



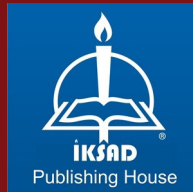
# SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA ULUSLARARASI AKADEMİK ÇALIŞMALAR VE TEORİK BİLGİLER-IV

EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN



# SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA ULUSLARARASI AKADEMİK ÇALIŞMALAR VE TEORİK BİLGİLER-IV

## EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Doç. Dr. H.Turan AKKOYUN

## YAZARLAR

Prof. Dr. Ali RİŞVANLI

Prof. Dr. Emine ATAKİŞİ

Prof. Dr. Kemal GÜRTÜRK

Prof. Dr. Nihat ŞINDAK

Prof. Dr. Şaban MARAŞLI

Prof. Dr. Tekin ŞAHİN

Doç. Dr. Ebru KARAKAYA BİLEN

Doç. Dr. Gülşah AKGÜL

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Dr. Öğr. Üyesi Ali GÜLAYDIN

Dr. Öğr. Üyesi Erman GÜLENDAG

Dr. Öğr. Üyesi Oya ERALP İNAN

Dr. Öğr. Üyesi Öznur YILMAZ KOÇ

Dr. Öğr. Üyesi Serpil AYGÖRMEZ

Dr. Öğr. Üyesi Tarık ŞAFAK

Dr. Ali Osman TURGUT

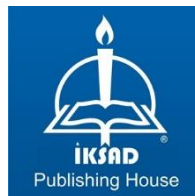
Dr. Davut KOCA

Dr. Vedat BALDAZ

Arş. Gör. Onur YILDIRIM

Arş. Gör. Mahsum BAŞAK

Bilim Uzmanı Leyla GÜNDÜZ



Copyright © 2023 by iksad publishing house  
All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, distributed or  
transmitted in any form or by  
any means, including photocopying, recording or other electronic or mechanical  
methods, without the prior written permission of the publisher,  
except in the case of  
brief quotations embodied in critical reviews and certain other  
noncommercial uses permitted by copyright law. Institution of Economic  
Development and Social  
Researches Publications®  
(The Licence Number of Publicator: 2014/31220)  
TÜRKİYE TR: +90 342 606 06 75  
USA: +1 631 685 0 853  
E mail: iksadyayinevi@gmail.com  
www.iksadyayinevi.com

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.

Iksad Publications – 2023©  
**ISBN: 978-625-367-513-4**  
Cover Design: İbrahim KAYA  
December / 2023  
Ankara / Türkiye  
Size= 16x24cm

Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluğu da yazarlara aittir.

## İÇİNDEKİLER

### ÖNSÖZ

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN,

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN..... 1

### BÖLÜM 1

#### SİĞIRLARIN SOLUNUM YOLU HASTALIĞI KOMPLEKSİ

ETKENİ: *Pasteurella multocida*

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Prof. Dr. Kemal GÜRTÜRK.....3

### BÖLÜM 2

#### CİNSİYETİ BELİRLENMİŞ SPERMA TEKNOLOJİSİ VE SÜT SİĞİRİ YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GÜNCEL KULLANIMI

Doç. Dr. Ebru KARAKAYA BİLEN.....29

### BÖLÜM 3

#### ETKİ BÜYÜKLÜĞÜ, AVANTAJLARI VE YORUMLANMASI

Dr. Öğr. Üyesi Erman GÜLENDAG.....47

### BÖLÜM 4

#### VETERİNER HEKİMLİĞİ KLİNİK UYGULAMALARINDA KOAGÜLASYONUN TROMBOELASTOGRAFİK DEĞERLENDİRMESİ

Dr. Öğr. Üyesi Oya ERALP İNAN.....63

### BÖLÜM 5

#### KOYUNLARDA MASTİTİSLİ SÜTLERDE OMİK ANALİZLER

Dr. Öğr. Üyesi Öznur YILMAZ KOÇ

Dr. Öğr. Üyesi Tarık ŞAFAK

Prof. Dr. Ali RİŞVANLI..... 75

## **BÖLÜM 6**

### **YENİ ADİPOKİN: VASPİN HORMONU**

Dr. Öğr. Üyesi Serpil AYGÖRMEZ

Prof. Dr. Şaban MARAŞLI

Prof. Dr. Emine ATAKİŞİ.....93

## **BÖLÜM 7**

### **SÜTÇÜ SIĞIRLARDA GENOM BOYU İLİŞKİ ANALİZİ ÇALIŞMALARI**

Dr. Ali Osman TURGUT

Dr. Davut KOCA.....103

## **BÖLÜM 8**

### **EVCİL HAYVANLARDA ANTİ-MÜLLERİAN HORMONUN KLİNİK KULLANIMI**

Dr. Davut KOCA

Dr. Ali Osman TURGUT.....117

## **BÖLÜM 9**

### **NEONATAL SEPTİSEMİLİ BUZAĞILARDA İMMÜNOTERAPİ**

Dr. Vedat BALDAZ

Prof. Dr. Tekin ŞAHİN.....131

## **BÖLÜM 10**

### **KEDİ VE KÖPEKLERDE SERVİKAL VERTEBRA KIRIKLARINDA TEDAVİ SEÇENEKLERİ**

Arş. Gör. Onur YILDIRIM

Prof. Dr. Nihat ŞINDAK

Dr. Öğr. Üyesi Ali GÜLAYDIN.....155

## **BÖLÜM 11**

### **KEDİLERDE ASİTESE KLİNİK YAKLAŞIM**

Arş. Gör. Mahsum BAŞAK

Doç. Dr. Gülşah AKGÜL.....181

## **BÖLÜM 12**

### **İNTESTİNAL SİSTEMİN EN SIK GÖRÜLEN PARAZİTLERİNDEN *GIARDİA İNTESTİNALİS***

Bilim Uzmanı Leyla GÜNDÜZ.....197



## ÖNSÖZ

"Sağlık Bilimleri Alanında Uluslararası Akademik Çalışmalar ve Teorik Bilgiler IV" isimli kitabın içeriğinde yer alan birbirinden farklı bölümler, alandaki akademik araştırmacılar tarafından yazılmıştır. Sunulan kitap, veterinerlik alanındaki çalışmalarını irdeleyerek bu alandaki araştırmalara farklı bir boyut kazandıracaktır. Kitabın hazırlanmasında emeği geçen tüm akademisyenlere, ayrıca eserin basılmasında ve yayınlanmasında katkıları olan İKSAD yayınevi ve değerli çalışanlarına teşekkür ederiz. Kitapta yer alan bölüm yazılarıyla ilgili tüm akademik ve hukuki sorumluluğun yazarlara ait olduğunu ifade ederek, 12 bölümden oluşan bu değerli kitabın lisansüstü öğrenim gören araştırmacılara, aynı zamanda deneysel ve teorik çalışan akademisyenlere yeni bir bakış açısı kazandırarak; bilim dünyasına katkı sağlamasını temenni ederiz.

*Aralık 2023*

### EDİTÖRLER

Doç. Dr. Mahire BAYRAMOĞLU AKKOYUN

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN

Doç. Dr. H. Turan AKKOYUN





## BÖLÜM 1

### SIĞIRLARIN SOLUNUM YOLU HASTALIĞI KOMPLEKSİ ETKENİ: *Pasteurella multocida*

Doç. Dr. Özgül GÜLAYDIN<sup>1</sup>

Prof. Dr. Kemal GÜRTÜRK<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408046>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Siirt, Türkiye, [ozgul.gulaydin@siirt.edu.tr](mailto:ozgul.gulaydin@siirt.edu.tr), ORCID ID 0000-0001-8376-2008

<sup>2</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji ABD, Van, Türkiye  
[kemalgurturk@hotmail.com](mailto:kemalgurturk@hotmail.com), ORCID ID 0000-0002-9372-8951

\*Bu derleme 1. yazarın 'Siğirlerin Solunum Yolundan İzole Edilen *Pasteurella multocida* Fenotip ve Genotiplerinde Virülens Genlerin Dağılımı' başlıklı doktora tez eserinin bir kısmından özetlenmiştir.



## GİRİŞ

Sığırların solunum yolu hastalığı kompleksi, dünyada besi sığırcılığının en önemli sorunlarından biridir (Smith, 1998; Horwood ve Mahony, 2011). Uzun yıllar süren çalışmalara rağmen bu hastalık kompleksi sığır besiciliğinde hala önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Hastalık, konakçı, çevre ve çeşitli patojen etkenlerin etkileşimine bağlı kompleks bir etiyojolojiye sahiptir. Sıcaklık, hayvan sayısı, toz, nakliye ve diğer faktörler viral ve bakteriyel etkenlere karşı immün yanıtın oluşmasını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Horwood ve Mahony, 2011). Sığırların solunum yolu hastalığı kompleksi olgularında, sığır herpesvirus 1, sığır viral diyare virus, sığır parainfluenza virus 3 ve sığır respirator sinsityal virus en sık rastlanan viral etkenlerdir. Bu patojenlerin hastalık olgularında primer etken olarak rol oynayabildiği gibi sığır immün sisteminde baskılanmaya neden olarak sekonder bakteriyel enfeksiyonlara karşı duyarlılığı arttırdığına da inanılmaktadır (Horwood ve Mahony, 2011; Grissett ve ark., 2015). Bu durum sığırların solunum yolu hastalığı kompleksinde, *Mannheimia* (*M.*) *haemolytica*, *Pasteurella* (*P.*) *multocida*, *Haemophilus* (*H.*) *somni* gibi sığırların nazal boşluğunun doğal florasında yer alan fırsatçı patojenler ile *Mycoplasma bovis* gibi sekonder bakteriyel patojenlerin klinik hastalığa neden olmasına yol açmaktadır (Srikumaran ve ark., 2008; Horwood ve Mahony, 2011; Grissett ve ark., 2015).

*P. multocida*'nın çeşitli hayvan türlerinde yaygın olarak bulunması nedeniyle bu bakteri ile ilişkili solunum yolu hastalıklarına yönelik sınırlı sayıda epidemiyolojik araştırma bulunmaktadır. Bununla birlikte bakterinin üst solunum yolunda kommensal olarak bulunması hastalığın teşhisi için yeterli görülmemekte ve *P. multocida*'nın sığırlarda görülen pnömoni olgularının primer sorumlusu olup olmadığı yönünde tartışmalar devam etmektedir (Dabo ve ark., 2008; Quinn ve ark., 2011). Bu nedenle *P. multocida* ile ilişkili hastalıkların, patojenik *P. multocida* suşları ile kommensal popülasyon arasındaki doğal farktan mı yoksa konakçı bakteri ilişkisindeki kesin bir değişime bağlı olarak mı ortaya çıktığı en önemli epidemiyolojik sorun olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte bakteriyel patojenlerin karakterizasyonuna yönelik yapılan çalışmalarda patojenik ve kommensal izolatlar arasında da doğal bir fark tespit edilmediği bildirilmiştir (Dabo ve ark., 2008).

Birçok konakçı ve patojen ile ilişkili özellik, *P. multocida* suşlarının neden olduğu enfeksiyonların oluşumunu etkilemektedir. Bu kapsamda özellikle kapsül ve virülens ile ilişkili genlerin *P. multocida* enfeksiyonlarının patogeneğinde önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Harper ve ark., 2006; Dabo ve ark., 2008). Kapsül antijenlerine göre *P. multocida* suşları tip A, B, D, E ve F olmak üzere beş serogruba ayrılmaktadır. Tip A suşları kanatlı hayvanlarda

kolera ve sığırlarda “shipping fever“ hastalığına, tip B ve E ruminantlarda septisemiye, tip D ise domuzlarda atrofik nezleye neden olmaktadır.

Günümüze kadar, sağlıklı veya klinik olarak hasta olan sığır, koyun, domuz, kanatlı hayvanlar gibi çeşitli konakçılardan kültürü yapılan *P. multocida* izolatlarında, kapsül genleri (*capA*, *B*, *D*, *E* ve *F*) ile birlikte, adherens ve kolonizasyon faktörleri (*ptfA*, *fimA*, *hsf-1*, *hsf-2*, *pfhA* ve *tadD*), demir bağlama ile ilişkili faktörler (*exbB*, *exbD*, *tonB*, *hgbA*, *hgbB*, *Fur* ve *tbpA*), hyaluronidaz (*pmHAS*) ve sialidaz (*nanB* ve *nanH*) gibi ekstrasellüler enzimler, süperoksit dismutaz (*sodA* ve *sodC*), dermonekrotoksin (*toxA*), dış membran ve porin proteinleri (*ompA*, *ompH* *oma87* ve *plpB*,) ile ilişkili 23 adet virülens geni tanımlanmıştır (Ewers ve ark., 2006; Tang ve ark., 2009; Khamesipour ve ark., 2014).

Farklı canlı türlerinden ve klinik olarak sağlıklı veya hasta hayvanlardan kültürü yapılan *P. multocida* izolatlarında virülens genlerinin belirlenmesine yönelik yapılan bir araştırmada konakçıya özgü olmamakla birlikte, *toxA* geninin domuzlarda *capA* ve klinik hastalıkla, klinik olarak hasta sığırlarda ise *capB* ve *capE* genlerinin *pfhA* virülens geni ile ilişkili olduğu, *tbpA* geninin ise hemorajik septisemi olgularından elde edilen *P. multocida capB* pozitif izolatlarında bulunduğu bildirilmiş ve söz konusu genlerin *P. multocida* izolatlarının karakterizasyonunda önemli bir epidemiyolojik marker olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır. Araştırmada incelenen diğer virülens genlerinin (*psl*, *ompH*, *oma87*, *nanB*, *tonB*, *sodA* ve *sodC*) ise 9 farklı konakçı türünden elde edilen izolatlarda ve tüm kapsül tiplerinde bulunduğu ve patojenik suşların ayırımında önemli olmadığı bildirilmiştir (Ewers ve ark., 2006).

Bu derlemede sığırlarda solunum yolu hastalıklarına neden olan önemli bakteriyel etkenlerin başında gelen *P. multocida* izolatlarının etiyolojik özelliklerinden, hayvanlarda neden olduğu hastalıklar ile identifikasyon ve tiplendirme yöntemlerinden bahsedilecektir.

## 1. PASTEURELLALARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

### 1.1. Tarihçe ve Sınıflandırma

*P. multocida* 1800’lü yıllarda ilk olarak Louis Pasteur tarafından tavuk kolerası etkeni olarak tanımlanmıştır. Pasteur yaptığı çalışmalar sonunda, seri pasajlama işleminin bakteri suşlarında virülensin düşmesine neden olduğunu ve bu suşların kanatlı hayvanlara inoküle edilmesiyle hayvanlarda etkene karşı koruyucu bağışıklık geliştiğini tespit etmiştir (Harper ve ark., 2006; Dabo ve ark., 2008). Pasteur’un çalışmasından yaklaşık yarım yüzyıl sonra morfolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre etken, *P. septica* ve daha sonra 1939 yılında *P. multocida* olarak isimlendirilmiştir (Dabo ve ark., 2008).

Louis Pasteur'un yapmış olduğu araştırmalardan sonra pastörelloz terimi; *Pasteurella* cinsi altında sınıflandırılan ve Gram negatif, hareketsiz, fakültatif anaerob, çomak ya da kokobasil morfolojisine sahip olan etkenlerin, evcil hayvanlarda oluşturdukları enfeksiyonları ifade etmek için kullanılmıştır. Bununla birlikte *Pasteurella*, uzun yıllar boyunca başta ruminantlar olmak üzere birçok evcil hayvanda görülen sistemik, pulmoner ve septisemik enfeksiyonlarla ilişkilendirilen etkenleri içeren tek cins olarak değerlendirilmiştir. Moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler ile birlikte gerçekleştirilen DNA hibridizasyon ve 16 S rRNA gen sekans analizleri sonucunda bu cins altında sınıflandırılan etkenlerin birçok ortak özellik taşıyan farklı türler olduğu kanısına varılmış ve yeniden sınıflandırılmaya gidilmiştir (Mohamed ve Abdelsalam, 2008).

Son sınıflandırmada *Pasteurellacea* familyası içinde 15 bakteri cinsi tanımlanmakla birlikte bunlardan *Actinobacillus*, *Avibacterium*, *Haemophilus*, *Histophilus*, *Mannheimia*, *Pasteurella* ve *Bibersteinia* cinslerinin veteriner hekimlik açısından önem taşıdığı kabul edilmektedir (Quinn ve ark., 2011). Önceden *P. haemolytica* biyotip A olarak isimlendirilen tür; *M. granulomatis*, *M. glucosida*, *M. ruminalis* ve *M. varigena* türlerini de içeren *Mannheimia* cinsine dahil edilmiş ve *M. haemolytica* olarak yeniden adlandırılmıştır (Angen ve ark., 1999; Mohamed ve Abdelsalam, 2008). *P. haemolytica* biyotip T ise ilk önce *P. trehalosi* daha sonra ise *Bibersteinia* (*B.*) *trehalosi* olarak adlandırılmıştır (Blackall ve ark., 2007; Mohamed ve Abdelsalam, 2008; Quinn ve ark., 2011;). Kanatlı hayvanlarda enfeksiyon oluşturan *P. gallinarum*, *P. paragallinarum* ve *P. volantinum* ise *Avibacterium* cinsi altında sınıflandırılmıştır (Blackall ve ark., 2005). *P. multocida*, *B. trehalosi* ve *M. haemolytica*, *Pasteurellaceae* familyası içerisinde en önemli patojenik türler olup, hayvanların üst solunum yollarının doğal florasında da bulunabilmektedirler (Mohamed ve Abdelsalam, 2008; Quinn ve ark., 2011).

*M. haemolytica*'nın sığırlarda 'shipping fever' olarak adlandırılan pnömonik pastörelloz olguları ile sığır, koyun ve keçilerde görülen pnömoni olgularında primer ya da sekonder etken olarak rol oynadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte etken, koyunlarda ise septisemi, gangrenli mastitis ve evcil memeli hayvanlarda spesifik olmayan yangısal reaksiyonlarla karakterize lezyonlardan izole edilmektedir. *B. trehalosi* ise özellikle 5-12 aylık koyunlarda görülen akut sistemik enfeksiyonlar ve septisemi ile ilişkilendirilmiştir (Mohamed ve Abdelsalam, 2008; Quinn ve ark., 2011;).

*P. multocida*, *P. canis*, *P. stomatis*, *P. dagmatis* ve *P. species B*, *P. sensu stricto* kompleksinde yer alan *Pasteurella* türleri olup *P. multocida*, bu komplekste yer alan patojenitesi en yüksek türdür (Markey ve ark., 2013). Mutters ve ark. (1985), DNA hibridizasyon çalışmaları sonucunda *P. multocida*'nın, *P. multocida* subsp. *multocida*, *P. multocida* subsp. *gallacida* ve *P. multocida* subsp. *septica* olmak üzere 3 alt türe ayrıldığını

bildirmişlerdir. Daha sonra yapılan bir çalışmada (Bisgaard ve ark., 1991) ise *P. multocida* alt türlerinin dulsitol, sorbitol ve trehaloz fermentasyon testlerine göre identifiye edilebileceği vurgulanmış ve *P. multocida* subsp. *multocida*'nın dulsitol negatif, sorbitol ve trehaloz pozitif; *P. multocida* subsp. *septica*'nın dulsitol ve sorbitol negatif, trehaloz pozitif; *P. multocida* subsp. *gallicida*'nın ise dulsitol ve sorbitol pozitif, trehaloz negatif olduğu bildirilmiştir. Fakat yapılan başka bir çalışmada (Fegan ve ark., 1995), *P. multocida* subsp. *gallicida* NCTC 10204 suşunun dulsitol negatif olduğu rapor edilmiştir.

*P. multocida* subsp. *gallicida* daha çok kanatlı hayvanlardan izole edilirken, *P. multocida* subsp. *septica* sıklıkla kedi ve köpeklerden izole edilmektedir (Dabo ve ark., 2008). Capitini ve ark. (2002), kaplan ısırıklarından elde ettikleri izolatların fenotipik özellikleri ile 16 S rRNA gen sekansı analizlerini karşılaştırmalı olarak değerlendirmiş ve bu izolatları 4. alt tür, *P. multocida* subsp. *tigris* olarak isimlendirmişlerdir.

## 1.2. *Pasteurella multocida*'nın Morfolojik ve Kültürel Özellikleri

*P. multocida* (0.2 x 1-2 µm), Gram negatif, hareketsiz, spor oluşturmeyen, küçük çomak ya da kokobasil şeklinde bir bakteridir. Fakültatif anaerob, oksidaz ile katalaz rekasyonu pozitifdir. Besiyerine kan veya serum ilavesinin etkenin üremesi üzerine olumlu etkileri bulunmakla birlikte agar besiyerlerinde birkaç gün canlı kalabilmektedir (Quinn ve ark., 2011; Markey ve ark., 2013). Nutrient agar, kanlı agar ve çikolata agar bakterinin izolasyonunda en çok tercih edilen besiyerleridir (Dziva ve ark., 2008). Lee ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada %10 koyun kanı ilave edilmiş dekstroz nisaşa agara polymyxin, kristal violet, thallos acetate, bacitracin ve cycloheximide ilavesinin kanatlı hayvanların sindirim sisteminden *P. multocida* izolasyonunda başarı ile kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

*P. multocida* kanlı agarda mukoid ya da mukoid olmayan koloniler oluşturur. Mukoid koloniler sığır, domuz ve tavşanların pnömonik akciğer lezyonlarından izole edilirken, mukoid olmayan koloniler ise daha çok kanatlı hayvanlardan izole edilmektedir (Dziva ve ark., 2008). Dokulardan hazırlanan preparatlar Giemsa yöntemiyle boyandığında *Pasteurella* türleri bipolar boyanma özelliğine sahiptirler. Katı besiyerinde yuvarlak, gri renkli, parlak ve hemolitik olmayan koloniler oluştururlar. *P. multocida* safra tuzlarına duyarlı olduğu için MacConkey agarda üreme yeteneğine sahip değildir. Üreaz negatif, ancak ornitin dekarboksilaz ve indol pozitifdir. Laktoz ve maltozu fermente etmezken, glikoz, sukroz ve manitolu kullanırlar. Bunun yanında D-trehaloz, L-arabinoz ve D-ksiloz fermentasyonları değişkendir (Quinn ve ark., 2011; Markey ve ark., 2013).

*P. multocida*, dezenfektanlar ve olumsuz çevre şartlarından kolay etkilenebilen bir bakteri olup su ve toprakta 30 gün canlı kalabildiği bildirilmiştir (Rimler ve Glisson, 1997; Christensen ve Bisgaard, 2000).

## **2. *Pasteurella multocida* ENFEKSİYONLARINDA PATOGENEZ**

*P. multocida*, üst solunum yolunun doğal florasında bulunan kommensal suşların özellikle immun sistemi baskılanan hayvanlarda dokularda yayılmasıyla enfeksiyon oluşabilmektedir. Bununla birlikte enfekte hayvanlar ile direk temas veya aerosol yolla bulaşmayla da enfeksiyon oluşmaktadır (Quinn ve ark., 2011). Ancak kommensal suşlar ile patojen suşlar arasında herhangi bir farkın olup olmadığı henüz anlaşılammıştır (Dabo ve ark., 2008). Hastalığın gelişiminde, bakterinin mukozal yüzeylere tutunabilmesi ve kapsül yapısı sayesinde fagositozdan kaçabilme yeteneğinin rol oynadığı düşünülmektedir. Bununla birlikte *P. multocida*'nın konakçıdan demir alımını sağlayan genleri de bulunmaktadır. Kapsül tip D suşlarında esas virülens faktörünün ise toksin üretme yeteneği olduğu bilinmektedir (Quinn ve ark., 2011).

Hem besi hem de süt sığırlarında *P. multocida*'nın neden olduğu ve diğer bakteriyel patojenlerle birlikte seyreden pnömoni olgularında hastalık etkeninin teşhisi oldukça zor olabilmektedir (Dabo ve ark., 2008). Ancak, ani gelişen bronkopnömonilerin daha çok *P. multocida* kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Dungworth, 1985). *P. multocida*'nın diğer bakteriyel ya da viral patojenlerle birlikte pnömoni olgularından izole edildiği (Virtala ve ark., 2000; Hirose ve ark., 2003; Gagea ve ark., 2006; Autio ve ark., 2007) ve etkenin primer patojen olup olmadığı konusunda şüphelerin ortaya çıktığı bildirilmiştir (Lopez, 2007). Bununla birlikte bakterinin hem deneysel hem de doğal enfeksiyonlarda tek başına izole edilebilmesi primer patojen olduğunu desteklemektedir (Dabo ve ark., 2008).

*P. multocida*'nın akciğerlerde oluşturduğu patolojik lezyonlar, hastalığın inkübasyon süresine de bağlı olarak birçok araştırmacı tarafından farklı değerlendirilmiştir. Bazı araştırmacılar (Haritani ve ark., 1989; Mathy ve ark., 2002; Ewers ve ark., 2006; Lopez, 2007) hastalığın basit bronkopnömoni bulguları ile seyrettiğini ifade ederken, diğer araştırmalarda ise fibrinosupuratif akut (Gagea ve ark., 2006), subakut-kronik fibrinopurulent (Mosier, 1997), fibrinli ve fibrinopurulent (Dungworth, 1985), supuratif ve fibrinonekrotik (Tegtmeier ve ark., 1999) lezyonlarla karakterize olabileceğini bildirmişlerdir.

## **3. *Pasteurella multocida*'nın VİRÜLENS FAKTÖRLERİ VE GENLERİ**

*P. multocida* ile ilişkili enfeksiyonların patogeneğinde rol oynayan kapsül, lipopolisakarit, fimbria ve adheziner, toksin, demir bağlama



proteinleri, sialik asit metabolizma proteinleri, hyaluronidaz ve dış membran proteinleri gibi birçok virülens geni tanımlanmıştır (Harper ve ark., 2006; Dabo ve ark., 2008).

### 3.1. Kapsül

*P. multocida* suşları kapsül antijenlerine göre A, B, D, E, ve F olmak üzere 5 serogruba ayrılmaktadır (Harper ve ark., 2006). Kapsül tip A ve daha az oranda tip D kanatlı hayvanlarda kolera hastalığına neden olmaktadır. Tip F suşları daha çok hasta kanatlı hayvanlardan (özellikle hindilerden) ve buzağılarda öldürücü fibrinli peritonit olgularından izole edilmektedir. Kapsül tip D'nin toksijenik suşları domuzlarda atrofik rinit olgularından, tip A suşları ise domuzlarda pnömoni olgularından izole edilmektedir. *P. multocida* kapsüller tip B ve E suşları Afrika ve Asya'nın tropik bölgelerindeki sığır ve su bufalolarında hemorajik septisemi olgularıyla ilişkilendirilmektedir. Tüm dünyada *P. multocida* kapsül tip A, sığır solunum yolu hastalıklarının primer etkenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Dabo ve ark., 2008).

Tip A'da kapsül yapısının hyaluronan, tip D'de heparosan ve tip F'de ise kondroitinden oluşmasının yanı sıra sadece tip B suşlarının hyaluronidaz enzimine sahip olduğu bilinmektedir. Bu yapılar birçok konakçı hücrenin yapısal glikozaminoglikanları ile benzer yapıya sahiptir. Bu özellik sayesinde bakteri kapsülüne karşı oluşan antikör yanıtı ve komplement aktivasyonu yetersiz kalmakta ve mikroorganizmanın konakçı hücreye adhezyon gücü artmaktadır. Genel olarak kapsülün fagositoza karşı dirençte önemli rol oynadığı ve kapsüllü suşların virülenslerinin kapsülsüz suşlara göre daha yüksek olduğu kabul edilmektedir (Harper ve ark., 2006; Dabo ve ark., 2008). *P. multocida* kapsül tip B suşlarının kapsülsüz mutantlarının, kapsüllü suşlara göre makrofaj fagositozuna daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (Boyce ve Adler, 2000). *P. multocida* tip A mutant suşlarının da mutant olmayan suşlara göre kanatlı serum komplement lizisine daha duyarlı olduğu tespit edilirken (Chung ve ark., 2001), kapsülsüz tip B suşlarının kapsüllü suşlara göre sığır ve fare serum komplement aktivasyonuna karşı dirençliliğinde herhangi bir fark tespit edilemediği belirtilmiştir (Boyce ve Adler, 2000).

### 3.2. Lipopolisakkarit

*P. multocida* lipopolisakkarit antijenlerine göre 16 somatik serotipe ayrılmaktadır (Harper ve ark., 2006). Lipopolisakkarit, endotoksik şoktan sorumlu ve humoral immün yanıtı uyarak koruyucu bağışıklığın oluşmasını sağlayan önemli bir komponent olup (Harper ve ark., 2006), özellikle kanatlı kolerası ve sığırlarda görülen hemorajik septisemi hastalıklarının patogenezinde önemli rol oynamaktadır (Markey ve ark., 2013).

Lipopolisakkarit yapının antijenik özelliğe sahip olduğu ancak immunojenik özelliğinin düşük olduğu bildirilmiş ve protein ya da

ribozomlarla birlikte kompleks oluşturduğunda hem humoral hem de hücrel immun yanıtı daha iyi uyarak koruyucu bağışıklık sağladığı bildirilmiştir (Ryu ve Kim, 2000). Bununla birlikte diğer bir çalışmada lipopolisakkarit yapının, bakterinin konakçı hücreye adhezyonu ve invazyonunda rol oynadığı bilinen fosfokolini içerdiği ve bu özelliğin *P. multocida*'nın nötrofillere tutunarak; bakteriye endotelial hücrelerin arasına girebilme yeteneği sağladığı rapor edilmiştir (Galdiero ve ark., 2000).

Serotip A suşlarından saflaştırılan lipopolisakkarit yapının farelere inokulasyonu sonucunda önemli düzeyde monoklonal antikor sentezlenirken (Wijewardana ve ark., 1990), serotip B suşlarından izole edilen lipopolisakkarit yapının farelerde kısmi koruma sağladığı gözlenmiştir (Ramdani ve Adler, 1991). Buna karşın *P. multocida* serotip B:2'den elde edilen lipopolisakkarit antijeninin inokulasyonu sonucunda bufalolarda hemorajik septisemi semptomlarında önemli artış gözlenmiş ancak, serotip A lipopolisakkarit yapısının endotoksik özelliğinin tam olarak anlaşamadığı bildirilmiştir (Horadagoda ve ark., 2002).

### 3.3. Fimbria ve Adhezinler

*P. multocida* genetik materyalinde fimbria proteinlerini kodlayan bazı genler (*ptfA*, *fimA*, *flp1*, *flp2*, *hsf-1* ve *hsf-2*) bulunmaktadır (Harper ve ark., 2006). Kapsüler tip A, B ve D suşlarında tespit edilen tip IV fimbria (Ruffola ve ark., 1997) ve bu proteini kodlayan *ptfA* geninin aminoasit sekanslarının suşlar arasında farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Doughty ve ark., 2000). *Bordetella pertussis*'te filamentöz hemaglutininleri kodlayan genlerle benzerlik gösteren *pfhaB1* ve *pfhaB2* genleri *P. multocida* izolatlarında tespit edilmiş ve bu hemaglutininlerin, etkenin üst solunum yolunda kolonize olmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Kimura ve ark., 1990).

