı mekanizmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir (Arzt ve ark., 2018). Şap hastalığında virustan arınmada fagositoz ve antikor aracılı mekanizmaların sorumlu olduğu bilinse de virusun hücre içinden temizlenmesinde hücresel immunitenin etkili olduğu düşünülmektedir. Domuz ve sığırdaki hücreli immün yanıt bakımından özellikle hücre içindeki virusun arınma mekanizmaları bakımından farklılıklar olduğu düşünülmektedir (Stenfeldt ve Arzt, 2020). Domuzlarda sığırlara göre virustan hızla arınmada etkili olan daha yüksek titreli ve hızlı nötralizan antikor yanıtı, mukozal bağışıklığın da bu türde efektif olduğunu işaret etmektedir (Francis ve Black, 1983). Mukozal bağışıklığı uyarmak için domuzlarda tek doz aşı yeterliyken, sığırların tekrarlayan aşı uygulamasına gereksinim duyduğu saptanmıştır (Francis ve Black, 1983). Bu nedenle domuzlarda taşıyıcılığın görülmemesi, mukozal bağışıklık ile ilişkilendirilebilmektedir.

Taşıyıcılık süresi

Taşıyıcılık süresi; hayvan türü ve ırkı, aşılama, klinik tablonun durumu, bağışıklık durumu, bireysel farklılıklar, şap virusunun serotipi ve suşuna göre değişebilmektedir. Mandalar 5 yıl, sığırlar 3 yıl ve koyunların ise virüsü 9 ay kadar taşıyabileceği belirtilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002; Stenfeldt ve Arzt, 2020). Persistens periyodunda zaman ilerledikçe virusun izolasyonu şansı azalmaktadır (Mooenen ve Schrijver, 2000). Uzun süren taşıyıcılık ayrıca virusun sirkülasyon süresini uzatarak bir sürüde yayılabilmekte ve yeni varyantların çıkışına olanak sağlamaktadır (Ferreira ve ark., 2015; Saiz ve Domingo, 1996). Farooq ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada, 12 ay boyunca otuz farklı süt işletmesinden orofarengeal örnekleme yapmışlar, RT-PCR ve sekans analizleri sonucunda klinik hiçbir belirti olmadan yeni virus varyantlarının bölgeye girdiğini belirlemişlerdir. Bu nedenle, taşıyıcılığın şap endemik ülkelerde yeni salgınlara yol açan genetik varyasyonların kökeni olmasının mümkün olduğu düşünülmektedir.

Taşıyıcı hayvanların hastalığın bulaş ve yayılışında rolü

Genel anlamda taşıyıcı hayvan, virüsü saçma ve enfeksiyon riski oluşturabilme riski olan hayvandır. Ancak bu tanım şap virusuna tam olarak uymamaktadır. Bu konu ile ilgili yapılan bir grup çalışmayı incelediğimizde, deneysel koşullarda taşıyıcı sığırdan sağlıklı olanlara bulaşın olmadığı bildirilmiştir (Dekker ve ark., 2008; Maree ve ark., 2016; Mooenen ve Schrijver., 2000). Ancak diğer grup çalışmayı incelediğimizde, (Dave 1994 a; Dave 1994b; Farooq ve ark., 2018; Salt, 1993), düzenli aşılanmayan enfeksiyona açık sürülerde ya da hayvan nakillerinde oluşan stres nedeniyle taşıyıcı hayvanların şap virusunu hassas hayvanlara transfer edebildiği bildirilmiştir (Hedger ve Condy, 1985). Bir çalışmada (Parthiban ve ark., 2015), deneysel koşullarda taşıyıcı olarak belirlenen hayvanların arasına aşısız naif hayvanlar katıldığında taşıyıcılardan sağlıklı sığırlara bulaş tespit edilememiştir. Deneysel çalışmalar ile taşıyıcı sığırdan sağlıklı sığıra bulaşın belirlenemediği ancak gerek saha gerekse deneysel koşullarda taşıyıcı Afrika mandalarından sağlıklı sığırlara bulaşın olabileceği yönünde bir fikir birliği mevcuttur (Dave 1994a; Dave 1994b; Hedger ve Condy, 1985). Hastalık ari bir bölgede yeniden arılığın elde edilmesinde belirli bir bekleme süresi belirtilmektedir. Bu sürenin belirlenmesindeki ana neden, sürüde mevcut taşıyıcı hayvanların hastalık bulaş ve yayılımda risk oluşturmalarıdır (Stenfeldt ve Arzt, 2020). Bu nedenle OIE, taşıyıcı hayvanın oluşturabileceği enfeksiyon riskini göz ardı etmemekte ve taşıyıcıların belirlenmesini önemsemektedir (OIE,

2019). Yapılan çalışmalar (Klein ve ark., 2008; Farooq ve ark., 2018) ile aşıları sürülere hiçbir klinik belirti göstermeden yeni enfeksiyon dolayısıyla serotip ve alt grupların girebildiği ve virusun asemptomatik olarak sürüde sirkülasyon gösterdiğini saptanmıştır.

Bir popülasyonda taşıyıcıların prevalansı; hayvan türü, hastalığın insidensi ve popülasyonun bağışıklık durumu gibi pek çok faktöre bağlıdır. Genelde bir şap salgını sonrası sürüde hayvanların %50'sinin taşıyıcı olduğu bildirilmiştir. Taşıyıcılığın şap hastalığının duyarlı sığırlarda %11 oranında hiçbir klinik belirti vermeden seyrettiği belirtilmiştir (Sutmoller ve Casas, 2002). Türkiye'de yayınlanan bir çalışmaya göre (Gürhan ve ark., 1993) ise, taşıyıcılık sığır ve koyunlarda sırasıyla %18.4 ve 16.8 oranlarında saptanmıştır.