### 3.4. Toksin

Hemorajik septisemi, pnömoni ve kanatlı kolerasına neden olan suşların toksin sentezleyip sentezlemediği tam olarak bilinmemekle birlikte, dermonekrotoksin (*toxA* geni) kapsüler tip D suşlarında tespit edilmiş ve domuzlarda atrofik rinit olgularında klinik bulguların oluşmasından sorumlu olduğu tespit edilmiştir (Rimler ve Rhodes, 1989).

### 3.5. Demir Bağlama Proteinleri

Demir, bakterilerin konakçıdan sağladığı ve üreme için gerek duyduğu bir üreme faktörüdür. Fakat toksik etkisinin fazla olması nedeniyle ortamda eser miktarda bulunması gereklidir. Bu nedenle *P. multocida* diğer bakteriler gibi demire karşı tolerans gösterebilmek için birçok mekanizmaya sahiptir (Harper ve ark., 2006).

*Pasteurellaceae* familyasında *tbpA* ve *tbpB* olmak üzere 2 demir bağlama reseptörü bulunduğu bilinmekle birlikte son zamanlarda yapılan çalışmalarda sığır suşlarında sadece *tbpA* proteinin bulunduğu bildirilmiştir (Ogunnariwo ve Schryvers, 2001). TonB transport kompleksi içinde tanımlanan *exbB*, *exbD* ve *tonB* genleri demir bağlama için gerekli enerjiyi sağlamada görev almaktadır. *HgbA* ise hemoglobin bağlayan protein olup konakçı proteinlerinden demir kazanımında görev almaktadır (Harper ve ark., 2006).

### 3.6. Sialik Asit Metabolizması

Bakterilerde sialik asit enzimleri (sialidaz), konakçı hücrenin protein ve lipidlerinden sialik asitin metabolize edilip karbon kaynağı olarak kullanılmasında görev almaktadır. *P. multocida*'da sialidazı kodlayan *nanH* ve *nanB* olmak üzere iki farklı gen tanımlandığı bildirilmiştir (Mizan ve ark., 2000).

### 3.7. Hyaluronidaz

Hyaluronidaz enziminin patogeneizde oynadığı rol tam olarak bilinmemekle birlikte sığırlarda hemorajik septisemiye neden olan kapsüller tip B suşlarında tespit edildiği bildirilmiştir (Rimler ve Rhoades, 1994).

### 3.8. Dış Membran Proteinleri

Lu ve ark. (1991), tarafından yapılan bir çalışmada *P. multocida* dış membran proteinleri arasında 37 kDa'luk bir peptide karşı oluşan monoklonal antikoların hem homolog suşlara hem de bazı heterolog suşlara karşı koruyucu bağışıklık sağladığı tespit edilmiştir. Ali ve ark. (2004), ise *P. multocida* A:3 serotipinde tanımlanan 39 kDa'luk diğer bir peptide karşı oluşan antikoların bakterinin tavuk embriyo fibroblastlarına adhezyonunu engellediği, hem A:3 hem de A:1 serotiplerine karşı bağışıklık sağladığı bildirilmiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada (Merlin ve ark., 2002) bu protein *plpB* protein olarak tanımlanmış ve metiyonin aminoasidinin bakteri hücresi içine alınmasında rol oynadığı bildirilmiştir.

*P. multocida* enfeksiyonlarına karşı koruyucu bağışıklık sağlayan diğer bir dış membran proteini de *ompH*'dir. *OmpH* proteinlerinin rekombinant olmayan formunun kanatlılarda homolog suşlara karşı koruyucu bağışıklık sağladığı tespit edilmiştir (Luo ve ark., 1997).

Dış membran proteinlerinden *ompA* ve *oma87* ile demir bağlama proteinlerinden *tbpA* ve *hgbA*'nın, fibronektin ve kollajene bağlanmada rol oynadığı rapor edilmiştir (Dabo ve ark., 2005). *OmpA*, *Escherichia coli* ve *Haemophilus influenzae*'nin adhezinleri ile homolog yapı gösteren bir protein olup, bakterinin konakçı hücredeki heparin ve fibronektin moleküllerine

bağlanarak sığır böbrek hücrelerine doğrudan tutunmasını sağlamaktadır (Dabo ve ark., 2003).

#### **4. *Pasteurella multocida*'nın NEDEN OLDUĞU ENFEKSİYONLAR**

*P. multocida* geniş bir konakçı spektrumuna sahip olup kanatlı hayvanlarda kolera, domuzlarda atrofik rinitis, sığırlarda hemorajik septisemi, enzootik pnömoni, pastörelloz (shipping fever) ve sığırların solunum yolu hastalığı kompleksi, tavşanlarda ise rinitis olgularında primer etken ve/veya sekonder etken olarak rol oynamaktadır (Harper ve ark., 2006; Dziva ve ark., 2008). *P. multocida* kedi-köpek ısırıklarıyla insanlara da bulaşabilmektedir (Christensen ve ark., 2005).

Kanatlı kolerası, *P. multocida* kapsül tip A ve F suşlarının neden olduğu evcil ve yabani kanatlı hayvanlarda görülen akut ve kronik seyirli bir enfeksiyondur (Harper ve ark., 2006; Quinn 2011). Septisemi ile seyreden akut enfeksiyonlar, hastalığın çoğunlukla kapsül tip A suşlarının neden olduğu, ölüm oranı yüksek olan formudur. Hastalığa yakalanan hayvanlarda solunum güçlüğü, ağızdan mukus kıvamında akıntı gelmesi, depresyon, ateş ve ishal gibi semptomlar gözlenmektedir (Rimler ve Rhodas, 1989).

Atrofik rinitis, domuzlarda pnömoni ve nazal boşlukta deformasyonlarla karakterize *P. multocida* kapsül tip D ve A serotiplerinin toksijenik suşlarının neden olduğu bir enfeksiyondur. Hastalıkta ölümler nadir görülmesine rağmen verim kaybına neden olduğundan dolayı ekonomik önem arz etmektedir (Harper ve ark., 2006).

*P. multocida* serotip A tavşanlarda rinitis ve pnömoni ile karakterize enfeksiyonlara neden olmaktadır. Hastalığın ortaya çıkışında bakım ve nakliye stresi önemli rol oynamaktadır (Quinn ve ark., 2011).

Hemorajik septisemi, sığırlarda ve bufalalarda baş ve boyun bölgesindeki ödemlerle karakterize ve daha çok *P. multocida* kapsül serotip B:2 ve E:2 suşlarının neden olduğu akut ve öldürücü bir enfeksiyondur (Harper ve ark., 2006; Quinn ve ark., 2011). Hastalık birçok Güney Doğu Asya ülkesinde endemik ve sporadik salgınlar şeklinde ortaya çıkmaktadır. İnkübasyon süresinin kısa olduğu perakut seyirli olgularda sağaltım çalışmaları yetersiz kalmaktadır (Dziva ve ark., 2008).

Etkeni tam olarak belirlenemeyen ve sığırlarda görülen solunum yolu hastalıklarını tanımlamak için sıklıkla 'shipping fever' terimi kullanılmaktadır. Ancak sığırların solunum yolu hastalığı kompleksi, hem 'shipping fever' hem de enzootik buzağı pnömonilerini kapsamakla birlikte bakteriyel ve/veya viral etkenlerin neden olduğu, özellikle süttten kesme, nakliye, olumsuz ahır şartları gibi stres faktörlerinin varlığında görülen

solunum yolu hastalıklarını tanımlamaktadır. ‘Shipping fever’ ise daha çok besi sığırlarında nakliye stresi sonucunda ortaya çıkan solunum yolu enfeksiyonunu tanımlamak için kullanılmaktadır. Enzootik buzağı pnömonisi de süt sığırı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde genç buzağılarda gözlemlenen solunum yolu hastalıklarını tanımlamaktadır. *P. multocida*, enzootik pnömoni ve shipping fever hastalıklarını kapsayan sığırların solunum yolu hastalığı kompleksine neden olan bakteriyel etkenlerin başında gelmektedir (Dabo ve ark., 2008). *P. multocida* ve *M. haemolytica*, söz konusu hastalık olgularından ayrı ayrı ya da birlikte izole edilebilmekte ve hastalığın daha çok *P. multocida* kapsül serotip A:3’den ileri geldiği bildirilmektedir (Quinn ve ark., 2011).

## 5. *Pasteurella multocida*’nın İDENTİFİKASYONU

### 5.1. Biyokimyasal Yöntemler

*P. multocida* izolatlarının ön identifikasyonu Gram boyama, katalaz ve oksidaz reaksiyonu, kanlı agarda hemoliz oluşturmama, MacConkey agarda ürememe ve çeşitli karbonhidratları fermente etme özelliklerini kapsayan konvansiyonel bakteriyolojik yöntemlerle yapılmaktadır. Ancak, farklı konakçı ve dokulardan elde edilen izolatlarda biyokimyasal özellikler değişiklik gösterdiğinden, konvansiyonel bakteriyolojik yöntemlerle yapılan teşhisin moleküler yöntemlerle (PCR) desteklenmesi gerekliliği önemle vurgulanmaktadır (Dziva ve ark., 2008).

*P. multocida* izolatlarının teşhisinde API 20NE gibi bakteri identifikasyon kitlerinin kullanılması bazı araştırmacılar tarafından güvenilir bulunmamasına rağmen (Hamilton-Miller, 1993; Boot ve ark., 2004); diğer bir araştırmada (Samuel ve ark., 2003) söz konusu test kitlerinden alınan sonuçların konvansiyonel karbonhidrat fermentasyon testleri ile uyumlu bulunduğu bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, pnömonili domuzlardan elde edilen ve PCR yöntemi ile identifiye edilen 60 *P. multocida* izolatının, API 20NE identifikasyon kiti ile %95’inin, API 20E identifikasyon kiti kullanıldığında ise %60’ının doğrulanabildiği bildirilmiştir. Araştırmada, izolatların API 20E ile 3, API 50CHB/E ile 6, API ZYM kullanıldığında ise 2 farklı biyotipe ayrıldığı, API 50CHB/E identifikasyon kitinin izolatların identifikasyonu için güvenilir olmadığı ancak, biyotiplendirme çalışmalarında kullanıma uygun bir yöntem olabileceği rapor edilmiştir (Lizarazo ve ark., 2008).

Sağlıklı görünen veya solunum yolu enfeksiyonu belirtileri gösteren koyun ve sığırlardan alınan nazal svap ve akciğer örneklerinin bakteriyolojik olarak incelendiği bir çalışmada, hasta koyunların üst solunum yolunda en sık izole edilen bakterilerin *Moraxella* spp., *Pseudomonas pseudomallei*, *Erysipelothrix* spp. ve *P. multocida* olduğu, hasta sığırların üst solunum yolundan en sık izole edilen bakterilerin ise *P. haemolytica* (*M. haemolytica*),

*Actinomyces* spp. ve *Pseudomonas aeruginosa* olduğu, akciğer örneklerinden ise daha çok *Actinomyces pyogenes*, *Erysipelothrix* spp., *P. haemolytica*, *P. ureae*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* izole edildiği bildirilmiştir. Araştırmada hasta ve sağlıklı hayvanlardan elde edilen *P. multocida* izolatlarının trehaloz negatiflik oranının ise sırasıyla %47.1 ve %0 bulunduğu bildirilmiştir (Barbour ve ark., 1997).

Süt sığırcılığı işletmelerinde solunum yolu patojenlerine yönelik yapılan bir çalışmada, *P. multocida*'nın en sık izole edilen patojen olduğu ve sağlıklı, şüpheli ya da hasta buzağuların trake-bronşiyal lavajlarının sırasıyla %26.4, %36.6 ve %43.3'ünden izole edildiği belirtilmiştir. Araştırmada incelenen *P. multocida* izolatlarının %75'inin indol negatif olduğu tespit edilmiş ve indol negatif suşların sığırların solunum yolu hastalıklarında öneminin araştırılması gerektiği vurgulanmıştır (Autio ve ark., 2007).

Daha önce yapılan bir araştırmada ise sığırların solunum yolundan izole edilen *P. multocida* suşlarında indol, mannitol ve ornitin dekarboksilaz negatif suşların bulunabileceği bildirilmiştir (Christensen ve ark., 2004).

Farklı konakçılardan alınan örneklerden kültürü yapılan 69 adet *P. multocida* izolatının ve 3 aşı suşunun dulcitol ve sorbitol fermentasyon özelliklerine göre *P. multocida* subsp. *multocida* (%74), *P. multocida* subsp. *septica* (%18) ve *P. multocida* subsp. *gallicida* (%8) olarak alt gruplara ayrıldığı bir çalışmada; incelenen izolatlar arasında biyokimyasal farklılığın en fazla arabinoz, maltoz ve ksiloz testlerinde gözlemlendiği, söz konusu fermentasyon testleri ile izolatlar arasında 8 farklı biyotip tespit edildiği bildirilmiştir. Araştırmada indol negatif suşlara rastlanmakla birlikte *P. multocida* subsp. *gallicida* suşlarının 6'sının TSI agarda H<sub>2</sub>S pozitif olduğu rapor edilmiştir (Ekundayo ve ark., 2008).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada sağlıklı ve hasta sığırlardan elde edilen 23 adet *P. multocida* izolatının tamamının katalaz, oksidaz, nitrat redüksiyon ve TSI agarda glikoz ve laktoz testlerinde pozitif; üreaz, H<sub>2</sub>S, metil red (MR) ve VP testlerinde ise negatif bulunduğu, indol, sitrat ve sukroz, maltoz, mannitol, galaktoz, dulsitol, sorbitol, salisin, arabinoz ve trehaloz fermentasyon testlerinin izolatlar arasında farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Verma ve ark., 2013).

Sellyei ve ark. (2015)'da, sığırların solunum yolundan elde ettikleri 31 *P. multocida* izolatının ornitin dekarboksilaz, laktoz, ksiloz ve sorbitol testlerinde değişkenlik gösterdiğini; arabinoz ve dulsitol testlerinin ise tüm izolatlarda negatif olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmada izolatların  $\alpha$ -glikozidaz aktivitesi ile trehaloz fermentasyon özelliği arasında anlamlı bir ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir.

## 5.2. Moleküler Genetik Yöntemler (PCR)

*P. multocida* izolatlarının identifikasyonunda konvansiyonel yöntemlerin yanında farklı genlere yönelik spesifik primerlerin kullanıldığı PCR yöntemleri geliştirilmiştir (Kasten ve ark., 1997; Townsend ve ark., 1998; Miflin ve Blackall, 2001; Liu ve ark., 2004; Corney ve ark., 2007).

Kasten ve ark. (1997), tarafından yapılan bir araştırmada *P. multocida* izolatlarında *H. influenza* ve *H. parainfluenza*'nın P6 proteini ile benzerlik gösteren P6 dış membran proteinini kodlayan *psl* geninin çoğaltılmasına yönelik PCR yöntemi geliştirilmiştir. Ancak diğer bir araştırmada, söz konusu çalışmada yapılan optimizasyon çalışmaları sırasında kanatlı hayvanların üst solunum yollarında bulunan bazı *Pasteurella* türlerinin referans olarak kullanılmadığı ve yöntemin kanatlı izolatlarının identifikasyonunda yeterli olmayabileceği rapor edilmiştir (Hunt ve ark., 2000)

Townsend ve ark. (1998), tarafından geliştirilen *P. multocida* tür (*KMT1*) spesifik PCR (PM-PCR) ile *P. multocida*'nın kapsül serogrup A, B, D ve F suşları ile *P. multocida*'nın 3 alt tipine ait referans suşları ve *P. canis* biovar 2 suşu pozitif bulunmuştur. Araştırmada PM-PCR yönteminin *P. canis* biovar 1, *P. dagmatis*, *P. stomatis* referans suşları ile negatif sonuç verdiği rapor edilmiştir. PM-PCR bugüne kadar çok sayıda araştırmacı tarafından *P. multocida* izolatlarının identifikasyonunda kullanılmıştır (Kumar ve ark., 2009; Hotchkiss ve ark., 2011; Ülker ve ark., 2012; Verma ve ark., 2013; Khamesipour ve ark., 2014; Sarangi ve ark., 2015; Al-Maary ve ark., 2017).

Miflin ve Blackall (2001), tarafından yapılan bir araştırmada, 23S rRNA gen bölgeleri baz alınarak yapılan PCR yöntemi ile kanatlı hayvanlar ve domuzlardan elde edilen *P. multocida* izolatlarında 1432 bp'lik spesifik ampikon elde edildiği ve *P. canis* biovar 2 ve *P. avium* biovar 2 suşlarının da aynı yöntemle pozitif bulunduğu rapor edilmiştir. Ancak başka bir çalışmada söz konusu izolatların DNA-DNA hibridizasyon testi ile *P. multocida*'nın varyantları olduğu bildirilmiştir (Christensen ve ark., 2004).

Konuyla ilgili yapılan diğer bir çalışmada da, *P. multocida* Pm0762 ve Pm1231 genlerine spesifik primerlerin kullanıldığı PCR yöntemi ile domuzların solunum sistemi, kedi ısırgığı ve mastitisli sütlerden kültürü yapılan *P. multocida* izolatları ile *P. multocida* ATCC® 11039 referans suşunun pozitif bulunduğu rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2004).

Corney ve ark. (2007), geliştirdikleri 5' Taq nükleaz yöntemi ile sentezlenen primer ve probları kullanarak hem referans *P. multocida* suşlarının hem de kanatlı, domuz ve sığırlardan elde edilen izolatların pozitif bulunduğunu, *Pasteurellacea* ailesindeki diğer bakteri türlerinde ise negatif sonuç alındığını bildirmişlerdir.

## 6. TİPLENDİRME

### 6.1. Serotiplendirme

*P. multocida* izolatlarının kapsül tiplerinin belirlenmesinde indirekt hemaglutinasyon (IHA), çabuk IHA, çabuk lam aglutinasyon (Namioka ve Murata, 1961), counter immunoelectrophoresis (CIE), agar jel immunodiffüzyon (AGID), koaglutinasyon testi ve enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) gibi serolojik yöntemler kullanılmaktadır (Fillion ve ark., 1985). Son yıllarda geliştirilen ve *P. multocida* kapsül tip spesifik PCR ile de kapsül serotipleri belirlenebilmektedir (Towsened ve ark., 2001).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada (Batu ve Elverdi, 1970) mezbahada kesimi yapılan sığır ve mandaların nazal boşluklarından alınan 1106 adet svap örneğinden kültürü yapılan 28 *P. multocida* izolatının AGID yöntemi ile 24'ünün kapsül tip B olarak tanımlandığı bildirilmiştir.

Son yıllarda yapılan diğer bir çalışmada ise Aydın ve İzmir illerindeki mezbahalarda kesimi yapılan sığırların trakealarından alınan 570 svap örneğinden kültürü yapılan 28 *P. multocida* izolatının çabuk lam aglutinasyon ve AGID yöntemleri ile 15'i kapsül tip B, 10' u kapsül tip A, 1'i kapsül tip D olarak tespit edilirken, izolatların 2'sinin tiplendirilemediği rapor edilmiştir (Erbaş, 2007).

Sığır, bufalo ve koyunlardan alınan örneklerden kültürü yapılan *P. multocida* izolatlarının, *P. multocida* kapsül tip spesifik PCR yöntemi ile kapsül tiplerinin belirlendiği bir çalışmada 38 sığır izolatının 36'sının ve 34 bufalo izolatının 30'unun kapsül tip B, 28 koyun izolatının 26'sının ise kapsül tip A olduğu tespit edilmiştir (Kumar ve ark., 2009).

Arumugam ve ark. (2011), yaptıkları bir çalışmada evcil memeli ve vahşi hayvanlardan alınan örneklerden elde edilen 114 *P. multocida* izolatının aglutinasyon testi ile 55'inin kapsül tipinin belirlenemediği, 15'inin kapsül tip A, 23'ünün kapsül tip B ve 21'inin kapsül tip D olduğu tespit edilirken; PCR yöntemiyle 22'sinin tiplendirilemediği, 53'ünün kapsül tip A, 33'ünün kapsül tip B ve 6'sının kapsül tip D olarak bulunduğu bildirilmiştir. Araştırmada *P. multocida* izolatlarının kapsül tiplerinin belirlenmesinde PCR yönteminin tür spesifikliğinin oldukça yüksek ve konvansiyonel serolojik tiplendirme yöntemlerine göre daha duyarlı olduğu vurgulanmıştır.

Tavşan, koyun, sığır, domuz, keçi ve ördeklerden izole edilen 34 adet *P. multocida* izolatının PCR yöntemi ile kapsül tipinin belirlendiği diğer bir çalışmada sadece 1 koyun izolatının tip D, diğer tüm izolatların ise tip A olarak tespit edildiği bildirilmiştir (Vargas ve ark., 2012).



Al-Maary ve ark. (2017), yaptığı benzer bir çalışmada da hasta buzağı, koyun ve keçilerden kültürü yapılan 157 *P. multocida* izolatının 105'inin kapsül tip A ve 52'sinin kapsül tip E olarak belirlendiği rapor edilmiştir.

Ülkemizde *P. multocida* izolatlarının PCR ile kapsül tiplerinin belirlenmesine yönelik bir çalışmada, sığırlardan elde edilen 36 izolatın 33'ü kapsül tip A olarak belirlenirken diğer 3 izolatın tiplendirilemediği bildirilmiştir. Araştırmada 33 koyun izolatının 11'i tip D, 2'si tip A, 1'i tip F olarak tespit edilirken, 19 izolatın tiplendirilemediği, keçilerden elde edilen 3 izolatın 2'sinin kapsül tip D olduğu, 1 izolatın ve tavşanlardan elde edilen 3 izolatın kapsül tipinin belirlenemediği rapor edilmiştir (Güler ve ark., 2013).

## 6.2. Genotiplendirme

*P. multocida* izolatlarının genotipik ayrımında pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), multilokus sekans tiplendirme (MLST), ribotiplendirme, restriction endonuclease analysis (REA), random-amplified polymorphic DNA (RAPD), PCR fingerprint yöntemleri kullanılmaktadır. Kısa sürede ve kolay uygulanabilir olmaları nedeniyle RAPD ve PCR fingerprint yöntemleri diğer tekniklere göre avantaj sağlamaktadır (Blackall ve Mifflin, 2000; Dziva ve ark., 2008). PCR fingerprint yöntemi birçok araştırmacı tarafından domuz, tavşan ve kanatlı hayvanlardan elde edilen *P. multocida* izolatlarının ayrımında kullanılmış (Dabo ve ark., 1999; Dabo ve ark., 2000; Dziva ve ark., 2001; Dziva ve ark., 2004; Shivachandra ve ark., 2007), ancak sığırların solunum yolundan elde edilen izolatlarda kullanımı hakkında çok az sayıda literatüre rastlanmıştır (Taylor ve ark., 2010).

Domuzların solunum yolundan elde edilen *P. multocida* subsp. *multocida* izolatlarında M13 core ve (GACA)<sub>4</sub> primerlerinin kullanıldığı PCR-fingerprint analizinde sırasıyla 5 ve 7 farklı fingerprint profili tespit edildiği, farklı fingerprint profiline sahip izolatların aynı kapsül tipine sahip olabileceği gibi, farklı kapsül tipi taşıyanların da benzer fingerprint profili gösterebileceği bildirilmiştir (Zucker ve ark., 1996).

Atrofik rinitis semptomları gözlenen 3 farklı domuz çiftliğinden elde edilen 21 *P. multocida* izolatının RAPD kitinin kullanıldığı yöntem ile 10 ve ribotyping yöntemiyle ise 4 farklı genotipe ayrıldığı rapor edilmiş ve RAPD yönteminin ribotyping yöntemine göre izolatlar arası ayırım gücünün daha yüksek olduğu vurgulanmıştır (Dziva ve ark., 2004).

Gerardo ve ark. (2001), yaptığı bir çalışmada ise, dulcitol negatif *P. multocida* subsp. *multocida* ve *P. multocida* subsp. *septica* suşlarının sorbitol fermentasyonu ve  $\alpha$ -glikozidaz aktiviteleri M13 core PCR-fingerprint profilleri ile karşılaştırılmış,  $\alpha$ -glikozidaz aktivitesi ile PCR-fingerprint profilleri birbirleriyle ilişkili bulunurken, sorbitol fermentasyonu ile ilişkinin önemli olmadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte *P. multocida* subsp. *septica*

izolatlarında  $\alpha$ -glikozidaz pozitif bulunan tüm izolatların grup I fingerprint profiline sahip olduğu, 11 *P. multocida* subsp. *multocida* izolatının 9'unun da  $\alpha$ -glikozidaz negatif olduğu ve grup II ya da grup III PCR-fingerprint profili gösterdiği bildirilmiş ve PCR-fingerprint yönteminin *P. multocida* izolatları arasındaki genotipik farklılığın tespitinde önemli olduğu vurgulanmıştır.

Buzağuların solunum yolundan elde edilen *P. multocida* izolatlarının RAPD yöntemi ile tiplendirilmesine yönelik bir çalışmada, İskoçya'da izole edilen 105 ve Fransa'da izole edilen 140 izolatın sırasıyla 15 ve 23 farklı RAPD profili tespit edildiği bildirilmiştir. RAPD yönteminin, PFGE ve MLST yöntemiyle karşılaştırıldığında, PFGE'nin ayırım gücünün RAPD yöntemine göre daha yüksek olduğu, MLST'nin ise farklı çiftliklerden elde edilen izolatlardaki genotipik farklılığın tespit edilmesinde yeterli ayırım gücüne sahip olmadığı bildirilmiştir (Hotchkiss ve ark., 2011).

Ülkemizde *P. multocida* ve *M. haemolytica* izolatlarının OPA-11 primerinin kullanıldığı RAPD yöntemi ile tiplendirildiği bir çalışmada, sığır ve koyunlardan elde edilen *P. multocida* izolatlarında, sırasıyla 2 ve 3 ayrı RAPD profili tespit edilirken, sığır, koyun ve keçilerden izole edilen *M. haemolytica* suşlarında genotipik farklılığın tespit edilemediği bildirilmiştir (Özbey ve ark., 2004).

## KAYNAKÇA

- Ali, H. A. H., Sawada, T., Hatakeyama, H., Ohtsuki, N., & Itoh, O. (2004). Characterization of a 39 kDa capsular protein of avian *Pasteurella multocida* using monoclonal antibodies. *Veterinary Microbiology*, 100(1-2), 43-53.
- Al-Maary, K. S., Dawoud, T. M., Mubarak, A. S., Hessain, A. M., Galal, H. M., Kabli, S. A., & Mohamed, M. I. (2017). Molecular characterization of the capsular antigens of *Pasteurella multocida* isolates using multiplex PCR. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(2), 367-370.
- Angen, Ø., Mutters, R., Caugant, D. A., Olsen, J. E., & Bisgaard, M. (1999). Taxonomic relationships of the [*Pasteurella*] *haemolytica* complex as evaluated by DNA-DNA hybridizations and 16S rRNA sequencing with proposal of *Mannheimia haemolytica* gen. nov., comb. nov., *Mannheimia granulomatis* comb. nov., *Mannheimia glucosida* sp. nov., *Mannheimia ruminalis* sp. nov. and *Mannheimia varigena* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(1), 67-86.
- Arumugam, N. D., Ajam, N., Blackall, P. J., Asiah, N. M., Ramlan, M., Maria, J., Yuslan, S., & Thong, K. L. (2011). Capsular serotyping of *Pasteurella multocida* from various animal hosts-a comparison of phenotypic and genotypic methods. *Tropical Biomedicine*, 28(1), 55-63.
- Autio, T., Pohjanvirta, T., Holopainen, R., Rikula, U., Pentikäinen, J., Huovilainen, A., Rusanen, H., Soveri, T., Sihvonon, L., & Pelkonen, S. (2007). Etiology of respiratory disease in non-vaccinated, non-medicated calves in rearing herds. *Veterinary Microbiology*, 119(2-4), 256-265.
- Barbour, E. K., Nabbut, N. H., Hamadeh, S. K., & Al-Nakhli, H. M. (1997). Bacterial identity and characteristics in healthy and unhealthy respiratory tracts of sheep and calves. *Veterinary Research Communications*, 21, 421-430.
- Batu, A., & Elverdi, R. (1970). Türkiye’de sığır ve mandalardan izole edilen *Pasteurella* serotiplerinin tayini. *Pendik Vet Kont Araş Enst Derg I, II*, 50-60.
- Bisgaard, M., Houghton, S. B., Mutters, R., & Stenzel, A. (1991). Reclassification of German, British and Dutch isolates of so-called

- Pasteurella multocida* obtained from pneumonic calf lungs. *Veterinary Microbiology*, 26(1-2), 115-124.
- Blackall, P. J., Bojesen, A. M., Christensen, H., & Bisgaard, M. (2007). Reclassification of [*Pasteurella*] *trehalosi* as *Bibersteinia trehalosi* gen. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(4), 666-674.
- Blackall, P. J., Christensen, H., Beckenham, T., Blackall, L. L., & Bisgaard, M. (2005). Reclassification of *Pasteurella gallinarum*, [*Haemophilus*] *paragallinarum*, *Pasteurella avium* and *Pasteurella volantium* as *Avibacterium gallinarum* gen. nov., comb. nov., *Avibacterium paragallinarum* comb. nov., *Avibacterium avium* comb. nov. and *Avibacterium volantium* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 353-362.
- Boot, R., Van den Brink, M., Handgraaf, P., & Timmermans, R. (2004). The use of the API 20 NE bacteria classification procedure to identify Pasteurellaceae strains in rodents and rabbits. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, 31(3), 177-183.
- Boyce, J. D., & Adler, B. (2000). The capsule is a virulence determinant in the pathogenesis of *Pasteurella multocida* M1404 (B: 2). *Infection and Immunity*, 68(6), 3463-3468.
- Capitini, C. M., Herrero, I. A., Patel, R., Ishitani, M. B., & Boyce, T. G. (2002). Wound infection with *Neisseria weaveri* and a novel subspecies of *Pasteurella multocida* in a child who sustained a tiger bite. *Clinical Infectious Diseases*, 34(12), 74-76.
- Christensen, J.P., Bisgaard, M. (2000). Fowl cholera. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 19(2), 626-637.
- Chung, J. Y., Wilkie, I., Boyce, J. D., Townsend, K. M., Frost, A. J., Ghoddusi, M., & Adler, B. (2001). Role of capsule in the pathogenesis of fowl cholera caused by *Pasteurella multocida* serogroup A. *Infection and Immunity*, 69(4), 2487-2492.
- Corney, B. G., Diallo, I. S., Wright, L. L., Hewitson, G. R., De Jong, A. J., Burrell, P. C., Duffy, P. F., Stephens, C. P., Rodwell, B. J., Boyle, D. B., & Blackall, P. J. (2007). *Pasteurella multocida* detection by 5' Taq nuclease assay: a new tool for use in diagnosing fowl cholera. *Journal of Microbiological Methods*, 69(2), 376-380.
- Dabo, S. M., Taylor, J. D., & Confer, A. W. (2007). *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Animal Health Research Reviews*, 8(2), 129-150.