Taşıyıcılık durumunda bağışıklık

Persiste enfeksiyonda bağışıklık sistemi yanıt oluşturmadan önce, şap virüsü farengal bölgeye yerleşir, replike olur ve bu bölgenin dokusunu enfekte eder. Böylece virus kendini belli bir bölgede sınırlayarak immun sistem savunmasından kaçır. İstisnai durumlar olsa da taşıyıcı hayvanın virüstan tamamen arındığı bilinmektedir. Bu arınmada nötralizan antikorlar yeterli değildir, hücrel ve mukozal immunité etkilidir. Çünkü şap enfeksiyonu geçirmiş ya da aşılanmış hayvanlarda yüksek nötralizan antikor titresi bulunmasına rağmen persiste enfeksiyon geçirebildikleri görülmüştür. Taşıyıcılık durumunda virusun giriş ve replikasyon yeri nazofarengeal bölge olduğu için, şap hastalığına karşı oluşan bağışıklıkta mukozal immün yanıt ayrı bir öneme sahiptir. Şap virusuna spesifik mukozal nötralizan antikor yanıtı, enfeksiyon sonrası yedinci günde saptanmıştır (Francis ve Black, 1983). Taşıyıcı hayvanlarda akut şap enfeksiyonu geçiren hayvanlara göre hem serum, hem de orofarengeal sıvıdaki nötralizan antikor etkinliği, antijenik uyarımın sürekliliğine bağlı olarak daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Bu durum taşıyıcılıkta immün sistemin her iki kompartımanının (humoral ve hücrel) uyarıldığını göstermektedir (McVicar ve Sutmoller, 1974).

Sığırların tekrarlayan bir şekilde inaktif şap aşısına maruz bırakılmaları durumunda IgA'nın üst solunum yolunun mukozal sekresyonlarında belirlenebildiği bildirilmiştir (Alexandersen ve ark., 2002; Salt, 1993). Bir çalışmada (Francis ve Black, 1983) yağ adjuvanlı aşılarla hayvanları aşılanmış, ancak ikinci aşılamadan sonra farengal sıvıda mukozal antikor yanıtı tespit edebilmişlerdir. Bir diğer çalışmada koyunlara normal dozun altı katı şap aşısı uygulamış ve aşılamadan dokuz gün sonra nazal sıvıda IgA tespit edilmiştir (Gibson ve ark., 1984). Kısacası aşılama ile taşıyıcılığın baskılanmasında aşı kalitesi, aşı uygulama aralığı ve kullanılan adjuvant belirleyici faktörlerdir. Bu nedenle, uygulanma aralığı belirlenmiş, yüksek potensli

aşı uygulamasının şap enfeksiyonlarını ve dolayısıyla taşıyıcılığı baskılayabileceği söylenebilir (Çokçalışkan ve ark., 2017; Doel, 1994; Doel, 2005). Bununla birlikte, aşılama ile sağlanacak mukozal yanıtın enfeksiyon sonrası kazanılacak immün yanıtın biraz farklı olduğu bilinmelidir. Çünkü sadece doğal enfeksiyon veya ancak mukozal yolla (oral ya da nasal) aşılama sonrasında üst solunum ve gastrointestinal sistem sıvılarında lokal bir antikor yanıtı saptanabilmektedir (Archetti ve ark., 1995; Francis ve Black, 1983). Ayrıca aşıyla hayvanda yumuşak damakta enfeksiyon tespit edilmesi, mukozal yanıtın klasik aşılarla desteklenemeyeceğini göstermektedir (Alexandersen ve ark., 2002). Mukozal bağışıklığı uyarmak için domuzlarda tek doz aşı yeterliyken, sığırların tekrarlayan aşı uygulamasına gereksinim duyduğu saptanmıştır (Francis ve Black, 1983).

Taşıyıcı hayvanların belirlenmesinde kullanılan tanı yöntemleri

Taşıyıcı hayvanlar hücre kültürlerine (primer dana tiroid veya böbrek hücre kültürleri) ekim (direkt virus izolasyonu), NSP ELISA testleri, IgA ELISA, Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot (EITB) ve RT-PCR yöntemleri ile belirlenebilir (Parida ve ark., 2008; Sorensen ve ark., 1998; Zhang ve Alexandersen, 2003). Farenks bölgesinden özel bir alet (probang kabı) ile doku kazıntısı toplayarak elde edilen probang örnekleri, spesifik hücre kültürlerine ekim veya RT-PCR testlerinde kullanılır. Ancak probang örneklerinden virusun izolasyon kapasitesi pek çok faktöre bağlıdır. Orofarengeal sıvıdan virus saçılımının sürekli olmaması nedeniyle belli zaman aralıkları ile deneyimli kişiler tarafından örneklerin toplanması, doğru bir şekilde saklanması ve laboratuvara nakli gerekmektedir (Archetti ve ark., 1995).

Enfekte hayvanların aşıları olanlardan ayırımında kullanılan yapısal olmayan proteinler (NSP) ELISA testleri, aynı zamanda sürüdeki taşıyıcı hayvanları da belirleyebilmektedir (Brocchii ve ark., 2006; Sorensen ve ark., 1998). Şap aşısı üretiminde aşının purifikasyonu aşamasında NSP'ler elimine olmalıdır (OIE, 2019). Aşılı bir hayvanda sadece yapısal proteinlerine (SP) karşı antikor oluşurken, enfekte hayvanda her iki protein (NSP ve SP) grubuna karşı antikor oluşmaktadır (Brocchii ve ark., 2006; Sorensen ve ark., 1998). Bu bilgiden hareket ile NSP ELISA ile Şap virüsünün NSP proteinlerine karşı hayvan serumunda oluşan antikorların tespit edilmesi böylelikle enfekte (akut veya persiste) ve aşıları hayvan ayırımı yapılabilmektedir. NSP testlerin performansını etkileyen en önemli faktör, aşının NSP proteinlerinden ne kadar arı olduğudur (OIE, 2019; Sareyyüpoğlu ve ark., 2020).