- Doughty, S. W., Ruffolo, C. G., & Adler, B. (2000). The type 4 fimbrial subunit gene of *Pasteurella multocida*. *Veterinary Microbiology*, 72(1-2), 79-90.
- Dungworth, D. C. (1985). The respiratory system, in '*Pathology of Domestic Animals*'. Editor, Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N, 448-489, Academic Press, Orlando.
- Dziva, F., Christensen, H., Van Leengoed, L. A. M. G., Mohan, K., & Olsen, J. E. (2004). Differentiation of *Pasteurella multocida* isolates from cases of atrophic rhinitis in pigs from Zimbabwe by RAPD and ribotyping. *Veterinary Microbiology*, 102(1-2), 117-122.
- Dziva, F., Muhairwa, A. P., Bisgaard, M., & Christensen, H. (2008). Diagnostic and typing options for investigating diseases associated with *Pasteurella multocida*. *Veterinary Microbiology*, 128(1-2), 1-22.
- Ekundayo, S. O., Odugbo, M. O., Olabode, A. O., & Okewole, P. A. (2008). Phenotypic variability among strains of *Pasteurella multocida* isolated from avian, bovine, caprine, leporine and ovine origin. *African Journal of Biotechnology*, 7(9).
- Erbaş, G. (2007). Aydın ve İzmir bölgesindeki sığırlardan *Pasteurella multocida*'nın izolasyonu, tiplendirilmesi ve antibiyotiklere duyarlılıkları. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Aydın.
- Ewers, C., Lübke-Becker, A., Bethe, A., Kießling, S., Filter, M., & Wieler, L. H. (2006). Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Veterinary Microbiology*, 114(3-4), 304-317.
- Fegan, N., Blackall, P. J., & Pahoff, J. L. (1995). Phenotypic characterisation of *Pasteurella multocida* isolates from Australian poultry. *Veterinary Microbiology*, 47(3-4), 281-286.
- Filion, L. G., Cho, H. J., Shewen, P. E., Raybould, T. J., & Wilkie, B. N. (1985). Comparison of serological techniques to measure antibody to *Pasteurella haemolytica* A1. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 49(1), 99.
- Gagea, M. I., Bateman, K. G., Van Dreumel, T., McEwen, B. J., Carman, S., Archambault, M., Shanahan, R. A., & Caswell, J. L. (2006). Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18(1), 18-28.
- Galdiero, M., Folgore, A., Nuzzo, I., & Galdiero, E. (2000). Neutrophil adhesion and transmigration through bovine endothelial cells in vitro

- by protein H and LPS of *Pasteurella multocida*. *Immunobiology*, 202(3), 226-238.
- Hunt Gerardo, S., Citron, D. M., Claros, M. C., Fernandez, H. T., & Goldstein, E. J. (2001). *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* and *P. multocida* subsp. *septica* differentiation by PCR fingerprinting and  $\alpha$ -glucosidase activity. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(7), 2558-2564.
- Guler, L., Gunduz, K., & AS, S. (2013). Capsular typing and antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from different hosts. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(5), 843-849.
- Haritani, M., Narita, M., Murata, H., Hashimoto, K., & Takizawa, T. (1989). Immunoperoxidase evaluation of pneumonic lesions induced by *Pasteurella multocida* in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 50(12), 2162-2167.
- Harper, M., Boyce, J. D., & Adler, B. (2006). *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS Microbiology Letters*, 265(1), 1-10.
- Hirose, K., Kobayashi, H., Ito, N., Kawasaki, Y., Zako, M., Kotani, K., Ogawa, H., & Sato, H. (2003). Isolation of Mycoplasmas from nasal swabs of calves affected with respiratory diseases and antimicrobial susceptibility of their isolates. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 50(7), 347-351.
- Horadagoda, N. U., Hodgson, J. C., Moon, G. M., Wijewardana, T. G., & Eckersall, P. D. (2002). Development of a clinical syndrome resembling haemorrhagic septicaemia in the buffalo following intravenous inoculation of *Pasteurella multocida* serotype B: 2 endotoxin and the role of tumour necrosis factor- $\alpha$ . *Research in Veterinary Science*, 72(3), 194-200.
- Horwood, P. F., & Mahony, T. J. (2011). Multiplex real-time RT-PCR detection of three viruses associated with the bovine respiratory disease complex. *Journal of Virological Methods*, 171(2), 360-363.
- Hotchkiss, E. J., Hodgson, J. C., Schmitt-Van De Leemput, E., Dagleish, M. P., & Zadoks, R. N. (2011). Molecular epidemiology of *Pasteurella multocida* in dairy and beef calves. *Veterinary Microbiology*, 151(3-4), 329-335.
- Hunt, M. L., Adler, B., & Townsend, K. M. (2000). The molecular biology of *Pasteurella multocida*. *Veterinary Microbiology*, 72(1-2), 3-25.

- Kasten, R. W., Carpenter, T. E., Snipes, K. P., & Hirsh, D. C. (1997). Detection of *Pasteurella multocida*-specific DNA in turkey flocks by use of the polymerase chain reaction. *Avian Diseases*, 676-682.
- Khamesipour, F., Momtaz, H., & Azhdary Mamoreh, M. (2014). Occurrence of virulence factors and antimicrobial resistance in *Pasteurella multocida* strains isolated from slaughter cattle in Iran. *Frontiers in Microbiology*, 5, 536.
- Kimura, A. L. A. N., Mountzouros, K. T., Relman, D. A., Falkow, S., & Cowell, J. L. (1990). *Bordetella pertussis* filamentous hemagglutinin: evaluation as a protective antigen and colonization factor in a mouse respiratory infection model. *Infection and Immunity*, 58(1), 7-16.
- Kumar, P., Singh, V. P., Agrawal, R. K., & Singh, S. (2009). Identification of *Pasteurella multocida* isolates of ruminant origin using polymerase chain reaction and their antibiogram study. *Tropical Animal Health and Production*, 41, 573-578.
- Lee, C. W., Wilkie, I. W., Townsend, K. M., & Frost, A. J. (2000). The demonstration of *Pasteurella multocida* in the alimentary tract of chickens after experimental oral infection. *Veterinary Microbiology*, 72(1-2), 47-55.
- Liu, D., Lawrence, M. L., & Austin, F. W. (2004). Specific PCR identification of *Pasteurella multocida* based on putative transcriptional regulator genes. *Journal of Microbiological Methods*, 58(2), 263-267.
- Lizarazo, Y. V., Ferri, E. R., & Martín, C. G. (2008). Evaluation of different API systems for identification of porcine *Pasteurella multocida* isolates. *Research in Veterinary Science*, 85(3), 453-456.
- Lopez, A. (2007). Respiratory system, in 'Pathological Basis of Veterinary Disease', Editors, McGarvin MD, Zachary, 522-523, Mosby Elsevier, St. Louis.
- Lu, Y. S., Lai, W. C., Pakes, S. P., & Nie, L. C. (1991). A monoclonal antibody against a *Pasteurella multocida* outer membrane protein protects rabbits and mice against pasteurellosis. *Infection and Immunity*, 59(1), 172-180.
- Luo, Y., Glisson, J. R., Jackwood, M. W., Hancock, R. E., Bains, M., Cheng, I., & Wang, C. (1997). Cloning and characterization of the major outer membrane protein gene (ompH) of *Pasteurella multocida* X-73. *Journal of Bacteriology*, 179(24), 7856-7864.
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., Maguire, D. (2013). *Pasteurella*, *Mannheimia*, *Bibersteinia* and *Avibacterium* species,

- chapter 21, in ‘*Clinical Veterinary Microbiology*’ Second Edition, 307-316, Elsevier Ltd., UK.
- Mathy, N. L., Mathy, J. P., Lee, R. P., Walker, J., Lofthouse, S., & Meeusen, E. N. T. (2002). Pathological and immunological changes after challenge infection with *Pasteurella multocida* in naive and immunized calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85(3-4), 179-188.
- Merlin, C., Gardiner, G., Durand, S., & Masters, M. (2002). The Escherichia coli metD locus encodes an ABC transporter which includes Abc (MetN), YaeE (MetI), and YaeC (MetQ). *Journal of Bacteriology*, 184(19), 5513-5517.
- Mifflin, J. K., & Blackall, P. J. (2001). Development of a 23S rRNA-based PCR assay for the identification of *Pasteurella multocida*. *Letters in Applied Microbiology*, 33(3), 216-221.
- Mizan, S., Henk, A., Stallings, A., Maier, M., & Lee, M. D. (2000). Cloning and characterization of sialidases with 2-6' and 2-3' sialyl lactose specificity from *Pasteurella multocida*. *Journal of Bacteriology*, 182(24), 6874-6883.
- Mohamed, R. A., & Abdelsalam, E. B. (2008). A review on pneumonic pasteurellosis (respiratory mannheimiosis) with emphasis on pathogenesis, virulence mechanisms and predisposing factors. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 11(3), 139-160.
- Mosier, D. A. (1997). Bacterial pneumonia. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 13(3), 483-493.
- Namioka, S., & Murata, M. (1961). Serological studies on *Pasteurella multocida*. I. A simplified method for capsule typing of the organism. *Cornell Veterinarian*, 51, 498-507.
- Ogunnariwo, J. A., & Schryvers, A. B. (2001). Characterization of a novel transferrin receptor in bovine strains of *Pasteurella multocida*. *Journal of Bacteriology*, 183(3), 890-896.
- Ozbey, G., Kilic, A., Ertas, H. B., & Muz, A. (2004). Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of *Pasteurella multocida* and *Manheimia haemolytica* strains isolated from cattle, sheep and goats. *Veterinárni Medicína*, 49(3), 65.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., FitzPatrick, E. S., Fanning, S., Hartigan, P. J. (2011). *Pasteurella* species, *Mannheimia haemolytica* ve *Bibersteinia trehalosi*, chapter 27, in “*Veterinary Microbiology*



- and Microbial Disease*” Second Edition, 300-308, John Wiley & Sons Ltd., UK.
- Adler, R., & Adler, B. (1991). Opsonic monoclonal antibodies against lipopolysaccharide (LPS) antigens of *Pasteurella multocida* and the role of LPS in immunity. *Veterinary Microbiology*, 26(4), 335-347.
- Rimler, R. B., Glisson, J. R. (1997). Fowl cholera, in '*Disease of Poultry*', 10th Edition, Editor, Calnek, B. W., Barnes, H. J., Beard, C. W., McDougald, L. R. and Saif, Y. M., 143-161, Iowa State University Press, Ames.
- Rimler, R. B., Rhoades, K. R. (1989). *Pasteurella multocida*, in *Pasteurella and Pasteurellosis*, Editors, Adlam, C., Rutter, J. M., 37-73, Academic Press Limited, London.
- Ryu, H. I., & Kim, C. J. (2000). Immunologic reactivity of a lipopolysaccharide-protein complex of type A *Pasteurella multocida* in mice. *Journal of Veterinary Science*, 1(2), 87-95.
- Samuel, M. D., Shadduck, D. J., Goldberg, D. R., & Johnson, W. P. (2003). Comparison of methods to detect *Pasteurella multocida* in carrier waterfowl. *Journal of Wildlife Diseases*, 39(1), 125-135.
- Sarangi, L. N., Thomas, P., Gupta, S. K., Priyadarshini, A., Kumar, S., Nagaleekar, V. K., Kumar, A., & Singh, V. P. (2015). Virulence gene profiling and antibiotic resistance pattern of Indian isolates of *Pasteurella multocida* of small ruminant origin. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 38, 33-39.
- Sellyei, B., Rónai, Z., Jánosi, S., & Makrai, L. (2015). Comparative analysis of *Pasteurella multocida* strains isolated from bovine respiratory infections. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 62(4), 453-461.
- Shivachandra, S. B., Kumar, A. A., & Chaudhuri, P. (2007). Short communication differentiation of Avian *Pasteurella multocida* strains by single-primer PCR. *Veterinary Research Communications*, 31, 941-949.
- Smith, R. A. (1998). Impact of disease on feedlot performance: a review. *Journal of Animal Science*, 76(1), 272-274.
- Srikumaran, S., Kelling, C. L., & Ambagala, A. (2007). Immune evasion by pathogens of bovine respiratory disease complex. *Animal Health Research Reviews*, 8(2), 215-229.
- Tang, X., Zhao, Z., Hu, J., Wu, B., Cai, X., He, Q., & Chen, H. (2009). Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella*

- multocida* strains from swine in China. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(4), 951-958.
- Taylor, J. D., Fulton, R. W., Dabo, S. M., Lehenbauer, T. W., & Confer, A. W. (2010). Comparison of genotypic and phenotypic characterization methods for *Pasteurella multocida* isolates from fatal cases of bovine respiratory disease. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22(3), 366-375.
- Tegtmeier, C., Uttenthal, A. A., Friis, N. F., Jensen, N. E., & Jensen, H. E. (1999). Pathological and microbiological studies on pneumonic lungs from Danish calves. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 46(10), 693-700.
- Townsend, K. M., Boyce, J. D., Chung, J. Y., Frost, A. J., & Adler, B. (2001). Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(3), 924-929.
- Townsend, K. M., Frost, A. J., Lee, C. W., Papadimitriou, J. M., & Dawkins, H. J. (1998). Development of PCR assays for species-and type-specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(4), 1096-1100.
- Ulker, H., Kucuk, D., Cantekin, Z., & Solmaz, H. (2012). Hatay yöresinde kesimhanede kesilen sığır akciğerlerinden *Pasteurella multocida* ve *Mannheimia haemolytica* izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılığı. *AVKAE Derg*, 2(2), 10-14.
- Soriano-Vargas, E., Vega-Sánchez, V., Zamora-Espinosa, J. L., Acosta-Dibarrat, J., Aguilar-Romero, F., & Negrete-Abascal, E. (2012). Identification of *Pasteurella multocida* capsular types isolated from rabbits and other domestic animals in Mexico with respiratory diseases. *Tropical Animal Health and Production*, 44, 935-937.
- Verma, S., Sharma, M., Katoch, S., Verma, L., Kumar, S., Dogra, V., Chahota, R., Dhar, P., & Singh, G. (2013). Profiling of virulence associated genes of *Pasteurella multocida* isolated from cattle. *Veterinary Research Communications*, 37, 83-89.
- Virtala, A. M., Grohn, Y. T., Mechor, G. D., Erb, H. N., & Dubovi, E. J. (2000). Association of seroconversion with isolation of agents in transtracheal wash fluids collected from pneumonic calves less than three months of age. *The Bovine Practitioner*, 77-80.
- Wijewardana, T. G., Wilson, C. F., Gilmour, N. J. L., & Poxton, I. R. (1990). Production of mouse monoclonal antibodies to *Pasteurella multocida*

type A and the immunological properties of a protective anti-lipopolysaccharide antibody. *Journal of Medical Microbiology*, 33(4), 217-222.

Zucker, B., Krüger, M., Horsch, F. (1996). Differentiation of *Pasteurella multocida* subs. *multocida* isolates from respiratory system of pigs by using polymerase chain reaction fingerprint technique. *Journal of Veterinary Medicine B*, 43, 585-591.

## BÖLÜM 2

### CİNSİYETİ BELİRLENMİŞ SPERMA TEKNOLOJİSİ VE SÜT SİĞİRİ YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GÜNCEL KULLANIMI

Doç. Dr. Ebru KARAKAYA BİLEN<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408053>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, CeyhanVeteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı, Adana, Türkiye. ebilen@cu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-4837-1858



## GİRİŞ

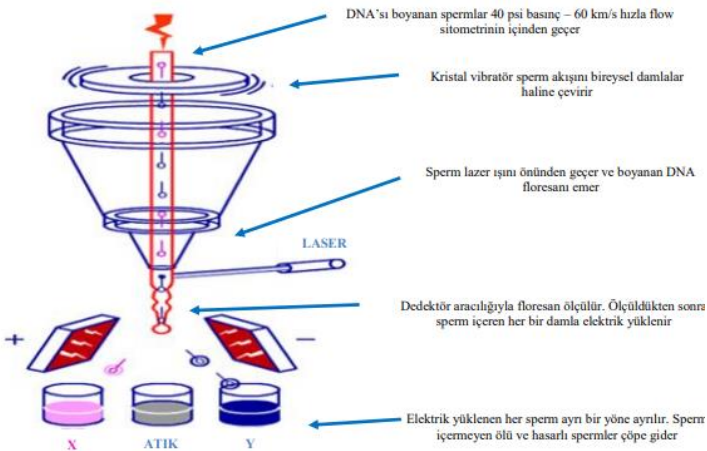
Dünya genelinde süt ve sığır eti ürünlerine yönelik artan bir talep mevcuttur ve bu durum işletmelerde reproduktif anlamda yeni teknolojik gelişmeler ile üretimi arttırmaya daha fazla odaklanmayı gerektirmektedir. Cinsiyete göre seçilmiş veya cinsiyete göre ayrılmış sperma teknolojisi neredeyse son otuz yıldır sütçü işletme endüstrisinde ticari olarak kullanılmaktadır. Özellikle süt hayvancılığında erkek buzağının ekonomik öneminin az olması, dişi buzağı ile doğum kolaylığının sağlanması, sürü içi büyümenin sağlanması, genetik ilerlemenin hızlandırılması gibi sebeplerden dolayı dişi buzağı elde edebilmek için cinsiyeti belirlenmiş sperma (CBS) kullanımı son yıllarda dünya çapında giderek yaygınlaşmaktadır. Türkiye’de ithal edilen tohumların 2019 yılı verilerine göre 3.003.560’ı konvansiyonel sperma, 38.604’ü ise CBS (%1,28) iken; 2023 yılında 3.034.814 konvansiyonel sperma, 204.794 CBS (%6,74) olduğu görülmektedir. Bu rakamlar cinsiyeti belirlenmiş sperma kullanım oranının diğer ülkelerdeki kadar hızlı olmasa da ülkemizde de arttığını göstermektedir.

### 1.Sperma Cinsiyetinin Belirlenmesinin Tarihçesi

Mikroskopik olarak ilk defa cinsiyet kromozomunun tayin edilmesinin ardından birçok araştırmacı istenilen cinsiyette yavru elde edilebilmesi için X ve Y spermaları arasındaki farklılıklardan yola çıkarak çeşitli yöntemler geliştirmiştir. 80’li yılların başından bu yana, flow-sitometri yöntemini kullanılarak X ve Y kromozomlarındaki DNA farklılığına dayanarak spermaların ayrılması üzerine çalışmalar yapılmıştır (Johnson ve ark., 1989). Bu teknikte öncelikle dört memeli türünde X ve Y sperma hücrelerinin DNA içeriğindeki farklılıkları doğru bir şekilde tanımlanabildiği görüldü; sığırlar, domuzlar, tavşanlar ve koyunlar (Garner ve ark., 1983). Cinsiyete göre ayrılmış spermadan doğan ilk canlı yavru bir tavşandır. Sığırlarda X ve Y sperm hücreleri arasındaki ağırlığın cins farklılığına göre %3.73-%4.98 arasında olduğu bildirildi. *Bos indicus* sığırlarında X ve Y kromozomları arasında %3.73 oranında daha az ağırlık farkı bulunurken, *Bos taurus* sığırlarında X ve Y kromozomları arasında %4.98 oranında ağırlık farkı bildirildi (Garner ve Seidel, 2008). Boğa spermasında cinsiyet ayırımının yapılması ve ticari olarak üretime sunulmasına 2003 yılında başlandı, 2004 yılında sütçü işletmelerde kullanılmaya başlandı ancak CBS satışları 2006 yılına kadar bir gelişme göstermedi (De Vries ve Nebel, 2009). Günümüzde flow- sitometri, sperma ayırma güvenilirliği en yüksek olan tek yöntem olarak kabul edilmektedir (Seidel, 2014). Diğer türlerde de ticarileşmesi ve satışlarında artış olması amacıyla çalışmalar devam etmektedir.

## 2. Sperma Ayırma Teknolojisi - Flow-sitometrik Yöntem

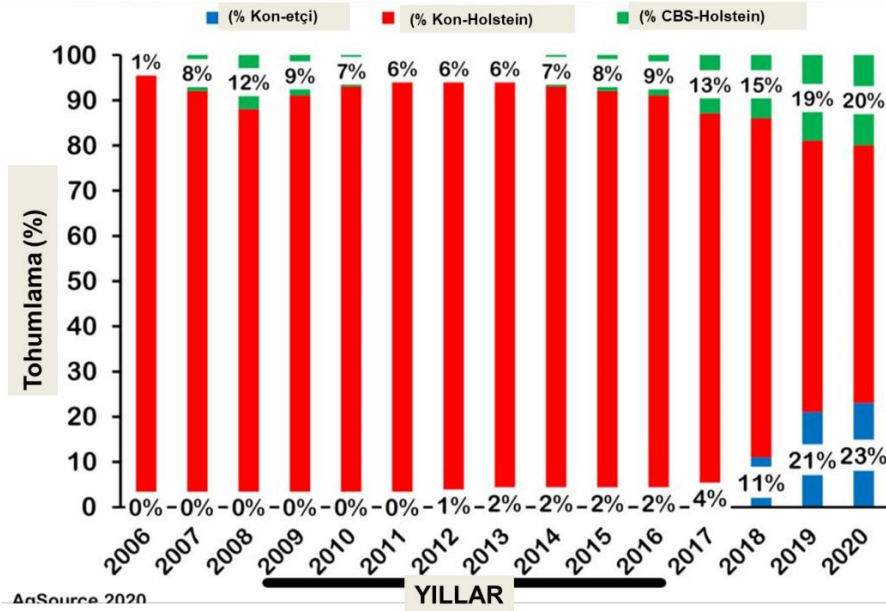
Flow sitometrik yöntemle dayalı spermada cinsiyet belirleme işlemi, 20 yıl önceki ilk uygulamasından bu yana ayırma ve üretim verimliliğinde (teknikğin ticari olarak uygulanabilirliğine yönelik bir amaç doğrultusunda) bir takım iyileştirmelerden geçmiştir (Schenk ve ark., 1999). Günümüzde en yaygın ve güvenilir olarak kullanılan bu yöntemde sperma istenilen cinsiyete göre yaklaşık %90 oranında ayrılabilir (Holden ve Butler, 2018). Spermanın istenilen cinsiyete göre ayrılması işleminde sperma konvasiyonel payet üretimine göre çok daha fazla basamaktan oluşan farklı işlemlerden geçmektedir. Öncelikli olarak cinsiyete göre ayırma işleminde ilk aşamada spermanın çok düşük konsantrasyona kadar sulandırılması gerekir (Garner ve ark., 1983; Jain, 2011). Daha sonra spermanın DNA'sı üzerinde genodotoksik etkisi olmayan ve geçici olarak nükleik asidin adenin-tiamin bölgesine bağlanan Hoechst 33342 (40-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)) boya ile boyanması sağlanır (Garner, 2006). Boyama işleminden sonra spermanın flow-sitometri makinesinden belirli bir basınç ve hızda geçmesi sağlanır. Burada lazer ışınına maruz kalan spermalar içerdikleri boya miktarına göre floresan göstermektedir ve bu sayede daha fazla DNA içeren X sperması daha fazla ışın absorbe eder (Garner, 2006). Sperma damlacıklar halinde makineden geçerken son aşamada X kromozomu pozitif elektrikle yüklenirken, Y kromozomu negatif elektrik ile yüklenir (Seidel, 2007). DNA içeriği belirlenemeyen, sperma içermeyen veya hasarlı sperm taşıyan damlacıklar elektriksel yük ile yüklenmediği için atık olarak sistemden çıkar. Ayrıca hasarlı hücre membranına sahip spermanın da ayrılarak uzaklaştırma işlemi sağlanmaktadır. Sonuç olarak bu işlem sonrasında spermalar X, Y ya da tanımlanamayan ölü spermalar olarak 3 farklı tüpe ayrıştırılır (Şekil 1).



Şekil 1. Flow sitometrik yöntemle sperma ayırma işleminin basit bir şeması (Vishwanath, 2014).

Ayrıştırma işleminin uygun bir şekilde yapılabilmesi için spermanın floresan ve lazerden düzgün bir şekilde geçmesi gerekir (Jain, 2011). Boğa spermasının baş kısmının düz olması özelliğinden dolayı flow-sitometri makinesinden %60-70 oranında düzgün bir şekilde geçer. Ancak semen zaten %48-49 oranında X kromozomu içeren sperma ihtiva ettiği için yalnızca %15-20 gibi bir oran istenilen cinsiyete göre ayrılmış çıkar. Çoğunlukla da %60 civarında spermanın cinsiyeti, hasarlı olmasından veya herhangi başka bir sebepten dolayı belirlenemez (Seidel, 2014). Teknolojinin ilk kullanılmaya başlanıldığı yıllarda sperma ayırma işleminin yavaş olması ve elde edilen pazarlanabilir ürünün çok az olmasından dolayı ekonomik olması amacıyla payetler içerisine yaklaşık 2 milyon kadar sperma konulmuştur (De Vries ve Nebel, 2009). Spermanın boyanması, uygulanan basınç, hız, ultraviyole ışından geçmeleri, ayrıştırma, dondurma ve çözme işlemleri sonucu spermanın hareket kabiliyetinde azalma, kromatin stabilizasyonunun zarar görmesi, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonlarının hızlanması gibi istenilmeyen durumlar söz konusu olabilmektedir (Seidel, 2003; Suh ve ark., 2005; Garner, 2006). Bununla birlikte her ne kadar boğa sperması yüksek bir ayrıştırılma kapasitesine sahip olsa da her boğanın sperması bu işlem için uygun olmayabilir (Seidel, 2007). Konvansiyonel spermada yüksek gebelik oranlarına sahip bir boğanın cinsiyeti belirlenmiş sperma payetleri kullanıldığında gebelik oranları düşük çıkabilir (Garner, 2006; Frijters ve ark., 2009). İlk yıllarda CBS ile yapılan farklı araştırmaların sonuçlarının değerlendirildiği bir derlemede CBS ile elde edilen gebelik oranlarının düvelerde %31-60, ineklerde ise %21-25 olduğu bildirilmiştir (Kurykin, 2017). Teknolojinin kullanılmaya başlanıldığı ilk yıllarda üretimin maliyetli ve çıkan ürünün az olması nedeniyle konvansiyonel sperma payetlerine göre pahalı olması ve gebelik oranlarının düşük çıkması nedeniyle CBS 2006 yılından 2015 yılına kadar sınırlı bir kullanım alanına sahip olmuştur (Şekil 2). Günümüzde ise özellikle 500 ve üzeri sağmal ineğe sahip işletmelerde kullanım oranı daha yüksektir.





**Şekil 2.** ABD'de 2006'dan 2020'ye kadar Holstein dişilerini (düveler ve sütçü inekler) tohumlamak için konvansiyonel etçi (% Kon-etçi), konvansiyonel Holstein (% Kon-Holstein) ve cinsiyeti belirlenmiş sperma Holstein (% CBS-Holstein) kullanılarak yapılan tohumlamaların oranı. Veriler AgSource Dairy, Madison, WI.

Ancak son yıllarda teknolojinin ilerlemesi ile birlikte bahsedilen bütün bu olumsuzluklarda ciddi bir iyileşme sağlanmıştır (Vishwanath ve Moreno, 2018). Spermanın ayrıştırılması işleminde maruz kaldığı olumsuz durumların azaltılmasına yönelik çalışmalar sonucunda ayrıştırma süreci güncellenmiş ve SexedULTRA™ teknolojisine geçiş yapılmıştır böylece payetler içerisindeki sperma miktarı 4 milyona çıkartılmıştır (Gonzalez-Marín ve ark., 2016; Gonzalez-Marín ve ark., 2018; Vishwanath ve Moreno, 2018). 2017 yılından itibaren de üretilen payetler SexedULTRA-4M™ adıyla piyasaya sunulmuştur. Bu yeni teknolojiye, XY teknolojisi ile karşılaştırıldığında sperm motilitesinin ve akrozom bütünlüğünün arttığı, ayrıştırma sürecinin hızlandığı ve çıkan ürünün daha fazla olduğu bildirilmiştir (Gonzalez-Marín ve ark., 2016). Bu teknolojik ilerlemelerin elde edilen gebelik oranlarında %4.5 ile %7.4 arasında artışa neden olduğu da bildirilmektedir (Hall ve ark., 2017). Günümüzde flow sitometri yöntemi ile üretim tek bir şirket tarafından yapılmakta ve payetler  $2 \times 10^6$  ya da  $4 \times 10^6$  adet canlı sperma içeren dozlarda satışa sunulmaktadır. Sperma ayırma sürecinde ki teknolojik ilerlemeler sayesinde istenilen cinsiyette buzağıya sahip olma oranını %90'dan %96-97 seviyelerine çıktığı da bildirilmektedir.

### 3.Cinsiyeti Belirlenmiş Sperma Kullanımının Sütçü İşletmeler İçin Önemi

Sütçü işletmelerde yüksek süt verimine bağlı olarak fertilitede düşüş görülmesinin yanı sıra son yıllarda karşılaşılan en önemli problemlerden birisi de sürüden çikartma yaşının düşmesidir. Bu nedenle sürü büyüklüğünü koruyabilmek ya da fazla sayıda üretilen damızlık düvenin satılarak ekonomik kazanç sağlanabilmesi için işletmede daha fazla dişi buzağı doğması amaçlanmaktadır (Quelhas ve ark., 2023). İşletmede doğacak genetik kapasitesi yüksek dişi buzağılar sayesinde sürüye dışarıdan hayvan teminine gerek kalmayacağı için bu durum biyogüvenlik açısından da önemlidir. Sütçü işletmeler için istenilmeyen erkek buzağı ve bunlara bağlı görülebilecek güç doğum olgularının da önüne CBS kullanımı ile büyük ölçüde geçilebilmektedir (Norman ve ark., 2010; Holden ve ark., 2014). Çünkü dişi buzağuların erkeklerden 2 kg daha düşük doğum ağırlığına sahip olması güç doğum oranı düşürmekte ve bu durum özellikle ilk doğumunu yapacak olan düveler için önem arz etmektedir (Norman ve ark., 2010). Doğum kolaylığına geniş perspektifte bakıldığında güç doğumlara bağlı görülebilecek buzağı ölümlerinde azalma, güç doğum sonrası görülme insidansları artan retensiyon secundinarum, metritis, ovaryum aktivitesinin geç başlaması ve bunlara bağlı olarak fertilitede düşme gibi problemlerin görülmesindeki azalma sayesinde buzağılama aralığının işletmelerde ekonomik sınırlar içerisinde tutulabilmesini de sağlar (Holden ve Butler, 2018). Ayrıca cinsiyeti belirlenmiş spermadan doğan buzağılarda doğum ağırlığı, yaşama gücü, kilo kazanımı ve ölüm oranlarının konvansiyonel spermadan doğandan farklı olmadığı bildirilmiştir. Gebelik süresinin ve abort oranlarının da farklı olmadığı görülmüştür (Tumban ve ark., 2004). İneklerde güç doğum ve freemartin düve doğumlarına neden olan ikiz gebelik doğumları da CBS kullanımı ile azalmaktadır. Healy ve ark. (2013) CBS kullanımı sonrası doğan ikiz buzağılardan %60'ının dişi-dişi, %30'unun dişi-erkek ve %10'unun da erkek-erkek olduğunu tespit ederken, konvansiyonel spermadan doğan freemartin düve oranını %46 olarak bildirmişlerdir. Öte yandan 1.49 milyon ineğin değerlendirildiği bir çalışmada, ilk laktasyonda dişi buzağı doğuran düvelerin, erkek buzağı doğuranlardan 143 litre daha fazla süt verdiği bildirilmiştir. İkinci ve daha sonraki buzağılar için artış 95 litre civarında tespit edilmiştir (Hinde ve ark., 2014). Embriyo transferi çalışmalarında amaç genetik ilerlemenin hızlandırılmasıdır ve bu işlemde CBS kullanımı ile birlikte sürüdeki genetik ilerlemenin daha hızlı gerçekleştirildiği görülmektedir (Seidel, 2014).