Western Blotting testi olan Electrotransfer Immunoblot Assay (EITB) ise enfeksiyon göstergesi olan viral proteinlerin saptanmasında kullanılır (Bergman ve ark., 1993). Bu test, OIE'de tanımlı NSP ELISA testleri

için konfirmasyon testi olarak belirlenmiştir. Ancak testin uzmanlık gerektirmesi, çok sayıda örnekle çalışılmaması ve zaman alıcı olması gibi olumsuz tarafları mevcuttur.

Taşıyıcı hayvanların belirlenmesinde probang örneklerinden RT-PCR testlerinin oldukça başarılı olduğu bildirilmiştir (Farooq ve ark., 2018; Zhang ve Alexandersen, 2003). Ancak probang örneklerinden RT-PCR ile çalışıldığında başarılı sonuçlar almak için, hücre kültürleri ile viral izolasyon kısmında bahsedilen örnekleme yaparken dikkat edilmesi gereken noktalar unutulmamalıdır. Ayrıca PCR pozitif sonucun her zaman canlı virüsü, yani organizmada replike olup enfeksiyon oluşturacak yani bulaş kaynağı olacak virüsü göstermeyeceği bilinmelidir.

Archetti ve ark. (1995), şap spesifik IgA antikorlarının belirlenmesi için probang yerine saliva örnekleri kullanılmasının daha avantajlı olabileceğini bildirmiştir. Çünkü çalışmada probang örneklerine göre saliva örneklerinde şap spesifik IgA antikorlarının oldukça stabil kaldığı belirlenmiştir. Parida ve ark. (2006, 2008) tarafından yapılan çalışmalarda, farenkste şap virusu replikasyonunu belirlemek amacıyla saliva örneklerini solid faz IgA ELISA testi ile çalışmışlardır. Testin yapılan validasyon çalışması sonucunda %98 spesifite ve 89 sensitivitesi olduğu belirlenmiştir. Ancak geliştirildiği yıldan bu döneme IgA ELISA hala ticari kit formuna dönüştürülemez. Testin spesifitesini artırmak için 2021 yılında yapılan bir çalışmada (Biswal ve ark., 2021), IgA ELISA'nın NSP ELISA testleri gibi hayvana çok sayıda aşı uygulamasından etkilenmediği bu nedenle NSP ELISA testlerine göre oldukça avantajlı olduğu bildirilmiştir.

Sonuç

Hastalıkla mücadelede aşılamanın kullanıldığı Türkiye gibi endemik ülkelerde aşıları hayvanların enfekte ve taşıyıcı hayvanlardan ayrılması çok önemlidir. Taşıyıcı hayvanlardan olası bulaş ve yayılımı baskılamak için en uygun yolun kaliteli, yüksek potensli aşılarla düzenli aşılamanın yapılmasıdır (Çokçalışkan ve ark., 2017; Doel ve ark., 1994; Doel, 2005). Ancak aşı yeterli antijenik dozlarda uygulanmadığında organizmadan yeterli düzeyde virusun arınması sağlanmayacağından taşıyıcılığın gelişmesine zemin hazırlayabileceği unutulmamalıdır (Doel ve ark., 1994; Doel, 2005).

Hastalık teşhisinde taşıyıcı hayvanların sürüde tespitleri için yeni tanı metotları geliştirmek gerekmektedir. Bunun yanında mukozal aşılar geliştirilmesi, yeni aşı antijenleri ve adjuvantlar araştırılması, taşıyıcılığın önlenmesinde araştırmaya açık temel alanlardır. Ayrıca taşıyıcı hayvanın oluşumunda ilgili konakçı faktörleri, farklı konakçılarda karşılaştırmalı araştırmalar yapılması, konakçı reseptör düzeyinde incelemeler,

hücrel immünite, taşıyıcılıktan sorunlu genlerin belirlenmesi, salgınlar sonrası istatistikî simülasyon ve modelleme çalışmaları yapılarak taşıyıcılık oranları ve hastalık risklerinin daha kapsamlı değerlendirilmesi gibi konular güncel önem arz eden konulardır.