#### **4.Cinsiyeti Belirlenmiş Sperma Kullanımında Gebelik Oranını Etkileyen Faktörler**

Üretim maliyetinin yüksek olması ve elde edilen gebeliklerin konvansiyonel spermaya göre düşük olması CBS'nin ilk çıktığı yıllarda kullanımının sınırlı kalmasına neden olmuştur (Reese ve ark., 2021). Fakat ekonomik çalışmalar göstermiştir ki sütü ya da etçi işletme modellerinde istenilen cinsiyette buzağıya sahip olunması ile 300 Amerikan Doları daha fazla kazanç sağlanabilmektedir (De Vries, 2008). Sperma ayırma teknolojisindeki gelişmelerle birlikte maliyetinde azalma ve payetler içerisindeki sperma sayısında artış sağlanmıştır. Ancak CBS ile elde edilen gebelik oranları hala konvansiyonel sperma ile elde edilenlere göre bazı çalışmalarda düşük kalmaktadır. Bunun nedenleri arasında işletmelerdeki yetersiz östrus tespit oranı, bakım-besleme koşulları ya da sağlık ile ilgili yönetsel hatalar yer almaktadır (Seidel ve DeJarnette, 2022).

CBS ile yapılan çalışmalara bakıldığında gebelik oranını etkileyen faktörler şu şekilde özetlenebilir;

-Ayrıştırma sürecinden dolayı spermelerde kapasitasyon süresinin etkilendiği ve spermanın fertilizasyon ömrünün azaldığı bildirilmektedir (Seidel, 2007). Bu nedenle ovulasyona yakın zamanda yapılacak tohumlamaların gebelik oranını arttıracığı bildirilmiştir (Guner ve ark., 2020, Moore ve ark., 2023).

- İlk yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki ayrıştırma sürecindeki olumsuzlukların tam olarak giderilememesi durumunda sadece payetlerdeki CBS'nin dozunun artırılmasının tek başına gebelik oranına olumlu etkisi olmayacaktır (Seidel ve Schenk, 2008; DeJarnette ve ark., 2008). Ancak yeni teknoloji ile birlikte payetlerdeki dozun artması gebelikler üzerine olumlu etki yapmıştır (Vishwanath ve Moreno, 2018).

- Laktasyon sayısı da gebelik oranlarını etkileyen bir faktördür. Bu nedenle düvelerin ve primipar ineklerin ilk tohumlamalarında CBS kullanımının daha stratejik olduğu bildirilmektedir (Healy ve ark., 2013; Seidel ve DeJarnette, 2022).

- Özellikle doğal kızgınlıkları takiben CBS kullanılmasının daha yüksek gebelik oranları ile sonuçlandığı bildirilmesine rağmen işletmelerdeki en büyük problem östrusların doğru ve yeterli olarak tespit edilememesidir (Ribeiro ve ark., 2012). Bu doğrultuda zaman ayarlı senkronizasyon protokollerinin kullanımı reprodüktif yönetimin düzgün yapılabilmesi için düve ve ineklerde zorunluluk haline gelmektedir. CBS'nin bu protokoller ile kullanımı ve yeterli gebelik oranlarının elde edilebilmesi için farklı çalışmalar

yapılmıştır (Karakaya ve ark., 2014; Karakaya-Bilen ve ark., 2019; Güner ve ark., 2021).

- Gebelik sonuçlarını etkileyen en önemli etmenlerden birisi de boğanın fertilitesidir. Konvansiyonel spermada yüksek gebelik oranlarına sahip olan bir boğanın CBS ile elde edilecek gebelik oranları düşük olabilir. Her boğa spermasının ayırma işlemine aynı şekilde dayanıklı olmadığı bilinmektedir ve gebelik oranı ortaya konulmuş bir CBS'yi kullanmak önemli bir strateji olacaktır (Hall ve ark., 2017; Güner ve ark., 2020). DeJarnette ve ark. (2011) düve ve ineklerde yaptığı çalışmada farklı dozlarda ve farklı boğalardan elde ettikleri CBS kullanmış, gebelik oranı sperma dozundan etkilenmezken, boğanın etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak uygun boğa seçimi CBS'nin işletmelerde kullanımı yönünden önemli bir ayrıntıdır.

- CBS'nin yaşam süresinin normal spermaya göre daha kısa olması ve kapasitasyonunun erken başlaması nedeniyle tohumlamaların muhtemel ovulasyonun olacağı kornu uteriye yapılması denenmiş fakat gebelik oranları üzerine olumlu bir etkisi olmadığı çalışmalarda görülmüştür (Kurykin ve ark., 2007; Karakaya ve ark., 2014).

- Hem konvansiyonel hem de CBS'de tohumlayıcının etkisi göz ardı edilemez bir faktördür. Deneyimsiz ve özensiz davranan tohumlayıcılarda gebelik oranlarının daha düşük olduğu bildirilmektedir (Vartia ve ark., 2017; Güner ve ark., 2020).

- CBS'nin kullanılmaya başlanıldığı ilk yıllarda özellikle gebe kalma oranı daha yüksek olan düvelerde ve yine özellikle doğal kızgınlıklarını takiben tohumlanması gerektiği bildirilmekteydi. İlerleyen teknoloji ile birlikte ve uygun östrus tespit yöntemlerinin ya da senkronizasyon protokollerinin kullanımının yaygınlaşması ile ideal tohumlama zamanının belirlenmesi gebelik oranlarında da artış görülmesine neden olmuştur (Seidel ve DeJarnette, 2022). Öte yandan yıllar içerisinde CBS kullanımı düvelerde ineklere oranla çok daha hızlı bir ivme yakalamıştır (Hutchison ve Bickhart, 2016).

## **5. Cinsiyeti Belirlenmiş Spermanın Düvelerde Kullanımı**

Günümüze kadar CBS'nin kullanımında gebelik oranlarının düşük olması nedeniyle sadece düvelerde ilk tohumlamada ve östrus takibi sonrası kullanılmasının daha uygun olduğu bildirilmiştir. Bu düşünce de zaman ayarlı suni tohumlama protokollerinde ve ineklerdeki kullanımının yaygınlaşmasını kısıtlamıştır (Seidel, 2007). Ayırma sürecinde zaman içerisinde kaydedilen gelişmelere rağmen, cinsiyeti belirlenmiş sperma ile tohumlanan düvelerin gebelik oranlarının konvansiyonel sperma ile tohumlanan düvelere göre %11 civarında daha düşük olduğu bildirilmiştir (Silva ve ark., 2015; Noonan ve ark., 2016; Chebel ve Cunha 2020). Öte yandan Holştayn ırkı düvelerin

cinsiyeti belirlenmiş sperma ile tohumlanma oranı 2007'den 2015'e kadar toplam %9'dan %30'a, gebelik oranları ise %42'den %49'a çıkmıştır (Hutchinson ve Bickhart, 2016). Bu nedenle, cinsiyeti belirlenmiş spermadan elde edilecek gebeliklerin artırılabilmesi için düvelerde kullanılacak tohumlama protokollerinin işletmelerin ekonomisini geliştirmek için optimize edilmesi gerekmektedir. Dişi sperma ayırma işleminin spermada kısmi kapasiteye neden olduğu bundan dolayı dişi üreme sistemindeki kapasiteyi için gerekli sürenin daha az olduğu bilinmektedir. Bu nedenle kızgınlık tespiti ya da ovulasyon senkronizasyonu sonrası ideal tohumlama zamanının belirlenmesi üzerine bir çok çalışma yapılmıştır (Karakaya-Bilen ve ark., 2019; Güner ve ark., 2020; Moore ve ark., 2023). Bunu destekleyecek şekilde, kızgınlığın başlangıcına göre yani ovulasyon zamanına yakın CBS ile yapılacak tohumlamaların geciktirilmesinin düvelerin gebelik oranlarının artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Sá Filho ve ark., 2010; Güner ve ark., 2020; Moore ve ark., 2023). Benzer şekilde düvelerde CBS ile yapılan tohumlamaların östrus başlangıcından 18-24 saat sonraya çekilmesinin (%55) 0-12 saat sonra yapılanlara (%25) göre daha yüksek gebelik oranı ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Schenk ve ark., 2009). Türkiye'de Holştayn düvelerde yapılan bir çalışmada östrus tespiti sonrası CBS ile yapılacak tohumlamalarda tohumlama zamanını geciktirmenin yanı sıra (östrus tespitinden 20.1 ve 24 saat sonra daha yüksek gebelik elde edilmiş) sıcaklık indeksi ve deneyimli tohumlamacının fertilitenin artırılmasında kritik faktörler olduğunu göstermiştir (Güner ve ark., 2020). Bu çalışmada 283 düve östruslarının tespitlerinden sonra farklı zaman aralıklarında tohumlanmıştır ve tüm düvelerdeki genel gebelik oranı %53 olarak bildirilmiştir. Çalışmada doğan dişi buzağı oranı %97.2 olarak rapor edilmiştir. Düvelerde son yıllarda kullanımı yaygınlaşmaya başlayan ovulasyon senkronizasyon protokollerinden 5 gün veya 6 gün Co-Synch protokolü ile yapılan çalışmalarda CBS ile elde edilen gebeliklerin %48 ila %60 arasında olduğu görülmektedir (Karakaya-Bilen ve ark., 2019; Güner ve ark., 2021; Lauber ve ark., 2021; Moore ve ark., 2023). Bu oranlar sperma ayırma teknolojinde görülen gelişmelerin gebeliklere olumlu yansımaları olarak yorumlanabilir. Çünkü SexedULTRA-4M™ teknolojisinin kullanılmasından sonra yapılan çalışmalardaki gebelik oranları bu seviyelerdedir (Lenz ve ark., 2016; Vishwanath ve Moreno, 2018; Lauber ve ark., 2021; Moore ve ark., 2023). Etçi düvelerde yapılan çalışmalarda ise teknolojik ilerleme sonrası elde edilen gebelikler arasında konvansiyonel ve CBS yönünden fark kalmadığı şeklindedir ve oran %89 olarak tespit edilmiştir (Thomas ve ark., 2017). Etçi ve sütçü düvelerde CBS ile elde edilen gebelikler arasındaki farkın ırklar arası farklılıktan kaynaklandığı da belirtilmiştir (DeJarnette ve ark., 2009). Ayrıca çalışmalar net olarak gösteriyor ki genetik olarak iyi bakım ve besleme koşulları ideal olan düvelerde iyi bir reproduktif yönetimin yapılması gibi faktörlerde gebelikler üzerine olumlu etki etmektedir.

## 6. Cinsiyeti Belirlenmiş Spermanın İneklerde Kullanımı

Cinsiyeti belirlenmiş sperma ile ineklerde yapılan çalışma sonuçları gebeliklerde konvansiyonel spermaya göre %10-30 düşüş olduğunu bildirmektedir (Karakaya ve ark. 2014; Karakaya-Bilen ve ark., 2018). Gebelik oranının düşük bulunmasının nedenleri arasında ayırma sürecinde spermanın geçtiği işlemler, payetlerdeki sperma miktarı, özellikle yüksek verimli ineklerde fertilitenin etkilenmesi, artan laktasyon sayısı, uygulanan senkronizasyon metodu, sıcaklık stresi gibi farklı etmenlerden söz edilebilir (Seidel, 2014). İneklerdeki CBS kullanımında 2007'de %0.2 iken 2015'te ise %1 olarak küçük bir artış olarak görüldü (Hutchinson ve Bickhart, 2016). İneklerde gebelik oranlarına bakıldığında ise 2007 yılında %26, 2015'te %30 iken, aynı yıllarda konvansiyonel spermada gebelik oranları sırasıyla %30 ve %32 olarak görüldü (Hutchinson ve Bickhart, 2016). Cinsiyeti belirlenmiş spermanın hem düveler hem de ineklerdeki ortalama gebelik oranları olumlu etkilenirken çiftliklerde ki kullanımında son 7 yıl içerisinde bir artış görüldü. Her ne kadar gebelik oranlarının düşük olmasından dolayı ilk yıllarda kullanılmasından kaçınılsa da diğer faydalarının yanı sıra düve popülasyonun da hızlı bir artışa neden olarak sürü içi büyümeyi sağlarken genetik ilerlemeye %15'lik katkı sağladığı da ortaya konulmuştur. (Quelhas ve ark., 2023). Gebelik oranlarını arttırmak amacıyla ilk yıllarda yapılan çalışmalarda payet içerisindeki dozun az olmasından dolayı tohumlamaları muhtemel ovulasyonun olacağı kornu uteri tarafına yapılması (Seidel ve Schenk, 2008; Karakaya ve ark., 2014), payetler içerisindeki dozun artırılması (DeJarnette ve ark., 2008), farklı zaman ayarlı suni tohumlama protokolleri kullanılması (Karakaya ve ark., 2014; Karakaya-Bilen ve ark., 2019), ya da doğal kızgınlıkların farklı tespit yöntemleri ile belirlenerek (Kurykin ve ark., 2006; Güner ve ark., 2022) tohumlama yapılması gibi yöntemler denenmiştir. Ayrıca CBS kullanımında ineklerin 1. laktasyonda, postpartum 100. gün civarında, postpartum dönemde herhangi bir sağlık problemi geçirmemiş olması ve ovaryumların da siklik aktivite görülen hayvanların seçilmesi gebeliklerin yüksek olabilmesi için dikkat edilmesi gereken faktörlerdendir (Seidel, 2014). Holstein düve ve ineklerde CBS ile yapılan tohumlamalarda spermanın bırakılacağı yerin utero-tubal bağlantı noktasının yakını, korpus uteri içerisi ve ya muhtemel ovülasyonun olacağı kornu uterinin olmasının gebeliklere olumlu bir etki etmediği yönündedir (Kurykin ve ark., 2007; Karakaya ve ark., 2014). Karakaya ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada postpartum dönem sağlık problemi görülmeyen ve ovaryumları üzerinde korpus luteumu ve 10 mm'den büyük folikülü olan ineklerde Ovsynch protokolü başlamışlar ve tohumlama anında 12-18 mm boyutunda folikülü ve temiz vaginal akıntısı olan ineklere muhtemel ovulasyonun olacağı kornu uteriye aynı boğaya ait CBS veya konvansiyonel sperma kullanarak tohumlama yapmıştır. Gebelik oranları konvansiyonel spermada %40.9 iken CBS'da %31.8 bulunmuştur. Tohumlamaların kornu uteriye yapılması

noktasında dikkatli olunması gerektiği ve özellikle tecrübesiz uygulamacıların uterusu hasara neden olabileceği unutulmamalıdır (Kurykin ve ark., 2006; Meirelles ve ark., 2012). Bu çalışmada laktasyon sayısının ve mevsimin her iki spermada da gebelikler üzerine ciddi bir etkisi görülmekle birlikte primipar ineklerde CBS ile elde edilen gebeliklerin %41.7 olduğu bildirildi. Postpartum 84-98. günlerde CBS ile yapılan tohumlamalarda gebelik oranının daha erken sağılan gün sayısına sahip olanlardan %7.9 daha iyi olduğu ayrıca 1-2. laktasyondaki ineklerin 3-4. laktasyondakilerden %6 daha yüksek olduğu bildirilmiştir (DeJarnette ve ark., 2008). Sütçü işletmelerde reproduktif sürü yönetimi konusunda yaşanan en büyük sıkıntı zayıf veya yetersiz kızgınlık tespitidir (Ribeiro ve ark., 2012). İneklerde sıklıkla kullanılan Ovsynch, Presynch-Ovsynch ve Double-Ovsynch gibi zaman ayarlı senkronizasyon protokollerinin kullanıldığı bir çalışmada gebelik oranları CBS için sırasıyla %27.9, %35.5 ve %47.6 olarak bildirilmiştir (Karakaya-Bilen ve ark., 2019). Ön senkronizasyon yapılan protokollerde konvansiyonel spermada olduğu gibi cinsiyeti belirlenmiş spermada da gebelik oranlarında artış olduğu bildirildi. Holştayn ineklerde yapılan başka bir çalışmada progesteron bazlı Ovsynch protokolünde CBS ile yapılan tohumlamalarda östrus ekspresyonunun gebelik oranına etkisi değerlendirilmiştir. Ovsynch protokolünün ikinci GnRH'ından önce veya sonra kızgınlık gösteren ineklerin gebelik oranı, kızgınlık göstermeyen ineklere göre daha yüksek bulunmuştur (Güner ve ark., 2022). İneklerde CBS ile elde edilecek gebelik oranını en üst düzeye çıkarmak için östrus gösteren ineklerde kullanımı (Kurykin ve ark., 2017) tavsiye edilmekle birlikte büyük işletmeler için bu östrus aktivite izleme teknolojileri veya araçlarının zaman ayarlı suni tohumlama protokolleriyle kombinasyonu şeklinde önerilebilir (Denis-Robichaud ve ark., 2018; Güner ve ark., 2022). Embriyonik kayıp oranlarına bakıldığında CBS'de %1-2 oranında normal spermaya göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Bodmer ve ark., 2005). Öte yandan elde edilen dişi yavru oranları ise CBS'de %87-89, konvansiyonel spermada ise %48 bulunmuştur (Hutchison ve Bickhart, 2016). Sütçü ineklerde konvansiyonel spermada da fertilitiyi etkileyen faktörler arasında yer alan laktasyon sayısı, servis sayısı, süt verimi, sıcaklık stresi, metabolizma ve ayak hastalıkları gibi birçok faktör CBS ile elde edilecek gebelikler üzerine de etki etmektedir (Santos ve ark., 2004). Bunların yanı sıra sürünün reproduktif yönetimi ve tohumlamayı yapan kişilerin tecrübeli olması da her iki sperma içinde gebelik oranını etkileyen faktörler arasındadır (Güner ve ark., 2020).

## SONUÇ

Cinsiyeti belirlenmiş sperma kullanımı; sütçü işletmelerde istenilen dişi buzağı doğumlarının artması, damızlık hayvan yetiştirilmesinin sağlanması, verimi düşük hayvanların sürüden çıkartılmasında hızlanma, sürünün genetik ilerlemesinde artış, biyogüvenlik problemlerinin sürü içi büyümenin

sağlanması ile önüne geçilmesi, damızlık hayvan satışı için yeterli düveye sahip olunabilmesi, güç doğumların azalması gibi birçok avantajı sağladığı için kullanımı son yıllarda yaygınlaşan bir teknoloji haline gelmektedir.

Sonuç olarak teknolojik ilerlemeler sayesinde uygun fiyatlı ve invaziv olmayan spermada cinsiyet ayırma teknolojilerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Tohumlama yapacak kişilerin eğitiminin desteklenmesi, tohumlamaların konvansiyonel spermada olduğundan daha ileri bir saate ertelenmesi, tohumlanacak hayvanların genetik ve fiziksel özelliklerine dayanarak tohum seçilmesi, güvenilirliği kanıtlanmış boğa sperması seçimi cinsiyeti belirlenmiş spermanın sütçü işletmelerde daha başarılı bir şekilde kullanımını sağlayabilecek stratejilerdir. Sütçü işletmelerde cinsiyeti belirlenmiş spermanın kullanımının daha yaygın hale getirilmesi rekabetçi, karlı ve hayvan dostu endüstriyel bir gelişim sağlayacaktır.



## KAYNAKÇA

- Bodmer, M., Janett, F., Hassig, M., Den Daas N, Reichert, P., Thun, R. (2005). Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and nonsorted sperm under field conditions. *Theriogenology*, 64,1647-1655.
- Denis-Robichaud, J., Cerri, R. L. A., Jones-Bitton, A., LeBlanc, S. J. (2018). Performance of automated activity monitoring systems used in combination with timed artificial insemination compared to timed artificial insemination only in early lactation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 624-636.
- DeJarnette, J.M., Nebel, R.L., Marshall, J.F., Moreno, F., McCleary, C.R., Lenz, W. (2008). Effect of sex-sorted sperm dosage on conception rates in holstein heifers and lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 9, 1778-1785.
- DeJarnette, J.M., Leach, M.A., Nebel, R.L., Marshall, C.E., McCleary, C.R. Moreno, J.F. (2011). Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers: Is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible?, *Journal of Dairy Science*, 94, 3477-3483.
- De Vries, A., Overton, M., Fetrow, J., Leslie, K., Eicker, S., Rogers, G. (2008). Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. *Journal of Dairy Science*, 91, 847-856.
- De Vries, A. and Nebel, R. (2009). National heifer supply and the effects of sexed semen. Western Dairy Management Conference, Reno, Nevada, USA, pp:131-140.
- Frijters, A.C.J., Mullaart, E., Roelofs, R.M.G., van Hoorne, R.P., Moreno, J.F., Moreno, O., Merton, J.S. (2009). What affects fertility of sexed bull semen more, low sperm dosage or the sorting process? *Theriogenology*, 71, 64-67.
- Garner, D.L., Gledhill, B.L., Pinkel, D., Lake, S., Stephenson, D., Van Dilla, M.A, Johnson, L.A. (1983). Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. *Biology of Reproduction*, 28, 312-321.
- Garner, D.L. (2006). Flow cytometric sexing of mammalian sperm. *Theriogenology*, 65, 943-957.
- Garner, D.L. and Seidel, G.E Jr. (2008). History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology*, 69, 886-895.

- Gonzalez-Marin, C., Lenz, R.W., Gilligan, T.B. (2016). SexedULTRA™, a new method of processing sex-sorted bovine sperm improves post-thaw sperm quality and in vitro fertility. *Reproduction, Fertility and Development*, 29, 204-205.
- Gonzalez-Marin, C., Gongora, C.E., Gilligan, T.B. Evans, K.M., Moreno, J.F., Vishwanath, R. (2018). In vitro sperm quality and DNA integrity of SexedULTRA™ sex-sorted sperm compared to non-sorted bovine sperm. *Theriogenology*, 114, 40-45.
- Guner, B., Erturk, M., Yilmazbas-Mecitoglu, G., Keskin, A., Karakaya-Bilen, E., Cakircali, R., Serim, E., Orman, A., Gumen, A. (2020). Effect of delaying the time of insemination with sex-sorted semen on pregnancy rate in Holstein heifers. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(10),1411-1417.
- Guner, B., Selcuk, G., Guclu, S., Sengul, S., Altun, I., Dikmen, S., Gumen, A. (2021). Comparison of pregnancy per AI of heifers inseminated with sex-sorted or conventional semen after oestrus detection or timed artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(9), 1254–1260.
- Guner, B., Erturk, M., Dursun, M., Ozturk, B., Yilmazbas-Mecitoglu, G., Keskin, A., Dikmen, S., Gumen, A. (2023). Effect of oestrous expression prior to timed artificial insemination with sexed semen on pregnancy rate in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(2),342-348.
- Hall, J.B., Kasimanickam, R.K., Glaze, J.B. Roberts-Lew, M.C. (2017). Impact of delayed insemination on pregnancy rates to gender selected semen in a fixed-time AI system. *Theriogenology*, 102, 154-161.
- Healy, A.A., House, J.K., Thomson, P.C. (2013). Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 96, 1905-1914.
- Hinde, K., Carpenter, A.J., Clay, J.S., Bradford, B.J. (2014). Holsteins favor heifers, not bulls: biased milk production programmed during pregnancy as a function of fetal sex. *PLoS One*, 3;9(2), e86169.
- Hutchison, J.L., Bickhart, D.M. (2016). Sexed-semen usage for Holstein AI in the United States. *Journal of Animal Science*, 94, 176.
- Holden, S.A, Butler, S.T. (2018). Applications and benefits of sexed semen in dairy and beef herds. *Animal*, 12, 97-103.
- Jain, A., Yathish, H.M., Jain, T., Sharma, A., (2011). Efficient production of sexed semen by Flow Cytometry: A Review, *Agricultural Review*, 32,

36-45.

- Johnson, L.A., Flook, J.P., Hawk, H.W. (1989). Sex pre-selection in rabbits: live birth from X and Y sperm separated by DNA and cell sorting. *Biology of Reproduction*, 41, 199-203.
- Karakaya, E., Yilmazbas-Mecitoglu, G., Keskin, A., Alkan, A., Tasdemir, U., Santos, J.E.P., Gumen, A. (2014). Fertility in dairy cows after artificial insemination using sex-sorted sperm or conventional semen. *Reproduction in Domestic Animals*, 49, 333-337.
- Karakaya-Bilen, E., Yilmazbas-Mecitoglu, G., Keskin, A., Guner, B., Serim, E., Santos, J.E.P., Gumen, A. (2019). Fertility of lactating dairy cows inseminated with sex-sorted or conventional semen after Ovsynch, PresynchOvsynch and Double-Ovsynch protocols. *Reproduction in Domestic Animals*, 54, 309-316.
- Karakaya-Bilen, E., Ribeiro, E.S., Bisinotto, R.S., Gümen, A., Santos, J.E.P. (2019). Effect of presynchronization with prostaglandin F<sub>2α</sub> before the 5-d timed AI protocol on ovarian responses and pregnancy in dairy heifers. *Theriogenology*, 132,138-143.
- Kurykin, J., Jaakma, U., Waldmann, A., Jalakas, M., Aidnik, M., Majas, L., Padrik, P. (2006). Low semen dose intracornual insemination of cows at fixed time after PGF<sub>2α</sub> treatment or at spontaneous estrus. *Animal Reproduction Science*, 95, 116-124.
- Kurykin, J., Jaakma, Ü., Jalakas, M., Aidnik, M., Waldmann, A., Majas, L. (2007). Pregnancy percentage following deposition of sex-sorted sperm at different sites within the uterus in estrus-synchronized heifers. *Theriogenology*, 67, 754-759.
- Lauber, M. R., E. M. Cabrera, V. G. Santos, P. D. Carvalho, C. Maia, B. Carneiro, A. Valenza, V. E. Cabrera, J. J. Parrish, P. M. Fricke. (2021). Comparison of reproductive management programs for submission of Holstein heifers for first insemination with conventional or sexed semen based on expression of estrus, pregnancy outcomes, and cost per pregnancy. *Journal of Dairy Science*, 104,12953-12967.
- Lenz, R.W., Gonzalez-Marin, C., Gilligan, T.B., DeJarnette, J.M., Utt, M.D., Helser, L.A., Hasenpusch, E., Evans, K.M., Moreno, J.F., Vishwanath, R. (2016). SexedULTRA™, a new method of processing sex-sorted bovine sperm improves conception rates. *Reproduction, Fertility and Development*, 29, 203-204.
- Meirelles, C., Kozicki, L.E., Weiss, R.R., Segui M.S., Souza, A., Santos,

- I.W., Santos Breda, J.C. (2012). Comparison between deep intracornual artificial insemination (DIAI) and conventional artificial insemination (AI) using low concentration of spermatozoa in beef cattle. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55, 371-374
- Moore, S.G., Crowe, A.D., Randi, F., Butler, S.T., (2023). Effect of delayed timing of artificial insemination with sex-sorted semen on pregnancy per artificial insemination in synchronized dairy heifers managed in a seasonal-calving pasture-based system, *JDS Communications*, 4(5), 417-421.
- Norman, H.D., Hutchison, J.L., Miller, R.H. (2010). Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. *Journal of Dairy Science*, 93, 3880-3890.
- Reese, S., Pirez, M.C., Steele, H., Kölle, S. (2021). The reproductive success of bovine sperm after sex-sorting: a meta-analysis. *Scientific Reports*, 30, 11(1):17366.
- Ribeiro, E.S., Galvão, K.N., Thatcher, W.W., Santos, J.E.P. (2012). Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. *Animal Reproduction*, 9, 370-387.
- Sá Filho, M. F., H. Ayres, R. M. Ferreira, M. Nichi, M. Fosado, E. P. Campos Filho, and P. S. Baruselli. (2010). Strategies to improve pregnancy per insemination using sex-sorted semen in dairy heifers detected in estrus. *Theriogenology*, 74,1636-1642.
- Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L.A., Galvão, K.N. (2004). The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science*, 82-83, 513-535.
- Schenk, J.L., Cran, D.G., Everett, R.W., Seidel, G.E. Jr., (2009). Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: Effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. *Theriogenology*, 71, 717-728.
- Schenk, J.L., Suh, T.K., Cran, D.G., Seidel Jr, G.E. (1999). Cryopreservation of flow-sorted bovine sperm. *Theriogenology*, 52, 1375-1391.
- Seidel Jr, G.E. (2003). Sexing mammalian sperm-intertwining of commerce, technology, and biology. *Animal Reproduction Science*, 79, 145-156.
- Seidel Jr, G.E., Schenk, J.L. (2008). Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. *Animal Reproduction Science*, 105, 129-

138.

- Seidel Jr, G.E. (2007). Overview of sexing sperm. *Theriogenology*, 68, 443-446.
- Seidel Jr, G.E. (2012). Sexing mammalian sperm – Where do we go from here? *Journal of Reproduction and Development*, 58, 505-509.
- Seidel Jr, G.E. (2014). Update on sexed semen technology in cattle. *Animal*, 8, 160-164.
- Seidel Jr, G.E., DeJarnette, J.M. (2022). Applications and world-wide use of sexed semen in cattle. *Animal Reproduction Science*, 246, 106841.
- Suh, T.K, Schenk, J.L, Seidel Jr, G.E. (2005). High pressure flow cytometric sorting damages sperm. *Theriogenology*, 64, 1035-1048.
- Thomas, J.M., Locke, J.W.C., Vishwanath, R., Hall, J.B., Ellersieck, M.R., Smith, M.F., Patterson, D.J. (2017). Effective use of SexedULTRA™ sex-sorted semen for timed artificial insemination of beef heifers. *Theriogenology*, 98, 88-93.
- Tubman, L.M., Brink, Z., Suh, T.K., Seidel, G. E., Jr. (2004). Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cell sorting. *Journal of Animal Science*, 82, 1029-1036.
- Vartia, K., Taponen, J., Heikkinen, J., Lindeberg, H. (2017). Effect of education on ability of AI professionals and herd-owner inseminators to detect cows not in oestrus and its relation with progesterone concentration on day of re-insemination. *Theriogenology*, 102, 23-28.
- Vishwanath, R. (2014). SexedULTRA-raising the fertility bar of sexed sorted semen. 25th Technical Conference on Artificial Insemination and Reproduction, National Association of Artificial Breeders, Wisconsin, USA, pp: 57-61.
- Vishwanath, R., Moreno, J. F. (2018). Review: Semen sexing current state of the art with emphasis on bovine species. *Animal*, 12, 85-96.
- Quelhas, J., Pinto-Pinho, P., Lopes, G., Rocha, A., Pinto-Leite, R., Fardilha, M., Colaço, B. (2023). Sustainable animal production: exploring the benefits of sperm sexing technologies in addressing critical industry challenges. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1181659.

## BÖLÜM 3

### ETKİ BÜYÜKLÜĞÜ, AVANTAJLARI VE YORUMLANMASI

Dr. Öğr. Üyesi Erman GÜLENDAG<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408058>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyoistatistik Ana Bilim Dalı, Siirt, Türkiye, ermangulendag@yahoo.com.tr, Orcid ID: 0000-0002-3335-7247



## GİRİŞ

Tanımsal istatistik ve hipotez testlerinin kullanımı oldukça eskiye dayanmaktadır. İstatistiğin ilk öncülerinden birisi İngiliz bir tüccar ve istatistikçi olan John Graunt'tur. 1662 yılında yayınladığı "Natural and Political Observations Made upon the Bills of Mortality" isimli kitabında doğum ve ölüm oranlarını analiz ederek nüfus artışına dair öngörülerde bulunmuştur. Graunt tarafından yapılan çalışmalar nüfus bilimi (demografi) ve halk sağlığı için temel oluşturmuştur.

İstatistiksel anlamlılık testlerinin yaygınlaşması ise 20. yy.da gerçekleşmiştir. Bu bağlamda, Karl Pearson tarafından geliştirilen Ki-Kare metodu bilim dünyasına kazandırılmıştır (Pearson, 1900). William Sealy Gosset'in 1908 yılında Student's t Testi ve 1918 yılında Ronald A. Fisher'in Varyans Analizini (ANOVA) bulmasıyla hipotez testlerinin günümüzde kullanımına dair önemli katkı sağlamıştır. Fisher, 1925 yılında yayınlanan Araştırmacılar İçin İstatistiksel Yöntemler (Statistical Methods for Research Workers) kitabında; ortalamalar farkı, varyans analizi, korelasyon ve regresyon katsayıları, sınıflar arası korelasyon gibi pek çok yöntemi ortaya koymuştur. (Fisher, 1925). Gene Fisher 1935 yılında yayınlanan Deney Tasarımları (The Design of Experiments) kitabında yayınladığı "The Lady Tasting Tea" deneyiyle, günümüzde kullanılan hipotez testlerindeki eşitlik veya yokluk hipotezi (null hypothesis) kavramını, yani  $H_0$  ifadesini kazandırmıştır (Fisher, 1935).

Hipotez testlerinde geliştirilen bu determinist yaklaşımlar, gözlem ve deneylerden elde edilen verilere dayanan ve oldukça karmaşık bir süreç haline dönebilen karar verme mekanizmalarını kabul veya ret etme sonuçlu mekanik bir süreç haline getirmiştir. Bu sayede hipotezlerin kabul/ret olarak sonuçlandırılması kolay kullanılıp yorumlanabilen bir yöntem olmuştur ve kullanımı da hızla yaygınlaşmıştır. Ancak sadece bu metoda dayanan çıkarımlar günümüzde oldukça eleştiri almaya başlamıştır. Bu eleştirilerin ana noktasında ise araştırmacıların bu kabul/ret mekanizmasını, istatistiksel anlamlılığa ulaşma gayesiyle kullanması yatmaktadır. Bu nedenle kümülatif bilginin gelişiminin sekteye uğradığı düşünülmektedir (Schmidt, 1996).

Etki büyüklüğü kavramı ilk olarak Jacob Cohen tarafından geliştirilmiştir (Cohen, 1988). Elde edilen verilerin, eşitlik hipotezinde beklenen sonuçlara göre sapma değerini gösteren bir değerdir. Bahsi edilen eleştiriler genel olarak hipotez testi yaklaşımlarının yanlış olduğu yönünde olmayıp, etki büyüklüğünün de hesaplanarak paylaşılmasının ve yorumlanabilmesini savunmaktadır. Bu sayede istatistiksel değerlendirmelere ek olarak özellikle pratik ve klinik anlamda değişimlerin yansıtılmasını mümkün hale gelebilecektir.



Yokluk hipotezi istatistiksel anlamlılık testi (NHSST), örneklem büyüklüğünden etkilenebilmektedir. Öyle ki, küçük veya önemsiz farklılıklar bile yeterince büyük bir örneklem sayesinde istatistiksel olarak anlamlı olarak ifade edilebilmektedir (Fan, 2001). NHSST’lerde sadece dikkat edilen bölüm olan P değerlerinin etki büyüklüğü hakkında fikir vermediği ve sadece bu değerlere güvenilmemesi gerekliliği görüşü de rapor edilmiştir (Lang ve Altman, 2013). Hatta Amerika Eğitim Araştırmaları Derneği (AERA) ve Amerika Psikoloji Derneği (APA) gibi pek çok kurum yazım kılavuzlarında, etki büyüklüğü ve güven aralıklarının raporlanmamasını kritik bir hata olarak belirtmişlerdir (AERA, 2006; APA, 2008). Bununla birlikte sağlık ve davranış bilimleri alanında yayınlanmış literatürlerde etki büyüklüğünün raporlanması yoksunluğu oldukça önemli bir sorundur. Yapılan çalışma göstermiştir ki, Amerika Birleşik Devletlerinde 6 farklı SCI ve SCIE dergide yayınlanan, toplamda 1245 makalenin sadece 597’sinde (47,9%) etki büyüklükleri raporlanmıştır (Barry ve ark., 2016).

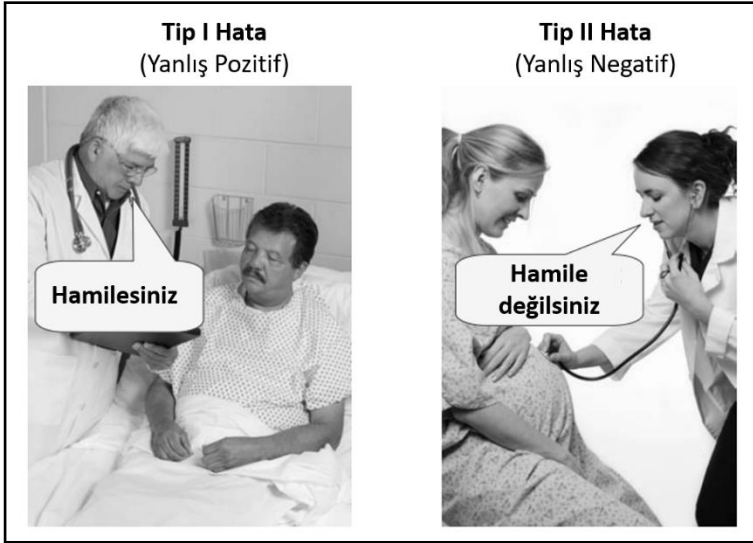
Kitabın bu bölümünde, etki büyüklüğü kavramı ve gerekliliğinden bahsedilecek ve farklı çalışma dizaynlarında nasıl yorumlanması gerektiği hakkında bilgi verilecektir.

## 1. ETKİ BÜYÜKLÜĞÜ

### 1.1. Hipotez Testleri

P değeri, neredeyse bütün tıbbi araştırma makalelerinde yer alan bir istatistiksel kanıt ölçüsü olarak kabul edilmektedir ve yaygın olarak kullanılan haliyle, anlamlılık kriteri olarak  $P < 0,05$  ile ifade edilmektedir. NHSST’ye ait çıkarımsal istatistiklerde kullanılan bu yöntem ile yokluk hipotezini ( $H_0$ ), ilgilenen değişkenler arasında ilişki olmadığını ya da grup faktörünü yaratan bağımsız değişkenin, oluşturmuş olduğu alt gruplarda sonuç faktörü, başka deyişle bağımlı değişken üzerinde farklılık yaratmadığını iddaa etmektedir.  $H_0$ ’a alternatif olarak sunulan hipotezde ( $H_1$ ) ise anlamlı bir ilişki veya farklılığın olduğu yönündedir.

Bu tarz bir modelde hipotezlerden bir tanesi reddedilmektedir ve bu aşamada oluşabilecek hata düzeyleri, araştırma sonuçlarını yorumlarken verilen kararları etkileyebilmektedir. Bu hatalar temel olarak iki kısımda incelenmektedir.  $H_0$  doğru iken reddedilmesi Tip I Hata ( $\alpha$ ),  $H_0$  yanlış iken reddedilmemesi ise Tip II Hata ( $\beta$ ) olarak ifade edilir.



Şekil 1. Tip I ve Tip II Hata görselleri (Ellis, 2010).

Tip I ve Tip II hata oranları birbirleri ile ters orantılıdır, biri arttıkça diğ erinin azalması söz konusudur. Tip I Hata oranı, genellikle araştırma öncesinde belirlenir ve bilimsel araştırmalarda kaçınılmak istenilen hata tipi genellikle Tip I olmaktadır. Tip I Hata sıklıkla 0,05 olarak kabul görmektedir. Tip II'den kaçınma durumu, başka bir ifadeyle hipotez testinin var olan pozitifliğ in yakalayabilmesi testin gücü ( $1-\beta$ ) olarak ifade edilir. Tip II Hata'nın %20 düzeyinde olması veya testin gücünün %80 olması kabul edilebilir seviye olarak değerlendirilmiştir (Cohen, 1988). Cohen Tip I ve Tip II hata için belirlenen 0,05 ve 0,2 düzeylerindeki 1'e 4 oranının makul bir denge sağlayacağını düşünmüştür (Ellis, 2010). Cohen 1'e 4 oranı izah ederken, "Mevcut bilimsel düşünce de, bulamama fikri olmayan bir şeyi bulmaktan daha az ciddi bir sorundur." şeklinde ifade etmiştir. Araştırmaya ait hipotezlerin değerlendirilmesindeki karar süreci Tablo 1 üzerinde gösterilmiştir.

Tablo 1. NHSST'lerde karar mekanizması.

	H <sub>0</sub> Doğru	H <sub>0</sub> Yanlış
H <sub>0</sub> hipotezinin reddi	Tip I Hata ( $\alpha$ )	Doğru Karar ( $1-\beta$ )
H <sub>0</sub> hipotezinin reddedilememesi	Doğru Karar ( $1-\alpha$ )	Tip II Hata ( $\beta$ )

Tip I ve Tip II hata oranlarının tayin edilmesi araştırmanın amacı ve türü ile de yakından ilişkilidir. Örneğin, Covid-19 teşhisi için kullanılan serolojik testlerin sonuçları, tespit edilen antikor miktarı ile ilişkilidir. Testin pozitif sonuç vermesi için gereken antikor miktarının azaltılması, kesin

pozitiflik (kişinin enfekte olması ve testin bunu tespit etmesi) oranını arttıracaktır. Kısacası Tip II Hata ihtimali azalacak, hastalığın olmadığı kişilerde yanlış negatif görülme oranı düşecektir. Testin gücü artacaktır. Bu durumun tersi olarak, enfekte olanları teşhis edebilme gücünü arttırmak için belirlenen antikor miktarı azaltılırsa, Tip I Hata ihtimali azalacaktır ancak enfekte olmayan kişilerde de testin pozitif görülme oranında artış olacaktır.

Anlaşılabacağı üzere, NHSST iki farklı hipotez arasında seçim yapma üzerine kuruludur ve bu hipotezlerden birisi reddedilmek zorundadır. Araştırmacı ise bu hipotezler arasında seçim yaparken ortaya çıkması olası olan iki hata tipinden mümkün olduğu ölçüde kaçınmak zorundadır (Işık, 2014).

NHSST'lerde oluşabilecek bu senaryoların kavranması, etki büyüklüğü kavramının önemini anlamak için önemlidir. Daha önce de belirtildiği gibi, yeterli genişlikte bir örneklem büyüklüğüne sahip olunması durumunda küçük bir etki büyüklüğü bile istatistiksel anlamlılık düzeyini etkilemektedir. Çok büyük örneklem üzerinde yapılan çalışmalarda en küçük değişimler bile anlamlı sonuç olarak yer bulmaktadır. Buna karşın küçük örneklem ile çalışılan araştırmaların istatistiksel gücü de düşük olmakta; var olan bir etkinin var olmadığı sonucu çıkmaktadır. Bu durum ise etkinin pratik ve klinik açıdan önemliliğinin göz ardı edilmesine neden olabilmektedir.

Bunlara ek olarak, yapılan çalışmaların sadece istatistiksel açıdan anlamlı/anlamsız olması algısı araştırmacıları olumsuz etkileyebilmektedir. Bilim camiasının da eğilimleri sonucunda oluşan, anlamlılık ifade etmeyen çalışmaların bilimsel katkısının düşük olacağı yönündeki algı ve bu algı ile birlikte şekillenen yayın yanlılığı, bilimsel çıkarımların yapılmasında problem teşkil etmektedir.

Hipotez testleri, sadece gözlenen verinin sıfır hipotezi doğrulama olasılığı hakkında bilgi verir ki p değeri olarak kullanılan bu bilgi araştırmacıyı sıfır hipotezini reddetme ya da reddedememe şeklinde dikotom bir karar vermeye zorlar. Bu problemin önüne geçilmesi, daha kapsamlı ve isabetli kararlar verilebilmesi adına istatistiksel güç, etki büyüklüğü ve güven aralığı gibi sonuçların da değerlendirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

## 1.2. Hipotez Testlerinde Anlamlılık ve İkili Karar

Hipotez testleri, doğası gereği dikotom karar mekanizmasına sahiptir. Bu kararın verilmesinde etkili olan p değeri,  $H_0$  hipotezinin doğruluğunu kabul eder ve aynı araştırmanın tekrarlanması halinde, gözlenen test değerinin ortaya çıkmasının olasılığını ifade eder. NHSST sürecinde, p değerinin alfa değerinden düşük olması beklenir. Sonuçta,  $p < 0.05$  ise istatistiksel anlamlılıktan söz edilebilir. Bu ifade; benzer bir araştırmanın gene benzer

örneklem özelliklerinde tekrarları halinde, test istatistiklerinin %5'inden daha azı oranında gözlenen sonuçlardan daha farklı sonuç vereceği anlamına gelmektedir. Böyle bir durumda ise,  $H_0$  reddedilir ve dolayısıyla  $H_1$  desteklenmiş olur.

Bu mantık çerçevesinde istatistiksel anlamlılık yorumlandığı takdirde farkın ne düzeyde olduğuna dair bir bilgilendirmeye ihtiyaç bulunmamaktadır. Oysa araştırmaların esas amacı, ilgilenilen konu üzerinde mevcut bağlantıların ya da farklılıkların ne düzeyde olduğunu ortaya çıkarmak ve açıklamaktır. Ancak p değeri etki büyüklüğünün küçüklüğü ya da büyüklüğü hakkında bilgi vermemektedir.

Gene istatistiksel analiz sonuçlarının olası sonuçlarından birisi p değerinin 0.051 benzeri değerler bulunmasıdır. Bu açıdan aynı etki büyüklüğüne sahip durumda, 0.049 istatistikte anlamlı kabul edilirken 0.051 istatistiksel olarak anlamlı bulunmayacaktır. Araştırmacılar benzer sonuçları yorumlamaya çalışırken p değerinin marjinal olarak anlamlılığı gibi muğlak ifadeler kullanmak yerin etki büyüklüğü üzerinden yorumlayabilmelidirler.

### **1.3. Klinik Anlamlılık**

Klinik anlamlılık, müdahale sonucunda elde edilen etkinin öneminin ya da değerinin pratik veya uygulamada değerli olabilecek somut, ayırt edilebilir ve hissedilebilir bir fark yaratıp yaratmadığı şeklinde ifade edilmiştir (Kazdin, 1999). Bu bağlamda düşünecek olursak NHSSC sonuçlarına göre anlamlılık ifade eden her durum klinik açıdan anlamlılık göstermezken, tam tersi senaryoların da oluşması ihtimal dahilindedir.

Az sayıda hasta ile yürütülen klinik bir çalışmada, vakaların bir kısmında gözlemlenen değişiklik istatistiksel olarak anlamlılık göstermese de, vakaların veya araştırmacıların bu değişimi önemsemesi, araştırmaya veya tedaviye devam edilmesi kararı alınması yönünden önemlidir (Peterson, 2008). Sadece p değeri olarak ele alındığında bu değişim anlamsız olarak gözükmekteyken, etki büyüklüğünün yorumlanmasıyla daha doğru bir şekilde anlaşılabilir.

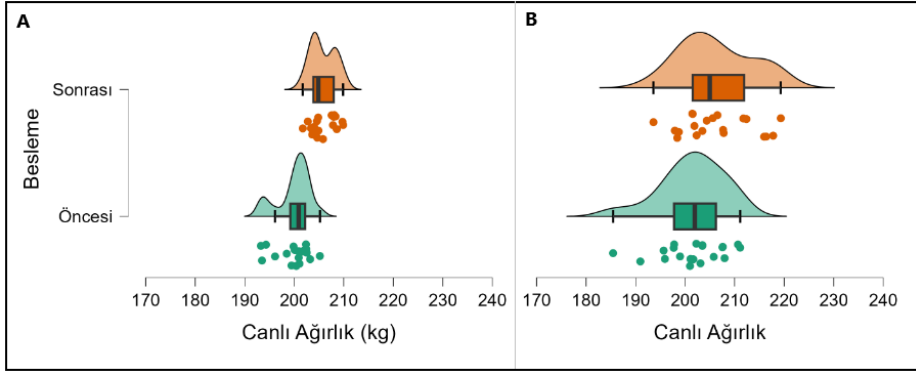
### **1.4. Pratik Anlamlılık**

Örneğin, hayvancılık sektöründe faaliyet göstermekte olan büyükbaş işletmesi için canlı ağırlık miktarındaki artışların çok büyük oranda ekonomik getirisi olabilir ancak uzun süreli yürütülmesi gereken bu tarz çalışmalarda örneklemin küçük olması sebebiyle istatistiksel anlamlılık bulunmayabilir veya farklı olabilecek sonuçlar sadece istatistiksel anlamlılık ifade ettiği için benzer şekilde yorumlanabilir veya belirli bir güzergaha ait trafik düzenlemesinde yapılabilecek bir değişiklik sonrasında araçların trafikte

kalma süresinde görülebilecek minimal değişiklikler, trafiği kolaylaştırma açısından daha büyük etkileri olabilir.

Bu gibi durumlarda da, klinik anlamlılık benzeri bir yorumlama mekanizmasına ihtiyaç duyulmaktadır ve NHSST metodları bu açıdan yeterli olmamaktadır.

Verilen örneğin daha rahat anlaşılabilmesi adına, farklı iki çalışma kurgusu düşünelim. 20 adet büyükbaş besi hayvanında, bir haftalık besleme dönemi öncesi ve sonrasında elde edilmiş veriler incelendiğinde, her iki kurguda da 200 kg. olan canlı ağırlık 206 kg.a çıkmıştır. Ancak besleme dönemi öncesi ve sonrasında elde edilen dağılımları arasında farklılık; ilkinde  $200\pm 3$  ve  $206\pm 3$ , ikincisinde ise  $200\pm 7$  ve  $206\pm 7$  şeklinde olduğu düşünüldüğünde, Grafik 1'deki gibi bir yağmur bulutu (raincloud) grafiği oluşmaktadır.



**Grafik 1:** İki farklı besleme dönemine ait grafikler.

Grafikte yeşil renkle besleme öncesi, turuncu renkle besleme sonrası canlı ağırlıkları ifade edilmiştir. Sol kısımda (A), dağılım besleme öncesi  $200\pm 3$  kg., sonrası ise  $206\pm 3$  kg. iken sağ kısımda (B),  $200\pm 7$  kg. ve  $206\pm 7$  kg.dır. Kısacası standart olarak verilen tablolarda her iki yöntem de benzer istatistiksel ölçütler ile ifade edilecektir. Bağımlı Örneklem t Testi (Paired Sample t Test) olarak incelendiğinde A ve B yöntemlerinin her ikisi de  $p<0,05$  düzeyinde istatistiksel anlamlılık ifade etmektedir, yani beslenme öncesi ve sonrasındaki canlı ağırlık artışları arasındaki fark her iki yöntemde de önemlidir. Ancak grafikten de anlaşılacağı üzere A yönteminde görülen artışlar, besleme öncesine göre daha fazla ayrılmaktadır, B yönteminde ise ortak alan miktarı oldukça fazladır. Etki büyüklüğüne (Cohen's d) bakıldığında, A yönteminde  $d=2$ , B yönteminde  $d=0.6$  olduğu görülmüştür ve bu oldukça yüksek bir farklılıktır. Bu doğrultuda, gerek klinik gerek de pratik anlamlılıkları açıklamada, pek çok çalışma dizaynında NHSST yöntemleri yeterli olmamaktadır.

## 1.5. Etki Büyüklüğünün Avantajları

P değeri,  $H_0$ 'a karşı kanıtın gücünü belirlemeye yarayan bir ölçüttür ve NHSST'lerde  $H_1$  lehine yokluk hipotezinin reddedilip reddedilmeyeceğine karar vermek için kullanılır. P değerinin tek başına bir etkinin büyüklüğü veya önemi hakkında bilgi vermediğini, yalnızca sıfır hipotezine karşı kanıtın gücünü değerlendirdiğini unutmamak önemlidir.

Gruplar arasındaki ilişkinin veya farkın boyutunu veya büyüklüğünü ölçülebilir, standartlaştırılmış bir şekilde belirtir. Sonuçların klinik ve pratik açıdan öneminin daha net anlaşılmasını sağlar. Örneğin, iki tedavinin karşılaştırıldığı bir çalışmada etki büyüklüğü, bu tedavilerin ortalama olarak ne kadar farklı olduğunu gösterir.

Etki büyüklükleri örneklem büyüklüğünden p değerleri gibi etkilenmez. Küçük örneklem büyüklükleri, testte yarattığı güç eksikliği nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı olmayan sonuçlara yol açabilir, ancak etki büyüklükleri nispeten sabit kalır ve popülasyona genellenebilen gruplar arasındaki ilişkinin veya farkın gücü hakkında bilgi sağlar.

Etki büyüklükleri, farklı örneklem büyüklüklerine veya metodolojide farklılıklara sahip olsalar bile, farklı çalışmalar ve deneyler arasında karşılaştırma yapılmasına olanak tanır. Bu, bulguların pratik sonuçlarını yorumlamayı ve çalışmalar arasında sonuçları karşılaştırmayı kolaylaştırarak sonuçların önemini anlamak için daha geniş bir bağlam sağlar. Meta-analiz çalışmaları bu avantajının yaygın kullanılan bir sonucudur.

Etki büyüklükleri, yalnızca sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığından ziyade incelenen gerçek ilişki veya farka odaklanır. Bu, araştırmacıların keyfi eşiklere dayalı "anlamlı" veya "anlamlı değil" sınıflandırmasında kaybolmak yerine bulgularının esas anlamına odaklanmalarını sağlar.

Yalnızca p değerlerine güvenmek sonuçların yanlış yorumlanmasına yol açabilir. Bununla birlikte, sağladıkları ek bilgiler sayesinde p değerlerini tamamlayabilir. Anlamlı bir p değeri güçlü bir etki büyüklüğü anlamına gelmez ve tersine, anlamlı olmayan bir p değeri de bir etkinin olmadığı anlamına gelmez. Etki büyüklüklerinin p değerleri ile birlikte kullanılması, incelenen gerçek etki veya ilişkinin daha net bir resmini vererek olası hataların önlenmesine katkıda bulunur.

Bu bağlamda, etki büyüklüğünün kullanılması p değerinin bir alternatifinden ziyade tamamlayıcısı olarak görülmelidir. Etki büyüklükleri gözlemlenen etki veya ilişkinin büyüklüğü ve pratik önemi hakkında değerli bilgiler sağlar. İstatistiksel analizde her ikisi de önemlidir, ancak etki

büyükliklerinin de yorumlanması sonuçların daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasını sağlar.

## 1.6. Etki Büyüklüğünün Yorumlanması

Değişkenler arasındaki bir farkın veya ilişkinin büyüklüğünü ölçen etki büyüklüklerinin yorumlanması, yürütülen istatistiksel test veya analize bağlıdır. Araştırma bulgularının öneminin ve pratik sonuçlarının daha derinlemesine anlaşılmasını imkan sunması ve çeşitli çalışma alanlarında güvenilirliğini ve uygulanabilirliğini artırması yönünden doğru bir şekilde yorumlanması gerekmektedir. Aynı zamanda farklı araştırmalarda, farklı örneklem büyüklüğü ve metodolojiler kullanılmış olsa dahi etki büyüklükleri ile kıyaslanabilir ya da belirli bir alandaki bulguların sentezlenerek meta-analiz yöntemlerine katkı sağlayabilir.

### 1.6.1. İki Grup Ortalaması

Gerek bağımlı, gerekse da bağımsız gruplara ait ortalamaların karşılaştırılmasında etki büyüklüklerinin hesaplanması farklılık gösterse de yorumlanmasında genellikle Cohen's  $d$ 'si kullanılır. Cohen, araştırmacılara çalışmalarında gözlemlenen etkinin büyüklüğünü yorumlamak ve pratik bir çerçeve sağlamak amacıyla etki büyüklüklerini küçük, orta ve büyük olarak kategorize etmiştir. Bu sınıflandırma, Cohen'in standartlaştırılmış etki büyüklüğü değerlerine dayalı olarak etkinin görece büyüklüğünü veya gücünü anlamak için bir kılavuz görevi görür (Cohen, 1988).

Yaygın olarak kullanılan bir etki büyüklüğü ölçüsü olan Cohen's  $d$ , gruplar arasındaki farkı standart sapmalar cinsinden ifade etmektedir. Cohen, bu kategorileri atayarak etki büyüklüklerini anlamak için niteliksel bir referans noktası sunmayı amaçlamıştır. Buna göre;

• Küçük etki büyüklüğü ( $d \approx 0.2$ ): Gözlenen değişimin gruplar içindeki değişkenliğe kıyasla küçük olduğunu gösterir.

• Orta etki büyüklüğü ( $d \approx 0.5$ ): Daha belirgin ve orta derecede önemli bir farka ya da ilişkiye işaret etmekte ve bu farkın çalışma bağlamında muhtemel önemliliğini ifade etmektedir.

• Büyük etki büyüklüğü ( $d \approx 0.8$ ): Grupların ortalamaları arasında önemli bir fark olduğunu gösterir. Mühim bir pratik anlamlılığa işaret etmekte ve gözlemlenen değişimin oldukça dikkat çekici olduğunu göstermektedir.

Hedge's  $g$  etki büyüklüğü, küçük örneklem büyüklüklerinin getirdiği potansiyel önyargıları hesaba katarak oluşturulmuştur (Hedges, 1981). Özellikle farklı örneklem büyüklüklerine sahip çalışmalardan elde edilen

bulguların sentezinin yaygın olduğu meta-analizlerde kullanışlıdır. Yorumlanmasında ise bir farklılık bulunmamaktadır.

### 1.6.2. Tek Yönlü Varyans Analizi

Karşılaştırmaların ikiden fazla grup içerdiği ANOVA testlerinde, Cohen's d genellikle etki büyüklüğü tahmini için doğrudan kullanılmaz. Bunun yerine, eta-kare ( $\eta^2$ ) veya kısmi eta-kare (partial  $\eta^2$ ) gibi ANOVA'ya özgü diğer etki büyüklüğü ölçümleri kullanılır.

Eta-kare gibi etki büyüklüklerinin yorumlanmasında çalışma alanını ve spesifik araştırma sorusu dikkate alınmalıdır. Küçük örneklem büyüklükleri veya gruplar arasında eşit olmayan örneklem büyüklükleri ile çalışıldığında eta-kare değerinin popülasyondaki etki büyüklüğünü olduğundan fazla tahmin ettiği bilinmektedir (Lakens, 2013).  $\eta^2$  Cohen tarafından aşağıdaki şekilde kategorize edilmiştir (Cohen, 1988);

- Küçük etki büyüklüğü:  $\eta^2 \approx 0.0099$
- Orta etki büyüklüğü:  $\eta^2 \approx 0.0588$
- Büyük etki büyüklüğü:  $\eta^2 \approx 0.1379$

İlave olarak, ANOVA'nın birden fazla faktör veya ortak değişken içerdiği durumlarda, kısmi eta-kare (partial  $\eta^2$ ) sıklıkla kullanılır. Kısmi eta-kare, modeldeki diğer faktörlerin veya ortak değişkenlerin etkisini kontrol ederken, belirli bir faktör tarafından açıklanan varyansı değerlendirir.

### 1.6.3. Oranlar Arasında

Kategorik veri analizinde kullanılan frekanslar arasındaki etki büyüklüğü ölçümleri, Cohen's d veya ANOVA'daki eta-kare gibi sürekli değişkenlerde kullanılan etki büyüklüğü ölçümlerinden farklıdır.

Kategorik verilere ait analizlerinde; Cramer's V, Phi katsayısı ( $\phi$ ) veya Odds Oranı (OR) gibi etki büyüklüğü ölçümleri, kategorik değişkenler arasındaki ilişkinin gücünü veya etkinin büyüklüğünü ölçmek için kullanılır. Farklı kategorik veri analizi türleri için kullanılan bazı yaygın etki büyüklüğü ölçümleri aşağıda verilmiştir;

- Cramer's V: Kategorik veriler arasında ilişkinin gücünü ölçmekte kullanılan bu ölçü, 0 ile 1 arasında değer alır.

- Phi Katsayısı: Sadece 2x2 kategorik düzenlerde kullanılan  $\phi$ 'nin büyüklüğü ilişkinin gücünü ve yönünü gösterir. 0'a yakın değerler zayıf bir ilişkiye işaret ederken -1 veya 1'e yakın değerler güçlü bir ilişkiye işaret eder, -1 veya 1 ise mükemmel ilişkiyi gösterir.



• Odds Oranı: Lojistik regresyon veya vaka kontrol çalışmalarında, bir olayın bir grupta diğerine kıyasla meydana gelme olasılığını ifade etmek için kullanılır. OR etkinin olmadığı durumlarda 1 değerini alır.  $OR > 1$  sonucun arttığını,  $OR < 1$  ise azaldığını belirtir.

OR=2 olması sonuç olasılığının 2 kat arttığını, OR=0.5 olması ise olasılığının yarıya düştüğünü göstermektedir.