Kaynaklar

- Alexandersen S, Zhang Z, Donaldson AI. Aspects of the persistence of foot-and-mouth disease virus in animals-the carrier problem. *Microbes Infect* 2002; 4(10): 1099-110.
- Archetti, IL, Amodori M, Donn A, Salt J, Lodetti E. Detection of foot and mouth disease virus infected cattle by assesment of antibody response in oropharyngeal fluids. *J Clin Microbiol* 1995; 33(1): 79-84.
- Arzt J, Belsham GJ, Lohse L, Botner A, Stenfeldt C. Transmission of foot-and-mouth disease from persistently Infected carrier cattle to naive cattle via transfer of oropharyngeal fluid. *Clinic Sci and Epid* 2018; 3(5): e00365-18.
- Bergman IE, Mello PA, Neitzert E, Beck E. Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use of enzyme-linked immune electro transfer blot analysis with bioengineered nonstructural viral antigens. *Am J Vet Res* 1993; 54(6): 825-31.
- Biswal K, Nardo AD, Taylor G, Paton DJ, Parida S. Development and validation of a mucosal antibody (IgA) test to identify persistent infection with foot-and-mouth disease virus. *Viruses* 2021; 13(5): 814.
- Brocchi E, Bergmann IE, Dekker A, Paton DJ, Sammin DJ, Greiner M, Grazioli S, Simone DeF, Yadin H, Haas B, Bulut N, Maliat V, Neitzert E, Goris N, Parida S, Sorensen K, De Clercq K. Comparative evaluation of six ELISAs for the detection of antibodies to the non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus. *Vaccine* 2006; 24(47-48): 6966-79.
- Childerstone AJ, Baron CI, Foster-Cuavaz M, Parkhouse RM. Demonstration of bovine CD8⁺ T-cell responses to FMDV. *J Gen Virol* 1999; 80: 663-9.
- Çokçalışkan C, Türkoğlu T, Uzunlu E, Sareyyüpoğlu B, Hancı İ, İpek A, Arslan A, Babak A, İldeniz G, Gülyaz V. Influence of vaccine potency and booster administration of foot-and-mouth disease vaccines on the antibody response in calves with maternal antibodies. *J Vet Sci* 2017; 18(S1): 315-22.
- Dawe PS, Flanagan F, Madekurozwa RL, Sorensen KJ, Anderson EC, Foggini CM, Ferris NP, Knowles NJ. Natural transmission of foot-and-mouth-disease virus from African buffalo to cattle in a wildlife area of Zimbabwe. *Vet Rec* 1994a;134(10): 230-2.
- Dawe PS, Sorensen K, Ferris NP, Barnett ITR, Armstrong RM, Knowles NJ. Experimental transmission of foot-and-mouth-disease virus from carrier African buffalo to cattle in Zimbabwe. *Vet Rec* 1994b; 134(9): 211-215.
- Dekker TA, Vernooij H, Bouma A, Stegeman A. Rate of FMDV transmission by carriers quantified from experimental data. *Risk Anal* 2008; 28(2): 303-9.
- Doel TR. Natural and vaccine induced immunity to FMD. Mahy BW. ed. In: *Foot-and-Mouth Disease Virus*. Switzerland, Springer, 2005; pp.103-31.
- Doel TR, Williams L, Barnett PV. Emergency vaccination against FMD rate of development of immunity and its implications for the carrier state. *Vaccine* 1994; 12(7): 592-600.
- Farooq U, Ahmed Z, Naeem K, Bertram, M, Brito B, Stenfeldt C, Pauszek SJ, Larocco M, Rodriguez L, Arzt J. Characterization of naturally occurring, new and persistent subclinical foot-and-mouth disease virus infection in vaccinated Asian buffalo in Islamabad Capital Territory, Pakistan. *Transbound Emerg Dis* 2018; 65(6):1836-50.
- Ferreira DC, Pauszek HC, Ludi A, Huston CL, Pacheco VT, Lep T, Nyugen HH, Buit D, Nyugen T, Ngod T, Dol H, Arzt R. An integrative analysis of foot-and-mouth disease virus carriers in Vietnam achieved through targeted surveillance and molecular epidemiology. *Transbound Emerg Dis* 2015; 64(2):547-63.
- Francis MJ, Black L. Antibody response in pig nasal fluid and serum following foot-and-mouth disease infection or vaccination. *J Hyg (Lond)* 1983; 91(2): 329-34.
- Fry EE, Stuart DI, Rowlands DJ. The structure of foot -and-mouth disease virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005; 288: 71-101.
- Gibson CF, Donaldson, AI, Ferris NP. Response of sheep vaccinated with large doses of vaccine to challenge by airborne foot and mouth disease virus. *Vaccine* 1984; 2(2): 157-61.
- Gürhan SI, Gürhan B, Öztürkmen A, Candas A. Anadolu'da şap ile persiste enfekte sığır ve koyunlarda taşıyıcılık oranları. *Etlık Vet Mikrobiyol Derg* 1993; 7(4): 52-59.
- Han L, Xiu X, Wang H, Li J, Hao Y, Wang M, Zheng C, She C. Cellular response to persistent foot-and-mouth disease virus infection is linked to specific types of alterations in the host cell transcriptome. *Sci Reports* 2018; 8(1): 5074.