#### 1.6.4. İlişkiler Arasında

İlişkiye dayalı etki büyüklüğü, basit bir şekilde korelasyon katsayısının kendisi ( $r$ ) ile ifade edilmektedir.  $-1 \leq r \leq +1$  aralığında değer alabilir ve katsayının işareti ilişkinin pozitif veya negatif olmasını belirtirken, 0'dan uzaklaşması etki büyüklüğünün artışı göstermektedir.

- $r \approx 0$ : Değişkenler arasında zayıf ve ihmal edilebilir bir ilişkiyi
- $r \approx \pm 0,1$ : Küçük etki büyüklüğünü
- $r \approx \pm 0,3$ : Orta düzey bir etki büyüklüğünü
- $r \approx \pm 0,5$ : Geniş etki büyüklüğünü ifade etmektedir.

Korelasyon katsayısının önemi yalnızca etki büyüklüğüne dayalı değildir. Örneklem büyüklüğü, ölçümlerin güvenilirliği ve değişkenler arasındaki ilişkinin sebep-sonuç mantığına uygunluğu gibi diğer faktörlerle birlikte değerlendirilmelidir.

#### 1.7. Etki Büyüklüğünün Önemi

Bu bölümde değililen sebeplerden ötürü etki büyüklüğünün bilimsel araştırmalarda kullanımının yaygınlaşması pek çok açıdan önem arz etmektedir.

- Çalışmalar arasında standardizasyon, daha kolay karşılaştırabilirlik
- Klinik ve pratik önemliliğin ifade edilmesi
- Yanlış yorumlama ihtimalini azaltması
- Örneklem büyüklüğünün hesaplanması
- Bilimsel mecraların dışında daha kolay anlaşılabilmesi
- Bulguların daha derin ve isabetli yorumlanabilmesi
- Yayın yanlılığının önüne geçebilmesi

Bilimin pek çok alanında araştırma sonuçlarını değerlendirme kullanılan istatistiksel yöntemlerde etki büyüklüğüne dair farkındalığın artması ilerleyen çalışmalara çok önemli hizmetler sunacaktır.

## KAYNAKÇA

- Altman, E.I. "Predicting financial distress of companies: revisiting the Z-Score and ZETA® models," Chapters, in: Adrian R. Bell & Chris Brooks & Marcel Prokopczuk (ed.), *Handbook of Research Methods and Applications in Empirical Finance*, chapter 17, pages 428-456, Edward Elgar Publishing; 2013.
- American Educational Research Association (2006). Standards for reporting on empirical social science research in AERA publications. *Educational Researcher*, 35(6), 33-40.
- APA Publications and Communications Board Working Group on Journal Article Reporting Standards (2008). Reporting standards for research in psychology: why do we need them? What might they be? *American Psychologist*, 63, 839-851.
- Barry, A. E., Szucs, L. E., Reyes, J. V., Ji, Q., Wilson, K. L., & Thompson, B. (2016). Failure to report effect sizes: The handling of quantitative results in published health education and behavior research. *Health Education & Behavior*, 43(5), 518-527.
- Cohen, J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences* (2nd ed.). Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, Publishers; 1988.
- Ellis, P. D. *The Essential Guide to Effect Sizes: Statistical Power, Meta-Analysis and the Interpretation of Research Results*. Cambridge: Cambridge University Press; 2010.
- Fisher, R.A. *Statistical methods for research workers* (11th ed. rev.). Oliver and Boyd: Edinburgh; 1925.
- Fisher, R. A. *The design of experiments*. Oliver & Boyd; 1935.
- Hedges, L. V. (1981). Distribution theory for Glass's estimator of effect size and related estimators. *Journal of Educational Statistics*, 6(2), 107-128
- Işık, İ. (2014). Yokluk hipotezi anlamlılık testi ve etki büyüklüğü tartışmalarının psikoloji araştırmalarına yansımaları. *Eleştirel Psikoloji Bülteni*, 5, 55-80
- Kazdin, A. E., (1999). The meanings and measurement of clinical significance. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*, 67(3), 332-339
- Lakens, D. (2013). Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. *Front. Psychol*, 4, 863

- Lang, T., Altman, D. G. Basic statistical reporting for articles published in clinical medical journals: the SAMPL Guidelines. In: Smart P., Maisonneuve H., Polderman A. (eds); Science Editors' Handbook, European Association of Science Editors, 2013.
- Pearson, K. (1900). On the criterion that a given system of deviations from the probable in the case of a correlated system of variables is such that it can be reasonably supposed to have arisen from random sampling. *Philosophical Magazine*, Series 5, 50 (302), 157-175.
- Schmidt, F. L. (1996). Statistical significance testing and cumulative knowledge in psychology: Implications for training of researchers. *Psychological Methods*, 1(2), 115-129.
- Peterson, L. S. "Clinical" Significance: "Clinical" Significance and "Practical" Significance are NOT the Same Things. Paper presented at the annual meeting of the Southwest Educational Research Association, New Orleans; 02/07/2008.



## BÖLÜM 4

### VETERİNER HEKİMLİĞİ KLİNİK UYGULAMALARINDA KOAGÜLASYONUN TROMBOELASTOGRAFİK DEĞERLENDİRMESİ

Dr. Öğr. Üyesi Oya ERALP İNAN<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408060>

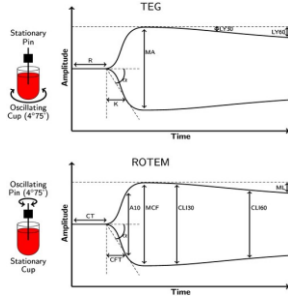
<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye, oeralp@ogu.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-4242-8609



## GİRİŞ

Thromboelastografi (TEG) hem insan hem veteriner hekimliğinde pıhtılaşma bozukluklarının tanısı, tedavisi ve izlenmesinde kullanılabilen bir analiz yöntemidir. Helmut Hartet tarafından 1948 yılında geliştirilen bu viskoelastik test yöntemi tek bir analiz ile pıhtılaşmanın tüm aşamalarını değerlendirmeyi amaçlamıştır (Wiinberg ve Kristensen, 2010). Geleneksel olarak pıhtılaşma primer, sekonder ve tersiyer hemostaziz aşamalarına ayrılmıştır (Wiinberg ve Kristensen, 2010). Hücre bazlı koagülasyon modelinin literatüre dahil olmasıyla, plazmada bulunmayan ancak tam kanda mevcut olan pro- ve antikoagülan bileşenlerin pıhtılaşmada önemli bir role sahip olduğu belirlenmiştir (Wiinberg ve Kristensen, 2010). Örnek olarak aktif trombositler ve lökositler doku faktörü (TF) salınımı yaparak pıhtılaşmanın uyarılma, amplifikasyon ve propagasyonunu sağlayarak pıhtılaşma prosesine dahildir. Trombositler ve lökositler enflamasyon ve hastalık durumlarından etkilenecek, koagülasyonda da değişimlere neden olmaktadır. TEG'nin tam kandan gerçekleştirilmesi, plazmadan yapılan koagülasyon analizlerine üstünlük sağladığı düşünülmektedir (Wiinberg ve Kristensen, 2010). Ayrıca TEG analiziyle tek bir örnek ile primer, sekonder ve tersiyer (fibrinolyzis) hemostazisi değerlendirilmesi ve böylelikle hipo-, normo- ve hiperkoagülasyon durumlarını tespit edebilmesi sebebiyle veteriner hekimliği alanında çalışmalara dahil olmuştur. Aslında hayvanlarda kullanımı 1960'lerde insan sağlığına hizmet eden deneysel hayvan çalışmaları ile başlamıştır (Wiinberg ve Kristensen, 2010). Veteriner klinik çalışmalar ise 2000'li yıllarda başlayıp halen devam etmektedir. TEG analizleri aktivatörsüz, natif tam kan, ya da aktivatörlü, kaolin ya da insan rekombinant doku faktörüyle (TF) ile gerçekleştirilmektedir (Wiinberg ve Kristensen, 2010). Kaolin, örneğin intrinsik yol aktivasyonu için kullanılırken, TF ekstrinsik yolla aktivasyon için kullanılır. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda natif analizler rapor edilse de, yüksek varyasyon nedeniyle aktivatörlerin kullanımı tavsiye edilmektedir Bauer ve ark., 2009). Ancak üreticiler tarafından sunulan ticari hazır aktivatörler analiz maliyetini arttırmaktadır. TEG'nin yanında rotasyonel tromboelastometri de (ROTEM) veteriner hekimliği alanında kullanılan cihazlardandır (Lubas ve ark., 2010). Bu iki cihaz aynı prensibe dayanıyor olsa da, mekanik test prosedüründe ve parametrelerin isimlendirilmesinde farklılıklar söz konusudur (Şekil 1). Tromboelastografik yöntem ile koagülasyonun değerlendirilmesi çiftlik hayvanlarında, atlarda, kedilerde çalışılmıştır, ancak köpeklerde klinik kullanımına ilişkin daha fazla kaynağa erişilebilmektedir.

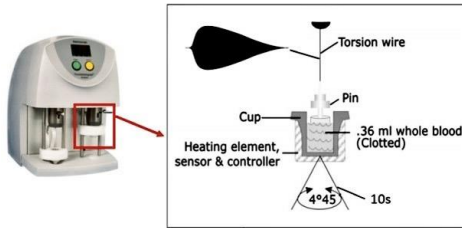




Şekil 1. TEG ve ROTEM çalışma prensipleri ile sonuçları (Volod ve ark., 2022).

## KOAGÜLASYONUN DEĞERLENDİRİLMESİNDE TROMBOELASTOGRAFİ

Bir analizin klinik olarak faydalı olması için, acil bir durumda hastanın pıhtılaşma durumuna ilişkin hızlı ve güvenilir bilgi sağlaması gerekir. TEG'nin çalışma prensibi, yaygın kullanımı nedeniyle burada daha detaylı anlatılmıştır. Cihaz temel olarak 3 parçadan oluşmaktadır: tek kullanımlık numune kabı (cihazdaki sabit hazneye yerleştirilir), kabın içerisine yerleştirilen sabit pin ve mekanik-elektrik transdüser (Şekil 2). Rekalsifiye edilmiş, kaolin veya TF ile aktive edilmiş sitratlı tam kan numunesi kaba koyulduktan sonra sabit pine doğru yukarı kaydırılır ve böylelikle pin numune içerisine yerleşmiş olur. Kap bu sırada sabit bir hız ve yönde hareket eder. Fibrin oluşumunun başlamasıyla birlikte pin ve kan örneği (kap) arasında bir bağ oluşur. Bu bağ, pin ve kabın birlikte hareket etmesine yol açar. Hareket, pıhtı oluşumunun kinetiği, kuvveti ve fibrinolizisiyle ilgili olup elektrik sinyallerine dönüştürülür. Bilgisayar ekranında takip edilen analiz bir TEG eğrisi şeklinde gözlenir (Şekil 3).

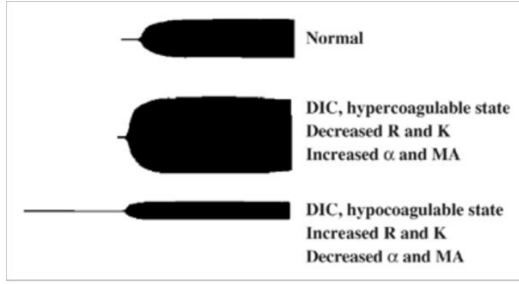


Şekil 2. TEG'nin çalışma prensibi (Mou ve ark., 2018)

Çalışmaların çoğunda beş TEG değişkeni (R, K, alfa açısı, MA ve G) değerlendirilmiştir. R değeri reaksiyon süresidir ve testin başlangıcından önceden belirlenmiş bir fibrin oluşumuna kadar, yani eğrinin 2 mm genişliğe ulaşana kadar geçen süredir. R öncelikle plazma pıhtılaşma faktörlerinden ve antitrombin, Protein C (PC) ve Protein S (PS) aktivitesi gibi doğal antikoagülanlardan / pıhtılaşma inhibitörlerinden etkilenir (Bauer ve ark.,

2009). R değeri antikoagülanlar ve pıhtılaşma faktörü eksiklikleri nedeniyle uzar ve hiperkoagülasyon durumunda kısalmır. Fibrin polimerizasyonu ilerledikçe pıhtı stabilitesi artar ve bu, TEG eğrisinin düz bir çizgiden ikiye ayrılarak aradaki artan mesafesiyle gösterilir. Pıhtılaşma süresi K, başlangıçtaki pıhtı oluşumundan önceden belirlenen pıhtı kuvvetine ulaşmak için gereken süredir ve R'nin sonundan eğrinin 20 mm'lik bir sapmaya ulaşana kadar ölçülür. K, pıhtılaşma faktörlerinden, fibrinojen plazma konsantrasyonundan ve trombosit sayısından etkilenir (Bauer ve ark., 2009). Hiperfibrinojenemi ve daha az oranda trombosit hiperfonksiyonu, K değerinin kısılmasına neden olurken, fibrin polimerizasyonunu ve trombosit fonksiyonunu etkileyen antikoagülanlar K değerini azaltır. Alfa açısı, K değeri ile yakından ilişkilidir, fibrin çapraz bağ oluşum hızını gösterir ve fibrinojen plazma konsantrasyonuna ve daha az derecede trombosit sayısına bağlıdır. K değerine benzer şekilde alfa açısı, hiperfibrinojenemi ve artan trombosit fonksiyonu nedeniyle yükselir (Bauer ve ark., 2009). Maksimum amplitüd MA, pıhtının maksimum gücü ve stabilitesinin ölçüsüdür. MA değeri yaklaşık olarak %80 trombosit sayısına ve fonksiyonuna bağlıdır. Fibrin, pıhtı kuvvetine daha az katkıda bulunur. G değeri, pıhtı sertliğinin ve dolayısıyla genel pıhtılaşma durumunun bir ölçüsüdür (mm<sup>2</sup> başına din cinsinden) ve şu şekilde hesaplanır:  $G=(5000 \times MA)/(96-MA)$ . G, MA'nın üssel bir yansıması olduğundan, milimetre cinsinden amplitüden ziyade pıhtı sertliği veya fibrinolitikteki küçük değişiklikleri gösterir (Bauer ve ark., 2009).

TEG sonuçlarının değerlendirilebilmesi için birçok hayvan türünde referans çalışmalarına rastlanmaktadır. Köpeklerde farklı aktivatörler kullanılarak referans çalışmaları yayınlanmıştır (Wiinberg ve ark., 2005; Jessen ve ark., 2008; Bauer ve ark., 2009). Öncelikle klinik çalışmalar köpeklerde gerçekleştirilmiş olup, sağlıklı kontrol grupları ile karşılaştırmaların yapıldığı gözlemlenmektedir. Yaygın damar içi pıhtılaşma (DIC) tanısı koyulmuş ve DIC için predispoze sayılan hastalıkları olan 50 köpekle yapılan bir çalışmada, 33 köpekte pıhtılaşma bozukluğu tespit edildiği, bunlardan 22'sinin TEG analizinde hiperkoagülasyon ve 11'inin de hipokoagülasyon sonuçları gösterdiği belirtilmiştir (Şekil 3) (Wiinberg ve ark., 2008). Hipokoagülatif olanların ise prognozunun zayıf olduğu belirlenmiştir. Köpeklerde tromboemboliyle komplike olan en çok bilinen hastalık ise immün ilişkili hemolitik anemidir (IMHA). Bu sebepten TEG analizleriyle gerçekleştirilen ilk klinik çalışmalara bu hastalık dahil olmuştur (Sinott and Otto, 2009; Goggs ve ark., 2012). IMHA tanısı koyulmuş köpeklerde TEG'nin R, K, alfa, MA ve G değerleriyle gerçekleştirilmiş olan araştırmalarda, hastaların çoğunluğunda MA ve G değişkenleri baz alınarak hiperkoagülasyon tespit edilmiştir.



**Şekil 3.** Normo, hiper ve hipokoagülasyonu yansıtan TEG eğrileri (Wiinberg ve ark., 2008).

Hiperkoagülasyon ise tromboemboli ile ilişkilendirilmek istenmiş olsa da, hiperkoagülasyonu olan köpeklerin prognozunun daha iyi olduğu rapor edilmiştir (Sinott ve Otto, 2009; Goggs ve ark., 2012). TEG'nin geleneksel olmayan ve yeni sayılan delta değişkeni ile IMHA'daki hiperkoagülasyonun enzimatik ya da trombosit kaynaklı olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır (Hamzianpour ve Chan, 2016). IMHA tanısı koyulmuş köpeklerin %50'sinin yüksek trombosit aktivitesine bağlı olarak hiperkoagülasyon geliştiği belirlenmiştir (Hamzianpour ve Chan, 2016). IMHA'lı hiperkoagülasyonlu köpeklerin aspirin ve clopidrogel tedavilerinin TEG'nin geleneksel R, K, alfa açısı, MA ve G değişkenleri ile izlenmesi yetersiz kalmaktadır (Griebsch ve ark., 2022). Tedaviye verilen yanıtlar bireysel olarak değişkenlik gösterdiği için mutlaka geleneksel TEG parametreleri dışında TEG'nin platelet mapping analizinin de dahil edilmesiyle, trombosit fonksiyonlarının izlenmesi daha isabetli bir tedavi ve doz protokolünün oluşturulmasını ve izlenmesini sağlayacaktır (Griebsch ve ark., 2022). IMHA tanısı koyulmuş köpeklerde TEG'nin kullanımına dair, yıllar içerisinde hep daha fazla bilgi rapor edilse de, güvenli ve rutin klinik kullanım için daha fazla çalışma ile veriye ihtiyaç duyulmaktadır (Sinott ve Otto, 2009; Goggs ve ark., 2012; Hamzianpour ve Chan, 2016; Griebsch ve ark., 2022). Yine farklı hastalıklara bağlı olarak TEG ile tanımlanmış hipokoagülasyonlu köpeklerde, bireysel transfüzyon tedavi ve dozlarının belirlenmesi ile izlenmesinde geleneksel TEG parametrelerinin uygun olduğu bildirilmiştir (Langhorn ve ark., 2019). Dilate kardiyomiopati (DCM) tanısı koyulmuş köpeklerde TEG sonuçları çoğunlukla hiperkoagülasyona işaret etmiş olsa da, DCM'li köpeklerde hipokoagülasyonun da gözlemlenebilir olması dolayısıyla özellikle trombolitik tedaviler öncesinde koagülasyon durumunun değerlendirilmesi önemlidir ve TEG bunun için uygun bir yöntem olarak görünmektedir (Yılmaz ve ark., 2012). Köpeklerde hiperadrenokortisizm, kronik eneteropati ve kritik hastalarda gerçekleştirilen çalışmalarda özellikle TEG analizleriyle tromboembolik risklerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır (Kol ve ark., 2013; Dixon ve ark., 2021; Majoy ve ark., 2015; Han ve ark., 2022). Ancak çoğu çalışmanın vaka sayısının düşük olması, tromboemboli tanısı için daha

spesifik pıhtılaşma testlerinin dahil edilmemesi, ölüm ile sonuçlanan vakalarda patolojik incelemenin olmayışı, ilk defa bu hastalıklarda TEG sonuçlarının belirlenmesi dışına çıkamamıştır. Prognozun bu parametrelere dayanarak belirlenmesi, tedavilerin geliştirilmesi ve güvenli bir rutin kullanım için yeni ve ayrıntılı çalışma sonuçlarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Kedilerde TEG çalışmaları ise köpeklerdeki kadar yaygın olmamakla beraber daha sonra literatüre dahil olmuştur. TF ile aktive edilmiş TEG referans çalışma sonuçlarına bağlı olarak kedilerin R süresinin bu aktivatör ile çok kısa olduğu belirlenmiştir ve koagülasyondaki değişimleri yansıtamaması söz konusu olduğu için klinik kullanım açısından uygun değildir (Banarjee ve ark., 2011). Özellikle kedi kan örneklerinin farklı sürelerde bekletilmesi sonucunda yapılacak olan TEG analizlerinin değerlendirilmesi için farklı referans aralığına ihtiyaç duyulmaktadır (Engelen ve ark., 2017). Steroid tedavisine yanıt veren bir trombositopenili kedide hipokoagülasyon natif TEG analizi ile belirlenebilmiştir (Johnson ve ark., 2018). Kolestatik karaciğer hastalığı tanısı koyulmuş kedilerde koagülasyon değişimleri TEG ile izlenebilmekte ancak tedavi sonrası hiper-, normo- ve hipokoagülasyona kadar değişen sonuçlarla karşılaşmaktadır (Kakar ve ark., 2021). Köpeklerde gerçekleştirilmiş olan çalışmalar kedilere göre çok daha fazla olmasına rağmen rutin klinik kullanım açısından yeterli veri olmayışı, kedilerde bu alanda daha da fazla yol kat edilmesi gerektiği çok açık. Ancak geleneksel TEG parametreleri ile sınırlı kalmayıp, gelecekte kedilerde yapılacak klinik çalışmalara delta ve velocity curve (v-curve) gibi değişkenler de dahil edildiği takdirde istenilen sonuçlara gereksiz çalışma tekrarlarına girilmeden, maddi ve zaman kayıpları yaşanmadan ulaşılabildiği sağlanabilir (Engelen ve ark., 2017).

Çiftlik hayvanlarından süt sığırlarında ve buzağılarda referans çalışmaları mevcut (Sommerey ve ark., 2014; Borrelli ve ark., 2017). Yapılan deneysel çalışmalar koagülasyon değişimlerinin TEG ile takip edilebildiğini göstermiştir. Ancak çiftlik hayvanlarının kedi ve köpeklere göre sürü bazında yetiştiriliyor olması, rutin klinik kullanımından ziyade, hastalıklarda tanı ve özellikle tedavilerin geliştirilmesinde önemli bir katkı sağlayabilir. Atların bireysel olarak yetiştirilmesi ve tedavi edilmesi dolayısıyla TEG ile ilgili kaynaklar mevcut. Atlarda farklı aktivatör ya da natif örneklerle referans çalışmaları gerçekleştirilmiştir ancak burada da çalışmalardaki düşük örnek sayıları dikkat çekmektedir (Epstein ve ark., 2009; Leclere ve ark., 2009; Epstein ve ark., 2011; Mendez-Angulo ve ark., 2011). Atlarda enflamatuvar gastrointestinal hastalıkların TEG sonuçları hipokoagülasyona işaret etmiştir. Bu gastrointestinal hastalıkların belirlenip TEG analizlerinin gerçekleştirilmesi ile daha farklı sonuçların elde edilmesi muhtemel. TEG çalışmalarının tercih edilmesinin en büyük nedeni hiperkoagülasyonu tespit edebiliyor olmasından dolayıdır. Yapılan birçok klinik çalışma aslında geleneksel koagülasyon

testlerinin kaçırabileceği bu tanıya ilişkindir. Septik hastalık tanısı koyulmuş neonatal taylarda TEG analizleri hiperkoagülasyon durumunu tanımlayarak tayların koagülasyonlarına ilişkin bilgi verebildiği gösterilmiştir (Mendez-Angulo ve ark., 2011). Bu tarz vakalarda koagülasyon değişimlerinin prognoza etkisi bilinmiyor olduğundan, tedavide hiperkoagülasyona ilişkin düzenlemeler yapılmamıştır. Bu aşamada daha ayrıntılı olarak hiperkoagülasyon nedeninin enzimatik ya da trombosit kaynaklı olup olmadığı değerlendirilip bir tedavi belirlenip TEG ile takip edilmesi gerekmektedir. Egzersize bağlı akciğer kanaması (EIPH) tanısı koyulmuş yarış atlarının yarış öncesi ve sonrası TEG sonuçları hiperkoagülatif olarak sonuçlanmıştır. Yarış öncesi hiperkoagülasyonun ise hastalığa bağlı hasar ve kanamaya ilişkin olarak ya da bir predispozisyon olarak değerlendirilebilir mi belirsizdir. Atlarda pıhtılaşma anormalliklerinden şüphe edildiğinde TEG analizinin hastanın koagülasyon durumu hakkında bilgi verdiği şüphesiz ve böylelikle tanı ve tedavi aşamalarında yol gösterici olabilmektedir.

TEG'nin veteriner hekimliğin klinik pratiğinde kullanımı faydalı görünmek ile beraber yetersiz çalışma ve hastalarda koagülasyonun dinamiği dolayısıyla sürekli değişme ihtimali göz önünde bulundurularak dikkatle ve takip edilerek uygulanmasının tek bir analiz ile hastanın primer,- sekonder- ve tersiyer hemostazisi değerlendirmesi özelliği önemli katkıda bulunmaktadır.

## KAYNAKÇA

- Banerjee, A., Blois, S.L., Wood, R.D. (2011). Comparing citrated native, kaolin-activated, and tissue factor-activated samples and determining intraindividual variability for feline thromboelastography. *J Vet Diagn Invest*, 23(6).
- Bauer, N., Eralp, O., Moritz, A. (2009). Establishment of Reference Intervals for Kaolin-Activated Thromboelastography in Dogs Including an Assessment of the Effects of Sex and Anticoagulant Use. *J Vet Diagn Invest*, 21(5), 641-648.
- Borrelli, A., Botto, A., Maurella, C., Falco, s., Pagani, e., Miniscalco, B., Tarducci, A., Bruno, B. (2017). Thromboelastometric assessment of hemostasis in newborn Piemontese calves. *J of Vet Diag Invest*, 29(3), 293-297.
- Dixon, A., Hall, E.J., Adamantos, S., Kathrani, A., Mc Grath, C., Black, V. (2021). Hypercoagulability in dogs with chronic enteropathy and association with serum albumin concentration. *J Vet Intern Med*. 35(2), 860-866.
- Engelen, C., Moritz, A., Barthel, F., Bauer, N. (2017). Preliminary reference intervals and the impact of citrate storage time for thrombelastography in cats including delta and the velocity curve. *BMC Vet Res*. 29;13(1), 366.
- Epstein, K.L., Brainard, B.M., Gomez-Ibanez, S.E., Lopes, M.A., Barton, M.H. and Moore, J.N. (2011) Thrombelastography in horses with acute gastrointestinal disease. *J Vet Intern Med*, 25, 307-314.
- Epstein, K.L., Brainard, B.M., Lopes, M.A., Barton, M.H. and Moore, J.N. (2009) Thrombelastography in 26 healthy horses with and without activation by recombinant human tissue factor. *J Vet Emerg Crit Care*, 19, 96-101.
- Goggs, R., Wiinberg, B., Kjelgaard-Hansen, M., Chan, D.L., (2012). Serial assessment of the coagulation status of dogs with immune-mediated haemolytic anaemia using thromboelastography. *Vet J*, 191, 347-353.
- Griebsch, C., Hall, E., Barrs, VR. (2022). Effectiveness of aspirin vs. clopidogrel in dogs with immune mediated haemolytic anaemia evaluated by serial thromboelastography and platelet mapping. *Vet J*, 287, 105882.
- Hamzianpour, N. and Chan, D.L. (2016). Thromboelastographic assessment of the contribution of platelets and clotting proteases to the

- hypercoagulable state of dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *J Vet Emer Crit Care*. 26, 295-299.
- Han, H.J., Kim, J.H. (2022). Correlation Between D-Dimer Concentrations and Thromboelastography in Dogs With Critical Illness: A Retrospective, Cross-Sectional Study. *Front Vet Sci*, 14;9, 844022.
- Jessen, L.R., Wiinberg, B., Jensen, A.L., Kjelgaard-Hansen, M., Jensen, K.H., Pedersen, L.B., Kristensen, A.T. (2008). In Vitro Heparinization of Canine Whole Blood with Low Molecular Weight Heparin (Dalteparin) Significantly and Dose-Dependently Prolongs Heparinase-Modified Tissue Factor-Activated Thromboelastography Parameters and Prothrombinase-Induced Clotting Time. *Vet Clin Pathol*, 37, 363-372.
- Kakar, N., Daniel, G., Fellman, C., de Laforcade, A., Webster, C.R. (2021). Thromboelastography in cats with cholestatic liver disease. *J Feline Med Surg*, 23(2), 160-167.
- Kol, A., Nelson, R.W., Gosselin, R.C., Borjesson, D.L. (2013). Characterization of thromboelastography over time in dogs with hyperadrenocorticism. *Vet J*, 197(3), 675-81.
- Langhorn, R., Bochsén, L., Willesen, J. L., Sørensen, T. M., & Kristensen, A. T. (2019). Thromboelastography- guided transfusion in dogs with hypocoagulable disorders: A case series. *Acta Vet Scand*, 61(1), 35.
- Leclere, M., Lavoie, J.P., Dunn, M. and Bedard, C. (2009) Evaluation of a modified thromboelastography assay initiated with recombinant human tissue factor in clinically healthy horses. *Vet Clin Pathol*, 38; 462-466.
- Lubas, G., Caldin, M., Wiinberg, B.O., Kristensen, A.T. (2010). Laboratory testing of coagulation disorders. In: Weiss D.J., Wardrop K.J. Eds. *Schalm's Veterinary hematology*. 6th ed. Iowa: Blackwell Publishing, 1082-1100.
- Majoy, S.B., de Laforcade, A.M., Barnard, M.R., Shaw, S.P. (2015). Platelet activation in a population of critically ill dogs as measured with whole blood flow cytometry and thromboelastography. *Am J Vet Res*, 76(4), 328-337.
- Mendez-Angulo, J.L., Mudge, M., Zaldivar-Lopez, S., Vilar-Saavedra, P., Couto, G. (2011). Thromboelastography in healthy, sick non-septic and septic neonatal foals. *Aust Vet J*. 89(12), 500-505.
- Mou, Q., Zhou, Q., Liu, S. (2018). Blood clot parameters: Prejudgment of fibrinolysis in thromboelastography. *Clin Chim Acta*, 479, 94-97.

- Sinnott, V.B. and Otto, C.M. (2009), Use of thromboelastography in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 39 cases (2000–2008). *J Vet Emer Crit Care*, 19, 484-488.
- Sommerey ,C.C., Williams, T.L., McCrone, I., Ruiz-Ferreras, A., Freeman, D., Archer, J. (2014). Thromboelastography in healthy dairy cows. *J Dairy Sci*, 97(9), 5474-80.
- Volod, O., Bunch, C.M., Zackariya, N., Moore, E.E., Moore, H.B., Kwaan, H.C., Neal, M.D., Al-Fadhl, M.D., Patel, S.S., Wiarda, G., Al-Fadhl, H.D., McCoy, M.L., Thomas, A.V., Thomas, S.G., Gillespie, L., Khan, R.Z., Zamlut, M., Kamphues, P., Fries, D., Walsh, M.M. (2022). Viscoelastic Hemostatic Assays: A Primer on Legacy and New Generation Devices. *J Clin Med*, 11(3), 860.
- Wiinberg, B., Jensen, A.L., Johansson, P.I., Rozanski, E., Tranholm, M., Kristensen, A.T. (2008). Thromboelastographic evaluation of hemostatic function in dogs with disseminated intravascular coagulation. *J Vet Intern Med*, 22(2), 357-65.
- Wiinberg, B., Kristensen, A.T. (2010).Thromboelastography in veterinary medicine. *Semin Thromb Hemost*, 36(7), 747-756.
- Wiinberg, B., Lundorff Jensen, A., Rojkaer, R., Johansson, P., Kjelgaard-Hansen, M., Kristensen, A.T. (2005). Validation of Human Recombinant Tissue Factor-Activated Thromboelastography on Citrated Whole Blood from Clinically Healthy Dogs. *Vet Clin Pathol*, 34, 389-393.
- Yilmaz, Z., Kocatürk, M., İnan, O.E., Levent, P. (2017). Thromboelastographic evaluation of hemostatic functionin dogs with dilated cardiomyopathy. *Turkish J Vet Anim Sci*, 41(3), 9.





## BÖLÜM 5

### KOYUNLARDA MASTİTİSLİ SÜTLERDE OMİK ANALİZLER

Dr. Öğr. Üyesi Öznur YILMAZ KOÇ<sup>1</sup>

Dr. Öğr. Üyesi Tarık ŞAFAK<sup>2</sup>

Prof. Dr. Ali RİŞVANLI<sup>3</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408062>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye, [oznur.yilmaz@siirt.edu.tr](mailto:oznur.yilmaz@siirt.edu.tr), ORCID ID: 0000-0003-0424-9471

<sup>2</sup>Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kastamonu, Türkiye, [tsafak@kastamonu.edu.tr](mailto:tsafak@kastamonu.edu.tr), ORCID ID: 0000-0002-6178-4641

<sup>3</sup>Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye, [arisvanli@firat.edu.tr](mailto:arisvanli@firat.edu.tr), ORCID ID: 0000-0001-5653-0025



## GİRİŞ

Mastitis, meme dokusunda görülen yangısal reaksiyonlar ile sütün fiziksel ve kimyasal yapısındaki değişimlerle karakterize enfeksiyöz bir hastalıktır. Mastitisler, meme loblarında değişen derecede klinik semptomların gözleendiği klinik mastitis ya da klinik semptom ve sütte fiziksel herhangi bir değişikliğin tespit edilmediği subklinik mastitis olarak iki şekilde sınıflandırılabilir (Bergonier ve ark., 2003; Viguier ve ark., 2009). Her iki mastitis formunda da süt veriminde önemli derecede bir azalma söz konusudur. Mastitis vakalarında hastalık tedavi edilse bile eski süt verimine ulaşılmaz. Koyunda iyileşme sonrası süt üretim miktarı sağlıklı döneme göre çok daha düşük kalmaktadır. Mastitise bağlı olarak ortaya çıkan ekonomik zararlar; süt veriminde azalma, sütün atılması, süt kalitesinin düşmesi, veteriner hekim hizmetlerindeki maliyet artışı, mastitisli hayvanların sürüden erken yaşta çıkarılması, diğer hastalıklar, kontrol ve koruma tedbirlerinin getirdiği ek giderler ve hatta kuzu beslenmesinin/büyümesinin azalmasına bağlı ekonomik kayıplar şeklinde sıralanabilir (Kiossi ve ark., 2007; Conington ve ark., 2008; Huntley ve ark., 2012).

## KOYUNLARDA MASTİTİS ETKENLERİ

Koyunlarda mastitise çoğunlukla Gram pozitif bakteriler neden olmaktadır (Bergonier ve ark., 2003). Klinik mastitis vakalarının çoğu laktasyonun erken döneminde ortaya çıkar ve çoğunlukla *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Mannheimia haemolytica*'dan kaynaklandığı bildirilmektedir (Contreras ve ark., 2007; Gelasakis ve ark., 2016). Klinik mastitis genellikle koyunlarda mastitis vakalarının %5'inden azında görülür (Olechnowicz ve Jaskowski, 2014). Bununla birlikte, koyunlarda klinik mastitis sporadik vakalar halinde görülmektedir. Nadiren de olsa sürü salgınları şeklinde görülebilir. Klinik mastitis, artan hastalık şiddeti ile subakuttan kronik hale geçebilir. Klinik mastitisin teşhis edilmesi kolaydır, açıkça gözlemlenebilir klinik belirtiler ve memede renk değişikliği gibi fiziksel belirtiler ile kendini gösterir. Klinik mastitisli memeler genellikle şişer ve dokunulduğunda ağrı hissi uyandırır. Etkilenen koyunlar yem yemeyi reddeder, halsizdirler ve genellikle kuzularının emmelerine izin vermezler, bu da emziren kuzuların büyüme oranlarında azalmalara neden olmaktadır. Klinik mastitisten etkilenen koyunlardan elde edilen sütün görünümü ve bileşimi anormaldir; renk değişikliği, sulu, kan veya serum içerebilir. İrin ve sütte pıhtılaşma varsa kötü kokulu olabilir (Berthelot ve ark., 2006; Mork ve ark., 2007; Marogna ve ark., 2010; Smith ve ark., 2015).

Subklinik mastitis koyunlarda oldukça yaygındır, koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) en yaygın izole edilen bakteri türleridir ve sürü düzeyinde prevalansı %25 ila %90 arasında değişmektedir (Bergonier ve ark., 2003; Gelasakis ve ark., 2016; Van den Crommenacker-Konings ve ark., 2021).

Staphylococcus epidermidis ise bunlar arasında en çok izole edilen türdür (Onni ve ark., 2011). Son araştırmalarda koyunlarda subklinik mastitisin etiyolojik ajanları olarak KNS'nin önemini göstermektedir (Leitner ve ark., 2001; Pengov, 2001; McDougall ve ark., 2002; Contreras ve ark., 2007). Subklinik mastitiste KNS'lerden sonra en sık izole edilen bakteri S. aureus'tur (Ozenc ve ark., 2011). Öte yandan mikoplazmalar, karmaşık bilinmeyen patojenite faktörleri ile yok edilmesi zor kronik enfeksiyonlara neden olan mikroorganizmalardır. Mikoplasma kaynaklı mastitisler dünya çapında oldukça önemli bir sorun olarak devam etmektedir. Farklı türler arasında, Mycoplasma bovis sığırlarda en önemli türdür, buna karşın çok yakın filogenetik akrabası olan Mycoplasma agalactiae (M. agalactiae), küçük ruminantlarda benzer şiddetli mastitise neden olmaktadır. Mycoplasma agalactiae, koyun ve keçilerde kontagiyöz agalactia sendromunun ana etiyolojik ajanıdır ve özellikle enfeksiyonun antibiyotik tedavisinden sonra bile uzun yıllar süte kalması nedeniyle büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Kauf ve ark., 2007; Corrales ve ark., 2007; Citti ve Blanchard, 2013; Dudek ve ark., 2020).

### MASTITİS TEŞHİSİNDE KONVANSİYONEL YAKLAŞIM

Subklinik mastitisin belirlenmesi, klinik belirtilerin olmaması nedeniyle oldukça zordur. Subklinik mastitis sadece süte bakteriyolojik testler veya somatik hücre sayımı (SHS) (nötrofil lökositler ve bazı epitel hücreleri) ile tespit edilebilir. Koyunlarda, süt SHS>200 x 10<sup>3</sup> hücre/ml ise ve/veya California Mastitis Test (CMT) sonucuna göre pozitif reaksiyon vermişse subklinik mastitis olarak kabul edilir. Genel olarak subklinik mastitisli koyunlar sağlıklı görünürler ancak yangısal durum nedeniyle süt üretimi ve sütün bileşiminde değişiklikler gözlenmektedir (Berthelot ve ark., 2006; De Olives ve ark., 2013; Olechnowicz ve Jaśkowski, 2014). Somatik hücre sayımı ve CMT, nötrofil lökositlerin varlığıyla dolaylı ilişkileri nedeniyle tanı araçları olarak kullanılmaktadır (Sordillo ve Streicher, 2002; Sordillo, 2018). Ancak, bu testlerin özellikle küçük ruminantlarda özgülükleri sınırlı kalmaktadır (Souza ve ark., 2012).

*California Mastitis Test* mastitis tespiti için hızlı, kullanımı kolay ve ucuzdur. Ayrıca, mastitis kontrol ve önleme programlarında faydalı olmasına rağmen, test kalitatif ve subjektif olarak yorumlanmaktadır (Dingwell ve ark., 2003). Özgülüğü (%86,2) ve duyarlılığı (%88,5) nedeniyle CMT'nin mastitisi teşhis etmek için bir araç olduğu belirtilmektedir (Leslie ve ark., 2002). Fakat, farklı çalışmalarda CMT'nin duyarlılığı ve özgülüğü sırasıyla %61-69 ve %65-68 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Roy ve ark., 2009; Mahmmud ve ark., 2013). Ayrıca, CMT, yeni doğum yapmış ineklerde ve kuruya çıkartılacak geç laktasyondaki inekler için önerilmemektedir. Çünkü SHS artması enfeksiyonla ilgili olmayabilir (Williamson ve ark., 2022).

Meme dokusundaki damar geçirgenliğindeki artışa bağlı olarak, mastitisli sütlerde iyon bileşimi de değişkenlik göstermektedir. Mastitisli sütlerde, potasyum oranı düşerken, sodyum ve klor miktarında da artış söz konusudur. Bu durumda mastitis teşhisinde bize yardımcı olmaktadır. Ancak, sütün elektrik iletkenliği; hayvanın ırkı, sütün bileşimi, miktarı, laktasyon dönemi, bakteriyel flora, mevsim, sağım sıklığı gibi birçok faktörün etkisine bağlı olarakta değişkenlik gösterebilmektedir (Baştan, 2018; Yağcı, 2008).

Bir diğer tanı aracı ise enfeksiyona neden olan patojeni izole etmeyi amaçlayan mikrobiyolojik kültürdür. Mikrobiyolojik ekimlerle bakteri etkeninin tanımlanması yapıp ona yönelik bir tedavi protokolü izlenebilir. Ancak bu yönteminde dezavantajları vardır; özellikle test için gereken sürenin uzunluğu ve mastitisli süt kültürlerinde sıklıkla 'üreme yok' vakalarının görülme sıklığı. Süt koyunlarında mastitisin diğer teşhis araçları ve belirteçleri arasında, enfekte koyunların meme dokusundan numunelerin toplanması ve ardından histolojik ve immünohistokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesi yer almaktadır, ancak aynı zamanda pratik değildir ve çoğunlukla araştırma çalışmalarında uygulanmıştır (Libera ve ark., 2021).

## MASTITİS TEŞHİSİNDE YENİ MODELLER

Mastitis sırasında, laktoferrin, katelisinler, sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri dahil olmak üzere çok sayıda antibakteriyel ve bağışıklık savunma proteini süte salınır ve potansiyel olarak mastitis belirteçleri olarak kullanılabilir (Smolenski ve ark., 2011; Thomas ve ark., 2015). Buna göre, alternatif/bütünleştirici tanı araçları olarak uygulanmaları, son yıllarda çeşitli çalışmaların konusu olmuştur. Günümüzde mevcut olan teşhis araçları ile karşılaştırıldığında, gelişmiş duyarlı ve özgül tanı araçlarını uygulamak için yeni biyobelirteçler keşfetmeye ihtiyaç duyulmaktadır (Chiaradia, ve ark., 2012). Artan tanılabilir performans olasılığına ek olarak, geleneksel tanı yaklaşımlarının mastitis marker proteinlerini ölçen immünoanalizlerle entegrasyonu, numuneler üzerinde verimli çalışma yeteneği, yüksek analitik verim ve minimum maliyet dahil olmak üzere ek faydalar sağlayabilir (Addis et al. 2016). Meme enfeksiyonu saptanması mastitisin teşhis edilmesi ve tedavisi için yararlı biyobelirteçlerin tanımlanmasına yardımcı olabileceğine ve böylece mastitisin diğer bölgelere yayılmasının önlenmesine yardımcı olabileceğine inanılmaktadır. Bu bağlamda, tespit edilebilecek spesifik proteinler, gelecekteki teşhis kitlerinin geliştirilmesi için daha fazla imkan sunacağı düşünülmektedir (Chiaradia ve ark., 2012; Giagu ve ark., 2022).

Moleküler çalışmalar günümüzde aynı zamanda omik teknolojileri ile ifade edilerek geliştirilmeye ve araştırma konusu olmaya başlamıştır. Omik teknolojisi içerisinde oldukça farklı teknolojiler yer almaktadır. Bu teknolojiler sayesinde organizmayı oluşturan hücreleri, proteinleri ve molekülleri kapsamlı ve detaylı bir şekilde araştırabilme imkanı bulunmuştur.

Bu biyolojik araştırmalar genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik analizler olmak üzere dört temel başlıkta incelenmektedir (Li ve ark., 2017; Long, 2020).

Omik teknolojileri evcil hayvanlarda hastalıkların tespiti (Katsafadou ve ark., 2015), beslenme stratejilerinin belirlenmesi (Shahzad ve ark., 2019), reproduktif kalitenin belirlenmesi (Long, 2020), sperm kalitesinin belirlenmesi (Hitit ve ark., 2021; Özbek ve ark., 2021) ve embriyo gelişim aşamalarının ve kalitesinin değerlendirilmesi (Kropp ve Khatib, 2015; Banliat ve ark., 2022) amacıyla kullanılmaktadır. Östrüs siklusu ve erken gebelikte koyun endometriyumunda mRNA ekspresyonu araştırılmıştır (Hitit ve Köse, 2022). Keçi ovaryumlarında miRNA, circRNA ve lncRNA gibi mRNA ve non-coding-RNA'ların veri tabanları araştırılan bir çalışmada bu RNA'ların ekspresyonu, östrüs ve diöstrüs aşamasındaki gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Östrüs siklus düzenlenmesi, östrüs ve diöstrüs aşaması arasındaki farklı RNA ifadelerine bakılarak tahmin edilmektedir (An ve ark., 2021). Erken gebelik teşhisi (Ioannidis ve Donadeu, 2016) ve amniyotik sıvıda fetal cinsiyetin belirlenmesi amacıyla da kullanılabileceği öngörülmektedir (Sanchez ve ark., 2021). Ayrıca, evcil hayvanların serum/plazma proteomundaki değişikliklerle erken gebelik ile ilgili araştırmalara artan bir ilgi bulunmaktadır. Buna göre, sığır (Lee ve ark., 2015), manda (Balhara ve ark., 2014), domuz (De ve ark., 2019), eşek (Deng ve ark., 2020), kısırak (Deng ve ark., 2022) ve köpek (Valdés ve ark., 2019) serum/plazmalarındaki gebeliğe özgü potansiyel belirteçler proteomik analizler yapılarak tanımlanmıştır.

Son yıllarda, özellikle ineklerde gerek kan gerekse sütte transkriptomik çalışmalara odaklanılmıştır. Son miRBase sürümü ile sığırlar için 1.025, keçiler için 436 ve koyunlar için 153 miRNA içerdiği belirtilmiştir (Dysin ve ark., 2021). Bakteriyel sığır mastitisi ile ilgili miRNA'lar ilk olarak ısıyla inaktive edilmiş *S. aureus* ve *E. coli* ile enfekte olmuş meme hücrelerinde miR-21-5p, miR-27b, miR-22-3p, miR-184, let-7f, miR-2339, miR-499, miR-23a, miR-99b dahil olmak üzere toplam 231 bilinen ve 113 yeni miRNA tanımlanmıştır (Jin ve ark., 2014). *Staphylococcus aureus* ile enfekte hücelere özgü olan *S. aureus* ve *E. coli*'nin neden olduğu mastitis ile enfekte sığır meme dokularında hem bta-miR-146a hem de bta-miR-146b'de önemli bir artış tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2016). Dahası, *S. aureus* ile enfekte olmuş ineklerin süt eksozomlarında 492 bilinen ve 980 yeni miRNA tanımlanmıştır. Bu miRNA'ların daha önceden bilinenlerden 22 tanesi ve yeni tespit edilenlerden ise 15 tanesi sağlıklı ineklere kıyasla mastitisli olanlarda ekspresyon göstermiştir (Cai ve ark., 2018). Han vd. (2020), öte yandan mastitisli ineklerin memelerinde, 10'u daha önce tanımlanmış olan toplam 48 miRNA'nın tanımlamasını yapmıştır. Birçok çalışmada, miRNA'ların inek (Izumi ve ark., 2012), domuz (Chen ve ark., 2014) ve keçi (Cremonesi ve ark.,

2022) gibi hayvanların sütünde ve kolostrumunda tespit edildiği bildirilmektedir. Sütteki miRNA'ların ekspresyon profilleri, farklı laktasyon dönemlerinde önemli değişikliklere uğrayabilmektedir. Böylece miRNA'ların laktasyonun düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu miRNA'ların ayrıca farklı biyolojik fonksiyonlar için biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir (Wang ve ark., 2022; Oyelami ve ark., 2022). Eksozomal miRNA'lar, Holstein ve Doğu Anadolu Kırmızı inek sütü ve kolostrumda karakterize edilmiştir. Süt sentezini düzenleyen miRNA'lar ve immünolojik yolaklarda yer alan miRNA'lar çoğunlukla Holstein inek kolostrumunda bulunmaktadır. Doğu Anadolu Kırmızı inek sütünde, süt yağı ve protein metabolizmasını ve immünolojik yolakları iyileştiren miRNA'ların yanı sıra kolostrumda daha önce hiç tanımlanmamış miRNA'lar da tespit edildiği bildirilmektedir (Özdemir, 2020).

*Streptococcus uberis* (Lawless ve ark., 2013), *S. aureus* ve *E. coli* (Jin ve ark., 2014) ile enfekte olmuş sığır meme epitel hücreleri ve süten (Sun ve ark., 2015) elde edilen miRNA'ların insan sütünden elde edilen bulgularla benzer olduğu tespit edilmiştir (Zhou ve ark., 2012). Ayrıca, sığır meme epitel hücrelerinin (Li ve ark., 2017) ve meme bezinin (Jensen ve ark., 2013) miRNA profili, mastitisle ilişkili olabileceği anlamına gelmektedir. Eksprese edilen miRNA'lardan miR-223 ve miR-142-5p'nin, sığır mastitis teşhisi için potansiyel adaylar olabileceği belirtilmektedir (Cai ve ark., 2018).

Sığırların aksine koyunlarda tanımlanan miRNA'ların çoğu, meme bezi dışındaki dokulardan elde edilmiştir. Örneğin, Caiment vd. (2010), derin dizileme yoluyla iskelet kasından 747 miRNA tanımlarken, McBride vd. (2012), farklı üreme aşamalarındaki koyunların ovaryum foliküllerinden ve korpus luteumdan 212 miRNA tanımlamıştır. Galio vd. (2013) gebe ve laktasyondaki koyunlarda miR-21, miR-205 ve miR-200 ailesi dahil olmak üzere bilinen üç miRNA'nın ve 47 yeni miRNA'nın varlığını göstermiştir. Son zamanlarda koyunlarda yapılan bir çalışmada (Wang ve ark., 2021), koyun meme dokusunda 147 miRNA bulunmuş ve bunların ekspresyonunun laktasyon dönemine göre farklılık gösterdiği belirtilmiştir.

Güncel çalışmalarda omic teknolojisinin bir diğer ayağı proteomik analizlerdir (Li ve ark., 2017; Cui ve ark., 2020; Lan ve ark., 2021). Bu teknolojilerin temel amacı doku veya plazma/serum örneklerinde hastalık teşhis etmeye ve yeni biyobelirteçler belirlemeye yöneliktir (Nedelkov ve ark., 2006). Proteomikteki son teknolojik gelişmeler, hayvan araştırmalarında protein değişikliklerini incelemeye büyük bir ilgi uyandırmaktadır. Proteomlarının profil tespiti, fizyolojik veya patolojik durumu karakterize etmek için güçlü bir araçtır (Chiaradia ve ark., 2012). Proteomik çalışmalar, gen fonksiyonunun etkilerini temsil eder ve karmaşık biyolojik süreçleri araştırmak için önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. Genellikle gen transkripsiyonu ve translasyonundan protein ekspresyonu olarak tanımlanan



proteinlerin geniş ölçekli olarak araştırılmasıdır. Bu teknoloji, potansiyel hastalık ve beslenme çalışmalarında da uygulanarak, protein yapısının çeşitliliğini ve bu çeşitlilik ile birlikte temelde olan biyolojik süreçler arasındaki ilişkiyi karakterize etmek için kullanılabilir (Chiaradia ve ark., 2012). Proteom farklılıkları belirlenerek hastalıklara spesifik proteinlerin belirlenmesi (Nedelkov ve ark., 2006), mikroorganizmalara ait çeşitli proteinlerin belirlenmesi (de Souza ve Wiker, 2011), konak ve mikroorganizma proteomlarının karşılıklı etkileşimleri belirlenerek (Munday ve ark., 2012) hastalıkların seyrinin takip edilmesine yönelik bilgi vermektedir. Proteomik analiz ile büyük ölçekli protein analizler gerçekleştirir. Analiz sayesinde bir hücrenin, dokunun ve/veya biyolojik sıvıların tüm protein profili ortaya çıkar (Mavromati ve ark., 2014). Son yıllarda yapılan proteomik yaklaşımlarla yapılan analizler insanlarda obezite veya diyabet gibi karmaşık metabolik hastalıkların altında yatan mekanizmaları ortaya çıkarmada büyük ölçüde kolaylık sağlamaktadır (Oberbach ve ark., 2011). İnsanlarda olduğu gibi bu teknolojiler hayvanlarda da kullanılmakla birlikte, veteriner hekimlikte, özellikle paraziter (Lan ve ark., 2021), bakteriyel (Wu ve ark., 2014) ve viral (Cui ve ark., 2020) hastalık durumlarında serum proteomları üzerine çalışmalar yapılmış olmasına rağmen, küçükbaş hayvan türlerinde proteomik çalışmalar oldukça sınırlı kalmaktadır (Chiaradia, ve ark., 2012; Mavromati ve ark., 2014). İneklerde *S. aureus* kaynaklı mastitisli meme bezi hücrelerinde (Silva ve ark., 2022), *E. coli* kaynaklı mastitisli sütte (Boehmer ve ark., 2008), subklinik ve klinik mastitisli ineklerin serum örneklerinde (Turk ve ark., 2012) proteomik analizler yapılmıştır. Koyunlarda *M. agalactiae* ile enfekte meme epitel hücrelerinde (Addis ve ark., 2011), lipopolisakkarit ile toksemi oluşturulan keçilerde (Olumee-Shabon ve ark., 2013) ve *S. aureus* kaynaklı mastitisli sütlerde proteomiks analizler yapılmıştır.

İnek mastitisinde biyobelirteçler olarak kullanılmaya imkan verebilecek transkriptomik ve proteomik bazı çalışmalar yapılmaktadır. Giagu ve ark., (2022) yaptıkları çalışmada, inekler üzerinde yapılan proteomik çalışmalar %78,8 ile ilk sırada yer almaktadır. Bunu %12,1 ile koyun, %9,1 keçi ve %6,1 ile manda çalışmaları takip etmektedir. Sığır mastisinde tespit edilen serum ***vitronectin*** proteinin mastitis teşhisinde kullanılabileceği belirtilmektedir (Turk ve ark., 2012). Dahası Maity vd. (2020) inek ve manda mastitisinde 1.479 farklı protein tespit etmiştir. Bu proteinlerden 128'i inek ve 163'ü manda sütlerinde tespit edilmiş ve hastalığın prognozu ile ilgili fikir verdiği belirtilmektedir. Ayrıca, transkriptomik yaklaşımlarla sütte tespit edilen bta-miR-1246 ve hsa-miR-424-5p seviyeleri, Enzootic sığır lökozu için biyolojik belirteçler olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (Tsukada ve ark., 2022). Keçilerde meme bezi involüsyonunda RNA lar tespit edilmiş ve bu bulgularla involüsyon sürecinde lncRNA'ların düzenleyici rolü olduğu vurgulanmaktadır (Xuan ve ark., 2022). Son zamanlarda koyunlarda yapılan çalışmada, koyun

meme dokusunda miRNA'lar tespit edilmiştir. Bu miRNA'ların ekspresyonlarında laktasyon dönemine göre farklı olduğu ifade edilmektedir (Wang ve ark., 2021).

## KAYNAKÇA

- Addis, M. F., Pisanu, S., Ghisaura, S., Pagnozzi, D., Marogna, G., Tanca, A., ... & Uzzau, S. (2011). Proteomics and pathway analyses of the milk fat globule in sheep naturally infected by *Mycoplasma agalactiae* provide indications of the in vivo response of the mammary epithelium to bacterial infection. *Infection and immunity*, 79(9), 3833-3845.
- An, X., Zhang, Y., Li, F., Wang, Z., Yang, S., & Cao, B. (2021). Whole transcriptome analysis: implication to estrous cycle regulation. *Biology*, 10(6), 464.
- Balhara, A. K., Gupta, M., Mohanty, A. K., Phulia, S. K., Sharma, R. K., Singh, S., & Singh, I. (2014). Changes in sera proteome in relation to day of pregnancy in early pregnant buffaloes. *Indian J Anim Sci*, 84(4), 400-409.
- Banliat, C., Mahé, C., Lavigne, R., Com, E., Pineau, C., Labas, V., ... & Saint-Dizier, M. (2022). Dynamic changes in the proteome of early bovine embryos developed in vivo. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 863700.
- Baştan A. (2002). İneklerde Meme Hastalıkları. Şahin Matbaası, Ankara.
- Bergonier, D., De Crémoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., & Berthelot, X. (2003). Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*, 34(5), 689-716.
- Berthelot, X., Lagriffoul, G., Concorde, D., Barillet, F., & Bergonier, D. (2006). Physiological and pathological thresholds of somatic cell counts in ewe milk. *Small Ruminant Research*, 62(1-2), 27-31.
- Boehmer, J. L., Bannerman, D. D., Shefcheck, K. E. V. I. N., & Ward, J. L. (2008). Proteomic analysis of differentially expressed proteins in bovine milk during experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Journal of Dairy Science*, 91(11), 4206-4218.
- Cai, M., He, H., Jia, X., Chen, S., Wang, J., Shi, Y., ... & Lai, S. (2018). Genome-wide microRNA profiling of bovine milk-derived exosomes infected with *Staphylococcus aureus*. *Cell Stress and Chaperones*, 23, 663-672.
- Caiment, F., Charlier, C., Hadfield, T., Cockett, N., Georges, M., & Baurain, D. (2010). Assessing the effect of the CLPG mutation on the microRNA catalog of skeletal muscle using high-throughput sequencing. *Genome Research*, 20(12), 1651-1662.

- Citti, C., & Blanchard, A. (2013). Mycoplasmas and their host: emerging and re-emerging minimal pathogens. *Trends in Microbiology*, 21(4), 196-203.
- Chen, T., Xi, Q. Y., Ye, R. S., Cheng, X., Qi, Q. E., Wang, S. B., ... & Zhang, Y. L. (2014). Exploration of microRNAs in porcine milk exosomes. *BMC Genomics*, 15(1), 1-19.
- Chiaradia, E., Avellini, L., Tartaglia, M., Gaiti, A., Just, I., Scoppetta, F., ... & Pich, A. (2012). Proteomic evaluation of sheep serum proteins. *BMC Veterinary Research*, 8(1), 1-13.
- Conington, J., Cao, G., Stott, A., & Bünger, L. (2008). Breeding for resistance to mastitis in United Kingdom sheep, a review and economic appraisal. *Veterinary Record*, 162(12), 369-376.
- Contreras, A., Sierra, D., Sánchez, A., Corrales, J. C., Marco, J. C., Paape, M. J., & Gonzalo, C. (2007). Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research*, 68(1-2), 145-153.
- Corrales J. C., Esnal, A., De la Fe, C., Sánchez, A., Assunção, P., Poveda, J. B., & Contreras, A. (2007). Contagious agalactia in small ruminants. *Small Ruminant Research*, 68(1-2), 154-166.
- Cremonesi, P., Capra, E., Turri, F., Lazzari, B., Chessa, S., Battelli, G., ... & Castiglioni, B. (2022). Effect of Diet Enriched With Hemp Seeds on Goat Milk Fatty Acids, Transcriptome, and miRNAs. *Frontiers in Animal Science*, 3, 909271.
- Cui, X., Wang, Y., Guan, R., Lu, M., Yuan, L., Xu, W., & Hu, S. (2020). Enhanced immune responses with serum proteomic analysis of hu sheep to foot-and-mouth disease vaccine emulsified in a vegetable oil adjuvant. *Vaccines*, 8(2), 180.
- De, A., Ali, M. A., Chutia, T., Onteru, S. K., Behera, P., Kalita, G., ... & Gali, J. M. (2019). Comparative serum proteome analysis reveals potential early pregnancy-specific protein biomarkers in pigs. *Reproduction, Fertility and Development*, 31(3), 613-631.
- De Olives, A. M., Díaz, J. R., Molina, M. P., & Peris, C. (2013). Quantification of milk yield and composition changes as affected by subclinical mastitis during the current lactation in sheep. *Journal of Dairy Science*, 96(12), 7698-7708.
- De Souza, G. A., & Wiker, H. G. (2011). A proteomic view of mycobacteria. *Proteomics*, 11(15), 3118-3127.
- Deng, L., Han, Y., Tang, C., Liao, Q., Li, Z. 2020. "Label-Free Mass Spectrometry-Based quantitative proteomics analysis of serum

- proteins during early pregnancy in jennies (*Equus asinus*)&quot;, *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 1-9.
- Deng, L., Li, Z., Tang, C., Han, Y., Zhang, L., & Liao, Q. (2022). Quantitative analysis of the serum proteome during early pregnancy in mares. *Animal Science Journal*, 93(1), e13727.
- Dingwell, R. T., Leslie, K. E., Schukken, Y. H., Sargeant, J. M., & Timms, L. L. (2003). Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. *The Canadian Veterinary Journal*, 44(5), 413.
- Dudek, K., Nicholas, R. A., Szacawa, E., & Bednarek, D. (2020). *Mycoplasma bovis* infections-Occurrence, diagnosis and control. *Pathogens*, 9(8), 640.
- Dysin, A. P., Barkova, O. Y., & Pozovnikova, M. V. (2021). The role of microRNAs in the mammary gland development, health, and function of cattle, goats, and sheep. *Non-coding RNA*, 7(4), 78.
- Galio, L., Droineau, S., Yeboah, P., Boudiaf, H., Bouet, S., Truchet, S., & Devinoy, E. (2013). MicroRNA in the ovine mammary gland during early pregnancy: spatial and temporal expression of miR-21, miR-205, and miR-200. *Physiological Genomics*, 45(4), 151-161.
- Gelasakis, A. I., Angelidis, A. S., Giannakou, R., Filioussis, G., Kalamaki, M. S., & Arsenos, G. (2016). Bacterial subclinical mastitis and its effect on milk yield in low-input dairy goat herds. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3698-3708.
- Giagu, A., Penati, M., Traini, S., Dore, S., & Addis, M. F. (2022). Milk proteins as mastitis markers in dairy ruminants-a systematic review. *Veterinary Research Communications*, 46(2), 329-351.
- Hitit, M., Özbek, M., Ayaz-Guner, S., Guner, H., Oztug, M., Bodu, M., ... & Kaya, A. (2021). Proteomic fertility markers in ram sperm. *Animal Reproduction Science*, 235, 106882.
- Hitit, M., & Kose, M. (2022). Expression of DNA methyltransferases (DNMTs) at mRNA level in ovine endometrium during estrus cycle and early pregnancy. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 38(3).
- Huntley, S. J., Cooper, S., Bradley, A. J., & Green, L. E. (2012). A cohort study of the associations between udder conformation, milk somatic cell count, and lamb weight in suckler ewes. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 5001-5010.
- Ioannidis, J., & Donadeu, F. X. (2016). Circulating miRNA signatures of early pregnancy in cattle. *BMC genomics*, 17(1), 1-12.