- Hedger RS, Condy JB. Transmission of FMD from African Buffalo virus carriers to bovines. *Vet Record* 1985; 117(9): 205.
- Klein J, Hussain M, Ahmad M, Afzal M, Alexandersen S. Epidemiology of foot-and-mouth disease in Landhi dairy colony, Pakistan, the world largest Buffalo colony. *Virology* 2008; 5: 53.
- Maree F, De Klerk-Lorist LM, Gubbins S, Zhang F, Seago J, Martin EP, Reid L, Scott K, Schalkwyk LV, Bengis R, Charleston B, Juleff N. Differential persistence of foot-and-mouth disease virus in African buffalo is related to virus virulence. *J Virol* 2016; 90(10): 5132-40.
- Mcvicar JM, Suttmoller P. Neutralizing activity in the serum and oesophageal-pharyngeal fluid of cattle after exposure to foot-and-mouth disease virus and subsequent re-exposure. *Arch Virol* 1974; 44(2): 173-6.
- Moonen P, Schrijver R. Carriers of foot-and-mouth disease: a review. *Vet Q* 2000; 22(4): 193-7.
- O'Donnell V, Pacheco JM, Lorocco M, Gladue DP, Pauszek G, Smoliga G, Krug PW, Borca MV, Rodriguez L. Virus-host interactions in persistently FMDV-infected cells derived from bovine pharynx. *Virology* 2014; 468-470:185-96.
- Oldstone MBA. Viral persistence: Parameters, mechanisms and future predictions. *Virology* 2006; 344(1): 111-8.
- Pacheco JM, Smoliga GR, O'Donnell V, Brito BP, Stenfeldt C, Rodriguez LL, Arzt J. Persistent foot-and-mouth disease virus infection in the nasopharynx of cattle; tissue-specific distribution and local cytokine expression. *PLoS ONE* 2015; 10(5): e0125698.
- Parida S, Anderson J, Cox SJ, Barnett PV, Paton DJ. Secretory IgA as an indicator of oro-pharyngeal foot-and-mouth disease virus replication and as a tool for post vaccination surveillance. *Vaccine* 2006; 24(8): 1107-16.
- Parida S, Fleming L, Oh Y, Mahapatra M, Hamblin P, Gloster J, Paton DJ. Emergency vaccination of sheep against foot-and-mouth disease: Significance and detection of subsequent sub-clinical infection. *Vaccine* 2008; 26(27): 3469-79.
- Parthiban AB, Mahapatra B, Gubbins S, Parida S. Virus excretion from foot-and-mouth disease virus carrier cattle and their potential role in causing new outbreaks. *PLoS ONE* 2015; 10: e0128815.
- Paton D, Gubbins S, King DP. Understanding the transmission of foot-and-mouth disease virus at different scales. *Curr Opin Virol* 2017; 28: 85-91.
- Pfaff F, Hagglung S, Zoli M, Blaise BS, laloy E, Koethe S, Zühlke D, Riedel K, Stephan Z, Kassimi LB, Valarcher JF, Höper D, Beer M, Eschabaumer M. Proteogenomics uncovers critical elements of host response in bovine soft palate epithelial cells following in vitro infection with foot-and-mouth disease virus. *Viruses* 2019; 11(1): 53.
- Saiz JC, Domingo E. Virulence as a positive trait in viral persistence. *J Virol* 1996; 70(9): 6410-3.
- Salt JS. The carrier state in foot-and-mouth disease-an immunological review. *Br Vet J* 1993; 149(3): 207-23.
- Sareyyüpoğlu B, Çokçalışkan C, Çoşkuner A, Gulyaz V. Determination of non-structural protein level for Turkey foot-and-mouth disease vaccine antigens during in-process. *Clin Exp Vaccine Res* 2020; 9(2): 97-101.
- Sareyyüpoğlu B, Gulyaz V, Çokçalışkan C, Unal Y, Çökülgen T, Uzunlu E, Gürcan S, İlik O. Effect of FMD vaccination schedule of dams on the level and duration of maternally derived antibodies. *Vet Immunol and Immunopathol* 2019; 217: 109881.
- Sorensen KJ, Madsen KG, Madsen ES, Salt JS, Nqindi J, Mackay DK. Differentiation of infection from vaccination in foot and mouth disease by the detection of antibodies to the non-structural proteins 3D, 3AB and 3 ABC in ELISA using antigens expressed in baculovirus. *Arch Virol* 1998; 143(8): 1461-76.
- Stenfeldt C, Arzt J. Carrier conundrum: a review of recent advances and persistent gaps regarding the carrier state of FMDV. *Rev Pathogens* 2020; 9(3): 167.
- Stenfeldt C, Pacheco JM, Singanallur NB, Vosloo W, Rodriguez L, Arzt J. Virulence beneath the fleece; a tale of foot-and-mouth disease virus pathogenesis in sheep. *Plos One* 2019; 31;14(12): e0227061
- Suttmoller P, Casas OR. Unapparent foot and mouth disease infection (sub-clinical infections and carriers): implications for control. *Rev Sci Tech* 2002;21(3): 519-29.
- World Organisation for Animal Health (OIE). Infection with foot-and-mouth disease virus. [http:// www.oie.int/en/disease/foot-and-mouth-disease/#ui-id-2](http://www.oie.int/en/disease/foot-and-mouth-disease/#ui-id-2). Erişim tarihi: 27.07.2021.
- Zhang Z, Alexandersen S. Detection of carrier cattle and sheep persistently infected with foot-and-mouth disease virus by a rapid real-time RT-PCR assay. *J of Virol Methods* 2003;111(2): 95-100
- Zhang ZD, Kitching RP. The localization of persistent foot and mouth disease virus in the epithelial cells

of the soft palate and pharynx. *J Comp Pathol*
2001; 124(2-3): 89–94.

Yazım Kuralları

1. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'nde veteriner bilimlerini ilgilendiren alanlarda orijinal araştırmalar, olgu sunumları, araştırma notları, kısa bildiri, derleme ve editöre mektup yayımlanır.
2. Dergide yayımlanacak yayınlar için resmi dil Türkçe'dir. İngilizce yazılmış eserler de yayımlanabilir. **İngilizce hazırlanmış makalelerin yayımlanmasına öncelik verilir.**
3. Yayınlar A4 tipi formatta, çift aralık, Arial, 10 punto ve iki yana yaslı olarak yazılmalıdır. Her kenardan 2.5 cm boşluk bırakılarak, sayfaların sağ altına numara verilmelidir. Resimler, şekiller ve kaynaklar dâhil orijinal makaleler ve derlemeler 14, olgu sunumları, araştırma notu ve kısa bildiriler 7 sayfayı geçmemelidir.
4. Yazılar, ercvet@gmail.com adresine gönderilmelidir. Yazışmalar için, makale kapak sayfasında, sorumlu yazarın yazar adı, unvanı, ORCID numarası ve E-posta adresi yazılmalıdır.
5. Daha önce kongrelerde tebliğ edilmiş ve özeti yayımlanmış çalışmalar, bu durum kapak sayfasında belirtilmek üzere kabul edilir.
6. Araştırma herhangi bir kuruluş tarafından desteklenmiş ise kapak sayfasında dipnot olarak belirtilir.
7. Kapak sayfasında Türkçe makale başlığı (koyu ve ilk harfleri büyük), İngilizce başlık (ilk harfler büyük), kısa başlık (40 karakteri geçmemeli ve ilk kelimenin ilk harfi büyük, diğerleri küçük olarak yazılmalıdır), yazar adları (unvansız), çalıştıkları kuruma ait bilgiler (soyadı üstüne numara konulup dipnot olarak) verilmelidir.
8. Türkçe ve İngilizce özetlerin bir sonraki sayfaya yazılması gerekir. Bu sayfa, paragrafsız olarak Türkçe ve İngilizce özetleri (en fazla 250 kelime) içermelidir. Anahtar kelimeler özetlerin altına alfabetik olarak (virgülle ayrılmış şekilde) yazılmalıdır. Yalnızca ilk anahtar kelime büyük harfle başlamalıdır. **Türkçe Bilmeyen yazarlar için Türkçe özet ve anahtar kelimeler yazma zorunluluğu bulunmamaktadır.**
9. Araştırma makalesi; Kapak Sayfası - Özet (Türkçe ve İngilizce) - Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma ve Sonuç, Teşekkür, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller, Sorumlu yazar (Correspondence Author) bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir. Metin içindeki tüm başlıklar koyu yazılmalıdır. Metin içinde paragraf girintisi yapılmamalı, devamlı satır numarası verilmelidir.
10. Derlemeler, orijinal olması, en son yenilikleri içermesi, yazarların konu ile doğrudan ilişkili **en az 3 adet** çalışmalarının olması ve bunların derleme içinde kullanılması durumunda yayımlanmak üzere kabul edilebilecektir. Derlemeler kapak sayfası, Özet (Türkçe ve İngilizce), Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, konunun kendine ait alt başlıkları, Sonuç, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller ve Sorumlu yazar (Correspondence) bölümlerini içerecek şekilde düzenlenmelidir.
11. Olgu Sunumları, Özet (Türkçe ve İngilizce), Anahtar kelimeler (Türkçe ve İngilizce), Giriş, Olgu(lar), Tartışma ve Sonuç, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller ve Sorumlu yazar bölümlerini içermelidir.
12. Etik kurul onayı gerektiren çalışmalarda Etik Kurul onayı alınan kurumun adı ve onay numarası, çalışmanın Gereç ve Yöntem kısmında belirtilmelidir.
13. Tablo ve şekillerin metinde geçeceği yer, altı ve üstü çizgili olarak belirtilmelidir.
14. Ondalık ifadelerde nokta kullanılmalıdır.
15. Tür isimleri ve anatomik terimler gibi Latince ifadeler *italik* karakterle yazılmalıdır. Tüm ölçü birimleri SI (*Système Internationale*)'e göre verilmelidir.
16. Tablolar kaynaklar kısmından sonra, her bir tablo ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tablo başlıklarının yalnızca ilk harfleri büyük olmalıdır. Tablo başlıkları tablonun üzerinde bulunmalı ve **Tablo 1.** şeklinde numaralandırılmalıdır. Tablolarda iç ve yan kılavuz çizgiler kullanılmamalıdır. Tanımlayıcı bilgi ve açıklamalar tabloların altına yerleştirilmelidir.
17. Her resim, grafik ve çizim; şekil olarak kabul edilip **Şekil 1.** gibi yazılmalı, her biri ayrı sayfada olacak şekilde verilmelidir. Tanımlayıcı bilgi ve açıklamalar şekil ismi ile birlikte şeklin altına yerleştirilmelidir. Resimler 300dpi çözünürlükte olmalıdır.
18. Kaynaklar metin içinde cümle sonunda belirtilmelidir. Yazar soy isimleri ve tarihi yazı içinde her kaynağa ait yayın yılı yazar isminden hemen sonra parantez içinde belirtilmelidir. Kaynak iki isimli ise isimler belirtilmeli (örn; Kaldhone ve Nayak, 2008). Kaynakta yazar sayısı ikiden fazla ise sorumlu yazar "ve ark." şeklinde belirtilmelidir (örn, Kaldhone ve ark., 2008). Eğer kaynak cümlenin başında kullanılıyorsa yazar isimlerinden sonra parantez içinde yayın yılı belirtilmelidir.
19. Kaynaklar yazılırken alfabetik sıraya konulmalı, kaynaklar bölümünde 0.5 cm içeri doğru asılı halde yazılmalıdır. Noktalama işaretlerine örneklerde gösterildiği şekilde dikkat edilmelidir. Dergi kısaltmaları *Index Medicus* ile uyum içerisinde olmalıdır. **Orijinal araştırma makaleleri, derlemeler ve olgu sunumları sırasıyla 30, 45 ve 15'ten fazla kaynak içermemelidir.**
Kaynaklar;
19.1. Kaynak süreli yayın ise;
Örnek: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaid DE, McDermott PF. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from Turkey-associated sources. Appl Environ Microbiol 2008; 74(16): 5038-46.
19.2. Kaynak editörlü kitaptan bir bölüm ise;
Örnek: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Krusibeek AM, Marguiles DH. eds. In: Current Protocols in Immunology. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
19.3. Kaynak kitap ise;
Örnek: Fleiss JL. Statistical Methods for Rates and Proportions. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103.
19.4. Kaynak editörlü kitap ise;
Örnek: Balows A, Mousier WJ, Herramafli KL, eds. Manual of Clinical Microbiology. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
19.5. Kaynak kongre bildirisi ise;
Örnek: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; İzmir-Türkiye.
19.6. Kaynak tez ise;
Örnek: Erdem V. Köpek göz hastalıklarında klinik oftalmoskopik ve ultrasonografik bulguların değerlendirilmesi, Doktora tezi, Ankara Üniv Sağ Bil Ens, Ankara 2003; s. 1-2.
19.7. Kaynak internette bulunan bir web sitesi ise;
Örnek: TÜİK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/hayvancilik.app/hayvancilik.zul>; Accessed Date: 14.03.2010.
20. Eserler dergide yayımlandıktan sonra, bütün sorumluluk sahiplerine aittir.
21. Yazılar gönderilirken son kontrol listesi izlenecek ve "Telif Hakkı Devir Formu" tüm yazarlarca isim sırasına göre imzalanacaktır. **Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmayan yayınlar işleme alınmayacaktır.**

Instructions to Authors

1. The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University publishes original research articles, short communications, case reports, letter to editor and original review articles related to the field of Veterinary Medicine.
2. Formal language of manuscripts is Turkish. Manuscripts in English are also accepted. **The publication of English-language manuscripts is given priority.**
3. Publications should be in A4 format, double spacing and Arial 10 font size. With a margin of 2.5 cm from each edge, the page number should be placed at the bottom right of the pages. Original articles and reviews should not exceed 14 pages and case reports, research notes and short papers should not exceed 7 pages including illustrations, figures and references.
4. Manuscripts should be sent to ercvet@gmail.com. For correspondence, author's name, title, ORCID number, and E-mail address should be written on cover page of the manuscripts.
5. Studies were presented in a meeting and published as an abstract can be published with indication of this status at the bottom of the cover page.
6. Information should be included on any institutions financially contributed to the study as a footnote on the cover page.
7. The cover page should be supplied as a separate page and include: Turkish running title (bold and first letters capital), English title (first letters capital), short title (max 40 characters and first letters of first word is capital, others should be written as small), author(s) names (without titles), author(s) affiliations (Superscript numbers should be given to the surnames of authors as affiliation information).
8. The summaries in Turkish and English should be written on the next page. The title page must contain the Turkish and English summaries (up to 250 words) with no paragraph and not more than five Key words in Turkish and English. Key words must be placed below summary with an alphabetical order (comma delimited). Only the first Key word must start with a capital letter. **For non-Turkish authors, there is no obligation to write summary and keywords in Turkish.**
9. Original research paper must be organized as follows: Cover page, Summary (Turkish and English), Key words (Turkish and English), Introduction, Material and Methods, Results, Discussion and Conclusion, Acknowledgements, References, Tables and Figures and Correspondence. All titles in the text should be written in bold. There should be no paragraph indent in the text and continuous line number should be given.
10. Review articles are considered for publications if they are original and contain recent developments and accepted for publication if the authors have **at least 3 papers** directly related to the subject. Reviews must be organized as follows: Summary (Turkish and English), Key Words (Turkish and English), Introduction, Sub-headings of the subject, Conclusion, Acknowledgements, References, Tables and Figures and Correspondence.
11. Case reports must be organized as follows: Summary (Turkish and English), Key Words (Turkish and English), Introduction, Case(s), Discussion and Conclusion, Acknowledgements, References, Tables and Figures and Correspondence.
12. In the studies requiring the ethics approval, the name and approval number of the institution of the Ethics Committee must be specified in the Materials and Methods section of manuscript.
13. The place where the tables and figures belong in the text should be indicated as underlined and upperlined.
14. Decimal expressions should be used in the dot.
15. Species names and anatomical terms in Latin should be italicized. All measurement specifications must follow the SI (Système Internationale) units.
16. Tables must be given in a separate page after the text. First letters of first word should be capital, others should be written as small in the headings of the tables. Title of tables and figures should be numbered in order as **Table 1**. Internal and lateral lines should not be used in the tables. Descriptive information and explanations should be placed below the tables.
17. Each picture, graphic and drawing; should be given as figure and should be written as **Figure 1**. Each one should be on a separate page. Descriptive information and explanations should be placed below the figures. Pictures should be the least 300dpi resolution.
18. References should be specified in the text at the end of the sentence. Author surnames and the date of publication should be specified in parentheses. If the reference has two names, the names should be given after the publication year (eg, Kaldhone and Nayak, 2008). If the reference has more than two names should be given as "et al.," (eg, Kaldhone et al., 2008). If the source is used at the beginning of the sentence, the year of publication should be specified in parentheses after the names of the authors.
19. References should be placed in alphabetical order and hanging 0.5 cm inwards in the references section. Punctuation should be taken into consideration as shown in the examples, Journal abbreviations must be in line with *Index Medicus*. **The reference list must not contain more than 30, 45, and 15 references for original research articles, reviews and case reports, respectively.** References;
 - 19.1. If the reference is a periodical, citation must be done as shown below;
Example: Kaldhone P, Nayak R, Lynne AM, Dvaidd DE, McDermott PF, Logue CM, Foley SL. Characterisation of *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from turkey-associated sources. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74(16): 5038-46.
 - 19.2. If the reference is from chapter of a book with an editor, citation must be done as shown below;
Example: Hornbeck P. Assay for antibody production. Colign JE, Kruisbeek AM, Marguiles DH. eds. In: *Current Protocols in Immunology*. New York: Greene Publishing Associates, 1991; pp. 105-32.
 - 19.3. If the reference is a book, citation must be done as shown below;
Example: Fleiss JL. *Statistical Methods for Rates and Proportions*. Second Edition. New York: John Wiley and Sons, 1981; p.103.
 - 19.4. If the reference is whole book with an editor, citation must be as below;
Example: Balows A, Mousier WJ, Herramafl KL, eds. *Manual of Clinical Microbiology*. Fifth Edition. Washington DC: IRL Press, 1990; p. 37.
 - 19.5. If the reference is from meeting, citation must be done as shown below;
Example: Entrala E, Mascarp C. New structural findings in *Cryptosporidium parvum* oocysts. Eighth International Congress of Parasitology (ICOPA VIII). October, 10-14, 1994; Izmir-Türkiye.
 - 19.6. If the reference is from a thesis, citation must be done as shown below;
Example: Erakinci G. Investigation of Antibodies Against Parasites in Blood Donors. PhD Thesis. Ege Univ. Institute of Health Sciences. Parasitology Program, Izmir-Turkey, 1993.
 - 19.7. The reference is a website on the internet, citation must be done as shown below;
Example: TUIK. Hayvancılık İstatistikleri. <http://www.tujk.gov.tr/hayvancilik.app/hayvancilik.zul>; Accessed Date: 14.03.2010.
20. Once the studies one published in the journal, all the responsibility belongs to the authors.
21. The final checklist should be followed when submitting manuscripts and the "Copyright Release Form" must be signed by all authors in order. **Manuscripts which are not prepared in accordance with the "Instructions for authors" will not be processed.**

TELİF HAKKI DEVRİ / COPYRIGHT RELEASE
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ VETERİNER FAKÜLTESİ DERGİSİ / JOURNAL OF FACULTY OF
VETERINARY MEDICINE, ERCIYES UNIVERSITY

Makale Türü/ Article Type:

.../.../20..

(...) Araştırma / Research (...) Derleme / Review (...) Kısa Bilimsel Çalışma / Short Communication

(...) Olgu Sunumu / Case Report (...) Editöre Mektup / Letter to Editor

Makale Başlığı/Article

Entitled:.....
.....
.....

Sayın Editör,

- Yayınlanması dileğiyle Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne gönderdiğimiz makalenin yazarları olarak;
- 1- Derginizde yayımlanmak üzere yollamış olduğumuz makalenin orijinal olduğunu; bilimsel ve etik sorumluluğunun bize ait olduğunu,
 - 2- Makalenin; daha önce yayımlanmadığını, derginizdeki değerlendirme sürecinde başka bir yayın organına yayımlanmak üzere gönderilmediğini ve gönderilmeyeceğini,
 - 3- Makalenin; kişilik ve telif haklarına aykırı kanun dışı maddeler içermediğini,
 - 4- Gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her türlü yayın hakkını, yazının yayımlandığı günden itibaren Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi'ne ait olduğunu kabul ve beyan ederiz.

Dear Editor,

Here we affirm and warranty as the Author(s) of this manuscript submitted to Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University that;

- 1- The manuscript /We submitted to the Bulletin is original and responsibilities belong to us ethically and scientifically,
- 2- The manuscript has not been previously published, being considered for publication by any other journal and will not be submitted to any other journal for such review while under evaluation by this bulletin,
- 3- The manuscript contains no unlawful statements and does not contain any materials that violate any personal or proprietary rights.
- 4- The Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University reserves all rights with due corrections from the date it has been published onwards.

Yazar/ Yazarların Adı

Author's/Authors' Printed Name

1).....İmza/Signature:.....

2).....İmza/Signature:.....

3).....İmza/Signature:.....

4).....İmza/Signature:.....

5).....İmza/Signature:.....

Not/Note: Formu aşağıdaki adrese,e-mail ya da posta yolu ile gönderiniz veya elden teslim ediniz./ Please send this form to the address below by e-mail, post or deliver personally.

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi / Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes University
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi Editörlüğü, 38039, Melikgazi-KAYSERİ / TÜRKİYE
Tel/Phone: 0352 339 94 84 Faks/Fax: 0352 337 27 40 e-posta/e-mail: ercvet@gmail.com

SON KONTROL LİSTESİ

Makalenizi göndermeden önce lütfen bu bölümdeki maddelerle karşılaştırma yapınız ve eksiklikleri gideriniz.

- Eksiksiz doldurulmuş ve bütün yazarlarca imzalanmış **“Telif Hakkı Devri Formu”** (<http://ercvet.gmail.com> adresinden ulaşabilirsiniz) makale ile birlikte gönderildi.
- Metnin tamamı çift aralıklı (5 mm) yazıldı (özetler, tablolar, şekil alt yazıları, kaynaklar v.d. dahil).
- Her bir kenarda 2,5 cm boşluk bırakıldı.
- Yazılar 10 punto (Arial) ile yazıldı.
- Satır numaraları verildi.
- Kapak sayfasında, makalenin başlığı (sadece yazım dilindeki) koyu (bold) yazıldı, kısa başlık eklendi.
- Kapak sayfasında, yazar isimleri açık olarak yazıldı (kısaltma yok).
- Kapak sayfasına dipnot (varsa) eklendi.
- Türkçe başlık yazıldı.
- Türkçe özet yazıldı.
- Türkçe anahtar kelimeler (alfabetik sıralı ve ilk kelimenin ilk harfi büyük diğerleri küçük harfle yazıldı) verildi.
- İngilizce başlık yazıldı.
- İngilizce özet yazıldı.
- İngilizce anahtar kelimeler verildi.
- Şekillerin orijinal halleri eklendi.
- Metin içinde şekiller ardışık numaralandı.
- Şekil boyutları min.=8x20; max.=16x20 cm.
- Metin içinde tablolar ardışık numaralandı.
- Tablo boyutları min.=8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Şekil ve tabloların metin içinde gelmesi istenilen yer belirtildi.
- Şekiller listesi ayrı bir sayfa olarak hazırlandı.
- Her şekil ayrı sayfaya yerleştirildi.
- Tablolar listesi ayrı bir sayfa olarak hazırlandı.
- Her tablo ayrı sayfaya yerleştirildi.
- Kaynaklar yazım kurallarına uygun yazıldı.
- Yazışma adresi verildi.

FINAL CHECKLIST

Before you submit your work, please take the time to be certain that your paper (and other writings as applicable) is in the correct format and that you have included everything necessary by checking it against this checklist.

- Copyright Release Form has been enclosed, completed and signed by all authors (<http://ercvet.gmail.com>).
- Entire paper has been 5 mm double-spaced (abstract, tables, captions/legends, references).
- Margins have been 2,5 cm each side.
- Font size has been 10 pt (Arial).
- Lines have been numbered.
- Title of the manuscript has been written bold and short title added on the cover page.
- Author(s) names have been fully written (not abbreviated) on the cover page.
- Footnote has been given on the cover page (if necessary)
- English title has been given.
- English summary has been given.
- English keywords have been given alphabetically.
- Turkish title has been given.
- Turkish summary has been given.
- Turkish keywords have been given alphabetically.
- Original figures have been enclosed.
- Original figures have been prepared correctly according to instructions.
- Figures have been referred to consecutively in the paper.
- Dimensions of figures have been min =8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Tables have been referred to consecutively in the paper.
- Dimensions of tables have been min =8x20 cm; max.=16x20 cm.
- Figures and tables have been stated requiring put on the manuscript.
- Names of figures have been given on a separate page as figure list.
- Each figure has been given on a separate page.
- Names of tables have been given in a separate page as table list.
- Each table has been given on a separate page.
- References has been typed according to instructions.
- Corresponding address has been given.