- Izumi, H., Kosaka, N., Shimizu, T., Sekine, K., Ochiya, T., & Takase, M. (2012). Bovine milk contains microRNA and messenger RNA that are stable under degradative conditions. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 4831-4841.
- Jensen, K., Günther, J., Talbot, R., Petzl, W., Zerbe, H., Schuberth, H. J., Glass, E. J. (2013). “Escherichia coli- and Staphylococcus aureus-induced mastitis differentially modulates transcriptional responses in neighboring uninfected bovine mammary gland quarters”, *BMC Genomics*, 14 (1), 1-19.
- Jin, W., Ibeagha-Awemu, E. M., Liang, G., Beaudoin, F., Zhao, X., Guan, L. L. (2014). “Transcriptome microRNA profiling of bovine mammary epithelial cells challenged with Escherichia coli or Staphylococcus aureus bacteria reveals pathogen-directed microRNA expression profiles”, *BMC Genomics*, 15 (1), 1-16.
- Kauf, A. C. W., Rosenbusch, R. F., Paape, M. J., & Bannerman, D. D. (2007). Innate immune response to intramammary Mycoplasma bovis infection. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3336-3348.
- Katsafadou, A. I., Tsangaris, G. T., Billinis, C., & Fthenakis, G. C. (2015). Use of proteomics in the study of microbial diseases of small ruminants. *Veterinary Microbiology*, 181(1-2), 27-33.
- Kiossis, E., Brozos, C. N., Petridou, E., & Boscos, C. (2007). Program for the control of subclinical mastitis in dairy Chios breed ewes during lactation. *Small Ruminant Research*, 73(1-3), 194-199.
- Kropp, J., & Khatib, H. (2015). Characterization of microRNA in bovine in vitro culture media associated with embryo quality and development. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6552-6563.
- Lan, Z., Liu, X. L., Lv, Q. B., Zeng, M. H., Gao, J. F., Chang, Q. C., ... & Wang, C. R. (2021). Proteomic Analysis of Fasciola hepatica Excretory and Secretory Products Co-Immunoprecipitated Using Time Course Infection Sera. *Pathogens*, 10(6), 749.
- Lawless, N., Foroushani, A. B., McCabe, M. S., O’Farrelly, C., & Lynn, D. J. (2013). Next generation sequencing reveals the expression of a unique miRNA profile in response to a gram-positive bacterial infection. *PloS One*, 8(3), e57543.
- Lee, J. E., Lee, J. Y., Kim, H. R., Shin, H. Y., Lin, T., & Jin, D. I. (2015). Proteomic analysis of bovine pregnancy-specific serum proteins by 2D fluorescence difference gel electrophoresis. *Asian-Australasian journal of Animal Sciences*, 28(6), 788.

- Leitner, G., Chaffer, M., Zamir, S., Mor, T., Glickman, A., Winkler, M., ... & Saran, A. (2001). Udder disease etiology, milk somatic cell counts and NAGase activity in Israeli Assaf sheep throughout lactation. *Small Ruminant Research*, 39(2), 107-112.
- Leslie, K. E., Jansen, J. T., & Lim, G. H. (2002, May). Opportunities and implications for improved on-farm cow-side diagnostics. In *Proc. De Laval Hygiene Symp* (Vol. 2002, pp. 147-160).
- Li, S., Wang, Q., Lin, X., Jin, X., Liu, L., Wang, C., ... & Liu, H. (2017). The use of “Omics” in lactation research in dairy cows. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(5), 983.
- Libera, K., Konieczny, K., Grabska, J., Smulski, S., Szczerbal, I., Szumacher-Strabel, M., & Pomorska-Mól, M. (2021). Potential novel biomarkers for mastitis diagnosis in sheep. *Animals*, 11(10), 2783.
- Long, J. A. (2020). The ‘omics’ revolution: Use of genomic, transcriptomic, proteomic and metabolomic tools to predict male reproductive traits that impact fertility in livestock and poultry. *Animal Reproduction Science*, 220, 106354.
- Mahmmod, Y. S., Toft, N., Katholm, J., Grønbaek, C., & Klaas, I. C. (2013). Bayesian estimation of test characteristics of real-time PCR, bacteriological culture and California mastitis test for diagnosis of intramammary infections with *Staphylococcus aureus* in dairy cattle at routine milk recordings. *Preventive Veterinary Medicine*, 112(3-4), 309-317.
- Maity, S., Das, D., & Ambatipudi, K. (2020). Quantitative alterations in bovine milk proteome from healthy, subclinical and clinical mastitis during *S. aureus* infection. *Journal of Proteomics*, 223, 103815.
- Marogna, G., Rolesu, S., Lollai, S., Tola, S., & Leori, G. (2010). Clinical findings in sheep farms affected by recurrent bacterial mastitis. *Small Ruminant Research*, 88(2-3), 119-125.
- Mavromati, J., Cash, P., Restelli, L., & Soler, L. (2014). Proteomics and protein analyses of ovine and caprine body fluids: current studies and future promises. *Current Protein and Peptide Science*, 15(1), 45-55.
- McBride, D., Carr, W., Sontakke, S. D., Hogg, C. O., Law, A., Donadeu, F. X., & Clinton, M. (2012). Identification of miRNAs associated with the follicular-luteal transition in the ruminant ovary. *Reproduction*, 144(2), 221.
- McDougall, S., Murdough, P., Pankey, W., Delaney, C., Barlow, J., & Scruton, D. (2001). Relationships among somatic cell count,

- California mastitis test, impedance and bacteriological status of milk in goats and sheep in early lactation. *Small Ruminant Research*, 40(3), 245-254.
- Mørk, T., Waage, S., Tollersrud, T., Kvitle, B., & Sviland, S. (2007). Clinical mastitis in ewes; bacteriology, epidemiology and clinical features. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49, 1-8.
- Munday, D. C., Surtees, R., Emmott, E., Dove, B. K., Digard, P., Barr, J. N., ... & Hiscox, J. A. (2012). Using SILAC and quantitative proteomics to investigate the interactions between viral and host proteomes. *Proteomics*, 12(4-5), 666-672.
- Nedelkov, D., Kiernan, U. A., Niederkofler, E. E., Tubbs, K. A., & Nelson, R. W. (2006). Population proteomics: the concept, attributes, and potential for cancer biomarker research. *Molecular & Cellular Proteomics*, 5(10), 1811-1818.
- Oberbach, A., Blüher, M., Wirth, H., Till, H., Kovacs, P., Kullnick, Y., ... & Bergen, M. V. (2011). Combined proteomic and metabolomic profiling of serum reveals association of the complement system with obesity and identifies novel markers of body fat mass changes. *Journal of Proteome Research*, 10(10), 4769-4788.
- Olechnowicz, J. A. N., & Jaśkowski, J. M. (2014). Mastitis in small ruminants. *Med. Weter*, 70(2), 67-72.
- Olumee-Shabon, Z., Swain, T., Smith, E. A., Tall, E., & Boehmer, J. L. (2013). Proteomic analysis of differentially expressed proteins in caprine milk during experimentally induced endotoxin mastitis. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2903-2912.
- Onni, T., Sanna, G., Larsen, J., & Tola, S. (2011). Antimicrobial susceptibilities and population structure of *Staphylococcus epidermidis* associated with ovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 148(1), 45-50.
- Ozenc, E., Seker, E., Baki Acar, D., Birdane, M. K., Darbaz, I., & Dogan, N. (2011). The Importance of *Staphylococci* and Threshold Value of Somatic Cell Count for Diagnosis of Sub-clinical Mastitis in Pirlak Sheep at Mid-lactation. *Reproduction in Domestic Animals*, 46(6), 970-974.
- Oyelami, F. O., Usman, T., Suravajhala, P., Ali, N., & Do, D. N. (2022). Emerging Roles of Noncoding RNAs in Bovine Mastitis Diseases. *Pathogens*, 11(9), 1009.



- Özbek, M., Hitit, M., Kaya, A., Jousan, F. D., & Memili, E. (2021). Sperm functional genome associated with bull fertility. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 610888.
- Özdemir, S. (2020). Identification and comparison of exosomal microRNAs in the milk and colostrum of two different cow breeds. *Gene*, 743, 144609.
- Pengov, A. (2001). The role of coagulase-negative Staphylococcus spp. and associated somatic cell counts in the ovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 84(3), 572-574.
- Roy, J. P., Du Tremblay, D., DesCôteaux, L., Messier, S., Scholl, D., & Bouchard, É. (2009). Evaluation of the California Mastitis Test as a precalving treatment selection tool for Holstein heifers. *Veterinary Microbiology*, 134(1-2), 136-142.
- Sánchez, J. M., Gómez-Redondo, I., Browne, J. A., Planells, B., Gutiérrez-Adán, A., & Lonergan, P. (2021). MicroRNAs in amniotic fluid and maternal blood plasma associated with sex determination and early gonad differentiation in cattle. *Biology of Reproduction*, 105(2), 345-358.
- Shahzad, K., Lopreiato, V., Liang, Y., Trevisi, E., Osorio, J. S., Xu, C., & Loor, J. J. (2019). Hepatic metabolomics and transcriptomics to study susceptibility to ketosis in response to prepartal nutritional management. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 10, 1-17.
- Silva, B. C., Aguilár, A. P., Dutra, L., Moon, K. M., Sébastien, A., Foster, L. J., ... & de Oliveira Barros Ribon, A. (2022). Proteomic Profiles of Staphylococcus aureus Strains Associated with Subclinical Bovine Mastitis. *Current Microbiology*, 79(4), 101.
- Smith, E. M., Willis, Z. N., Blakeley, M., Lovatt, F., Purdy, K. J., & Green, L. E. (2015). Bacterial species and their associations with acute and chronic mastitis in suckler ewes. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 7025-7033.
- Smolenski, G. A., Wieliczko, R. J., Pryor, S. M., Broadhurst, M. K., Wheeler, T. T., & Haigh, B. J. (2011). The abundance of milk cathelicidin proteins during bovine mastitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143(1-2), 125-130.
- Sordillo, L. M., & Streicher, K. L. (2002). Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Journal of mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7, 135-146.

- Sordillo, L. M. (2018). Mammary gland immunobiology and resistance to mastitis. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 34(3), 507-523.
- Souza, F. N., Blagitz, M. G., Penna, C. F. A. M., Della Libera, A. M. M. P., Heinemann, M. B., & Cerqueira, M. M. O. P. (2012). Somatic cell count in small ruminants: Friend or foe?. *Small Ruminant Research*, 107(2-3), 65-75.
- Sun, J., Aswath, K., Schroeder, S. G., Lippolis, J. D., Reinhardt, T. A., & Sonstegard, T. S. (2015). MicroRNA expression profiles of bovine milk exosomes in response to *Staphylococcus aureus* infection. *BMC Genomics*, 16(1), 1-10.
- Thomas, F. C., Waterston, M., Hastie, P., Parkin, T., Haining, H., & Eckersall, P. D. (2015). The major acute phase proteins of bovine milk in a commercial dairy herd. *BMC Veterinary Research*, 11, 1-10.
- Turk, R., Piras, C., Kovačić, M., Samardžija, M., Ahmed, H., De Canio, M., ... & Roncada, P. (2012). Proteomics of inflammatory and oxidative stress response in cows with subclinical and clinical mastitis. *Journal of Proteomics*, 75(14), 4412-4428.
- Tsukada, F., Takashima, S., Wakihara, Y., Kamatari, Y. O., Shimizu, K., Okada, A., & Inoshima, Y. (2022). Characterization of miRNAs in milk small extracellular vesicles from enzootic bovine leukosis cattle. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10782.
- Wang, X. P., Luoreng, Z. M., Zan, L. S., Raza, S. H. A., Li, F., Li, N., & Liu, S. (2016). Expression patterns of miR-146a and miR-146b in mastitis infected dairy cattle. *Molecular and Cellular Probes*, 30(5), 342-344.
- Wang, J., Hao, Z., Hu, J., Liu, X., Li, S., Wang, J., ... & Luo, Y. (2021). Small RNA deep sequencing reveals the expressions of microRNAs in ovine mammary gland development at peak-lactation and during the non-lactating period. *Genomics*, 113(1), 637-646.
- Wang, Y., Fang, J., Zeng, H. F., Zhong, J. F., Li, H. X., & Chen, K. L. (2022). Identification and bioinformatics analysis of differentially expressed milk exosomal microRNAs in milk exosomes of heat-stressed Holstein cows. *Functional & Integrative Genomics*, 1-11.
- Williamson, J., Callaway, T., Rollin, E., & Ryman, V. (2022). Association of milk somatic cell count with bacteriological cure of intramammary infection-a review. *Agriculture*, 12(9), 1437.
- Wu, Z., Sahin, O., Wang, F., & Zhang, Q. (2014). Proteomic identification of immunodominant membrane-related antigens in *Campylobacter jejuni* associated with sheep abortion. *Journal of Proteomics*, 99, 111-122.

- Valdés, A., Holst, B. S., Lindersson, S., & Ramström, M. (2019). Development of MS-based methods for identification and quantification of proteins altered during early pregnancy in dogs. *Journal of Proteomics*, 192, 223-232.
- Van den Crommenacker-Konings, L. W., van Dam, P., Everts, R., Shittu, A., Nielen, M., Lam, T. J., & Koop, G. (2021). Dynamics of intramammary infections in suckler ewes during early lactation. *Journal of Dairy Science*, 104(5), 5979-5987.
- Viguiet, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., & O'Kennedy, R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology*, 27(8), 486-493.
- Yağcı, P. (2008). Koyunlarda subklinik mastitis: Etiyoloji, epidemiyoloji ve tanı yöntemleri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(1).
- Xuan, R., Zhao, X., Li, Q., Zhao, Y., Wang, Y., Du, S., ... & Wang, J. (2022). Characterization of long noncoding RNA in nonlactating goat mammary glands reveals their regulatory role in mammary cell involution and remodeling. *International Journal of Biological Macromolecules*, 222, 2158-2175.
- Zhou, Q., Li, M., Wang, X., Li, Q., Wang, T., Zhu, Q., ... & Li, X. (2012). Immune-related microRNAs are abundant in breast milk exosomes. *International Journal of Biological Sciences*, 8(1), 118.

## BÖLÜM 6

### YENİ ADİPOKİN: VASPIN HORMONU

Dr. Öğr. Üyesi Serpil AYGÖRMEZ<sup>1</sup>

Prof. Dr. Şaban MARAŞLI<sup>2</sup>

Prof. Dr. Emine ATAKIŞI<sup>3</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408067>

<sup>1</sup>Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars, Türkiye. [serpilaygormez@hotmail.com](mailto:serpilaygormez@hotmail.com), Orcid ID: 0000-0002-5675-5096

<sup>2</sup>Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars, Türkiye. [sabanmarasli@gmail.com](mailto:sabanmarasli@gmail.com), Orcid ID: 0000-0003-0182-6712

<sup>3</sup>Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars, Türkiye. [et\\_tasci@hotmail.com](mailto:et_tasci@hotmail.com), Orcid ID: 0000-0002-5685-1870



## GİRİŞ

### 1. Vaspin Hormonu

Vaspin, ağırlıklı olarak visseral adipoz dokudan türetilen yeni tanımlanmış adipositokindir (Leal ve Mafra, 2013; MCGOWN ve ark., 2014; Saxena ve Anania, 2015; Wang ve ark., 2020). SRPINA12 olarak da adlandırılan vaspin, serin proteaz inhibitörüdür (Than ve ark., 2023). Vaspin ekspresyonunun adipoz doku ile sınırlı olmadığı deri, mide, hipotalamus, pankreatik adacıklarda da tespit edildiği bildirilmektedir (Blüher, 2014; Fasshauer ve Blüher, 2015). Vaspinin gen ve protein ekspresyonu kıkırdak, sinoviyum, menisküs, osteofit dahil olmak üzere eklem dokularında bulunmaktadır (Tu ve ark., 2018). Ayrıca epididimal, retroperitoneal, mezenterik ve subkutan abdominal adipoz dokudan izole edilen adipositlerde vaspin gen ekspresyonunun bulunduğu ileri sürülmektedir (Lago ve ark., 2009). Vaspin hormonu abdominal obezite, insülin direnci, dislipidemi ve hipertansiyon ile karakterize edilen tip II diyabetes mellitus (T2DM)'li bir hayvan modeli olan Otsuka Long-Evans Tokushima Yağlı (OLETF) sıçanların visseral beyaz adipoz dokusundan serin proteaz inhibitörü (serpin) ailesinin bir üyesi olarak tanımlanmaktadır (Brunetti ve ark., 2011; Kafalidis ve ark., 2013; MCGOWN ve ark., 2014; Fasshauer ve Blüher, 2015; Saxena ve Anania, 2015; Wang ve ark., 2020).

### 2. Yapısı

Vaspin uniprot kodu: Q8IW75, 47 kDa ağırlığında, 415 amino asit, 1245 nükleotid içeren bir adipositokindir (Raucci ve ark., 2013; Scotece ve ark., 2014; Fasshauer ve Blüher, 2015). Sıçan, fare ve insan damarlarında sırasıyla 392, 394 ve 395 amino asitten oluşup  $\alpha$ 1-antitripsin ile yaklaşık %40 homoloji göstermektedir (Hida ve ark., 2005).

### 3. Metabolik Etkileri

OLETF sıçanlarında vücut ağırlığı ve insülin seviyesi yüksek düzeye ulaştığında vaspin hormonu yüksek oranda eksprese edilmektedir. Vücut ağırlığı kaybı ve diyabetin kötüleşmesine paralel olarak vaspin düzeyi de azalmaktadır (Hida ve ark., 2005; Brunetti ve ark., 2011). Vaspinin serbest formda dolaşım veya proteinlere bağlı olup olmadığı henüz bilinmemektedir (Fasshauer ve Blüher, 2015). Serum vaspin düzeyi insanlarda obezite, bozulmuş insülin duyarlılığı ve T2DM ile ilişkili olmaktadır (Doğan, 2017). Obezitede ise hem çocuklarda hem de yetişkinlerde yüksek serum konsantrasyonları bulunmaktadır (Briana ve ark., 2011; Ebrahimi ve ark., 2018). OLETF sıçanlarında diyabetin kötüleşmesi ile azalan serum vaspin düzeyleri insülin veya pioglitazon ile tedavi edilmektedir (Hida ve ark., 2005; Lago ve ark., 2007; Youn ve ark., 2008; Klötting ve ark., 2011; Heiker ve ark., 2013). Pioglitazon ve insülin tedavisi, OLETF sıçanlarında 50 haftalıkken

plasebo tedavisi ile karşılaştırıldığında vaspin mesajcı ribonükleik asit (mRNA) düzeylerini önemli ölçüde artırmaktadır (Lago ve ark., 2009). İnsan vaspin mRNA ekspresyonunun yağ dokusuna spesifik olduğu ancak yağsız normal glukoz toleranslı bireylerde tespit edilmediği bildirilmektedir (Youn ve ark., 2008). Bu gözlemlerle tutarlı olarak insan adipoz dokusunda yüksek serum vaspin konsantrasyonlarının ve artmış SRPINA12 mRNA ekspresyonunun obezite, insülin direnci ve T2DM ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (Youn ve ark., 2008; Klöting ve ark., 2011; Heiker ve ark., 2013). T2DM’de azalan vaspin serum konsantrasyonları, vücut kitle indeksi (VKI) ve insülin duyarlılığı arasında anlamlı bir korelasyon bulunmaktadır. Ayrıca serum vaspin düzeyi zayıf kişilerde ve uzun süreli spor yapanlarda daha düşük olmaktadır. Fakat fiziksel bir antrenman programı ile ilişkili kilo kaybından sonra arttığı bildirilmiştir (Hida ve ark., 2005; Brunetti ve ark., 2011). Visseral adipoz doku adipositleri içindeki dolaşımdaki vaspin ve transkriptlerin seviyeleri, OLETF sıçanlarında 30 haftada obezite ve insülin plazma konsantrasyonlarının zirveye ulaştığı zaman mutant olmayan muadillerine kıyasla önemli ölçüde artmaktadır (Lago ve ark., 2009). Vaspin hormonunun obezite ve diyabet hastalığında tedavi edici bir adipokin olduğu ileri sürülmektedir. Obez farelere vaspin uygulaması insülin direncinin patogenezinde rol oynayan genlerin ekspresyonunu değiştirmektedir. Bu yüzden glukoz toleransı ve insülin duyarlılığını geliştirerek gıda alımını azaltmaktadır (Briana ve ark., 2011; Heiker ve ark., 2013; Kafalidis ve ark., 2013; Blüher, 2014; Scotece ve ark., 2014; Ebrahimi ve ark., 2018; Wang ve ark., 2020). Fizyolojik çalışmalar vaspinin insülin direnci, obezite ve inflamasyon gelişimi ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Scotece ve ark., 2014; Than ve ark., 2023). Vaspin hormonu obezite ve metabolik bozuklukların gelişiminde rol oynamaktadır (Lago ve ark., 2009). Vaspinin yüksek serum konsantrasyonları serum leptin konsantrasyonları ile ilişkili olmaktadır (Fasshauer ve Blüher, 2015). İnsanlarda serum vaspin konsantrasyonu leptin ve adiponektin gibi diğer adipokinlere benzer şekilde, cinsiyete bağlı olarak değişkenlik göstermekte ve kadınlarda erkek deneklere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Lago ve ark., 2009). Vaspin insanlarda daha az belirgin bir role sahiptir. Çünkü serum vaspin konsantrasyonlarının preprandiyal bir artış ve postprandiyal azalma ile sirkadiyen ritim göstermektedir. Diyabetik hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada serum vaspin düzeyi VKI’den ziyade insülin direnci için homeostatik değerlendirme skorları ile ilişkili olmaktadır. İnsan deri altı yağ dokusunda en güçlü vaspin mRNA ekspresyonu insülin duyarlılığı olduğunu göstermektedir (Klöting ve ark., 2011; MCGOWN ve ark., 2014). Vaspin hormonu, anti proteaz özelliklere sahip bir adipositokindir (Lago ve ark., 2009). Vaspin uygulamasının düşük gıda alımına yol açtığı ve farelerde kan glukozunu düşürücü etkisi bulunmaktadır. Proteaz inhibitörü özellikleri vaspin aksiyonu mekanizması olarak önerilmiş olmasına rağmen şimdiye

kadar vaspin proteaz hedefi henüz tanımlanmamıştır (Heiker ve ark., 2013; Leal ve Mafra, 2013). Vaspin, proteazları inhibe eden moleküllerin glukoz düşürücü etkilerin yanı sıra anti-orexigenic faktörleri inhibe ettiği ileri sürülmektedir. Vaspin, reaktif oksijen türleri oluşumunu ve daha sonra nükleer faktör kabba beta (NF-k $\beta$ )'nin aktivasyonunu önleyerek hücre içi adhezyon molekülünün tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) kaynaklı ekspresyonunun inhibisyonu ile ilişkili olmaktadır. Obez kişilerde, insülin direnciyle ilgili gelişmiş parametrelerle birlikte serum vaspinin azaldığı gösterilmektedir (Leal ve Mafra, 2013). Farklı fare modellerinin hem periferik hem de intraserebroventriküler vaspin tedavisinin kallikrein7 inhibisyonu ile açıklanabilen sürekli glukozun ve gıda alımının azalmasına yol açtığı bildirilmektedir (Blüher, 2014; Fasshauer ve Blüher, 2015). Kemirgen çalışmaları, obezitenin ve metabolik hastalıkların gelecekteki farmakolojik tedavisi olarak vaspini önermesine rağmen etki mekanizmasını tam olarak anlayabilmek için vaspinin daha ileri moleküler hedefleri tanımlanmalıdır (Blüher, 2014). Bu yararlı vaspin etkileri kallikrein7'yi bir hedef proteaz olarak inhibe etme kabiliyetine aracılık edebilmektedir (Heiker ve ark., 2013; Fasshauer ve Blüher, 2015). *In vitro* kallikrein7, A ve B zincirindeki insülini parçalayabilmekte ve bozabilmektedir. Vaspin kallikrein7'yi *in vitro* yüksek özgüllük ile klasik bir serpin mekanizması ile inhibe etmekte ve böylece dolaşımda azalan insülin bozulmasına katkıda bulunabilmektedir (Fasshauer ve Blüher, 2015). Ayrıca insan plazmasında vaspin-kallikrein7 kompleksleri tespit edilmekte ve her iki protein de murin pankreatik  $\beta$  hücrelerinde birlikte eksprese edilmektedir (Heiker ve ark., 2013; Fasshauer ve Blüher, 2015). Bu yüzden artmış glukoz metabolizması, vaspin tedavisi üzerine insülin plazma konsantrasyonlarının artmasına aracılık edebilmektedir (Fasshauer ve Blüher, 2015). Vaspin serpin fonksiyonunun fizyolojik etkileri için elzem olduğunu ve *in vivo* anti-diyabetik vaspin etkilerinin artmış insülin duyarlılığından kaynaklanmadığını kallikrein7 aracılı inhibe ederek insülin stabilize edici bir etkiye dayalı olduğunu ileri sürülmüştür. Bu nedenle sonuçların obezite ile ilişkili metabolik disfonksiyonda rapor edilen yararlı vaspin etkilerinin moleküler mekanizmasına dair bilgi vermektedir (Heiker ve ark., 2013). Vaspinin yukarı regülasyonunun, obezite ve metabolik bozuklukların gelişiminde nedensel veya koruyucu olup olmadığı bilinmese bile insülin direncine karşı bir savunma etkisine sahip olabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte dört haftalık yoğun fiziksel antrenman sonrasında görülen artmış vaspin konsantrasyonunun geçici bir adaptasyon mekanizmasını temsil edebileceğini obezitenin ve metabolik bozuklukların gelişiminde vaspinin nedensel bir rol oynayabileceğini veya en azından bir biyobelirteç olabileceğini öne sürülmüştür. Vaspinin,  $\alpha$ 1-antitripsin ile %40.5'lik bir yüzdelik bir kimliğe sahip olduğunu gösterilmektedir (Raucci ve ark., 2013). Vaspin bugüne kadar hepatik fibrozis ile bilinen doğrudan bir ilişkisi görülmemektedir. Son keşfi göz önüne alındığında, hepatik fibrozda veya



alkolsüz steatohepatit ile ilişkili hastalık progresyonunda vaspinin rolü ile ilgili tutarsızlıklar olduğu rapor edilmiştir. Vaspinin alkolsüz steatohepatit ile ilişkili fibrozisin tedavisinde yararlı olabilecek leptin ve TNF- $\alpha$  üretimini baskılamaktadır. Bununla birlikte, vaspinin hepatik fibroziste spesifik bir rolü olduğu veya alkolsüz steatohepatit patolojisine aracılık ettiği sonucuna varmak için henüz erken olduğu bildirilmektedir (Saxena ve Anania, 2015). Vaspinin, RAW264.7 hücre dizisinde NF- $\kappa$ B ligand kaynaklı osteoklastojenezi ve insan osteoblastlarında apoptozu azaltmaktadır. Romatizmal hastalıklar ile ilgili olarak romatoid artrit (RA) hastalarında serum vaspin konsantrasyonu artmaktadır. Ayrıca, RA hastalarında sinovyal sıvı vaspin düzeyleri osteoartrit (OA) hastalarına göre anlamlı olarak daha yüksek olmaktadır (Scotece ve ark., 2014). OA hastalarında serum vaspin düzeyi ve sinovyal sıvıdaki vaspin seviyeleri artmakta ancak aralarında fark gözlenmemektedir. Ayrıca serum veya sinovyal sıvı vaspin düzeyi yaş, cinsiyet veya VKI ile ilişkili olmamaktadır. Vaspin obezite ve inflamatuvar komplikasyonları ortadan kaldırmak için telafi edici bir aracı olarak önerilmektedir. OA hastalarında serum vaspin düzeyi sağlıklı kontrollerden belirgin şekilde daha düşük olmakta ve diğer adipokinlere kıyasla ters bir eğilim göstermektedir. Vaspinin kondrositlerde tedavisi ne katabolik ne de anabolik etkileri göstermektedir. Bununla birlikte, kondrositler üzerinde interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )'ye yanıt olarak vaspinin konsantrasyonda, IL-1 $\beta$  ile tetiklenen MMP-2/-9, ADAMTS-5, katepsin D, siklooksijenaz-2 (COX-2), prostaglandin E2 (PGE2) ve nitrik oksit sentaz (iNOS) üretimini doza bağımlı olarak bastırabilmekte ve dolaylı bir anti-katabolik, anti-inflamatuvar olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle vaspin kondrositlerde bir anti-katabolik ve anti-inflamatuvar etkiye sahip olabilmekte ve muhtemelen OA hastalarında potansiyel koruyucu bir adipokin olduğu ileri sürülmektedir (Tu ve ark., 2018). Yüksek yağ ve şeker ile beslenen obez C57BL/6J (C57BL/6J) farelerine vaspin verilmesi normalize edilmiş serum glukoz seviyelerinin yansıttığı glukoz toleransı ve insülin duyarlılığını arttırmaktadır. Aynı zamanda leptin, resistin, TNF- $\alpha$ , glukoz taşıyıcı 4 ve adiponektin gibi insülin direnci ile ilgili değişen gen ekspresyonunun tersine çevrilmesine yol açmaktadır. DNA çip analizlerinde vaspin tedavisi, beyaz adipoz dokularda yüksek yağlı, yüksek şeker kaynaklı genlerin yaklaşık %50'sinde ekspresyonun tersine çevrilmesiyle sonuçlanmaktadır. Bu bulgular, vaspinin obezite durumlarında beyaz adipoz dokulara yönelik bir insülin duyarlılaştırıcı etki gösterdiğine işaret etmektedir (Hida ve ark., 2005). Vaspin serbest yağ asitlerinin neden olduğu endotel hücrelerinin apoptozisini sınırlamaktadır. Anti-inflamatuvar etkiye sahiptir ve nitrik oksit seviyesini arttırmaktadır. iNOS ve dimetilarginin dimetilaminohidrolaz aktivitesinin yoğunlaşmasına neden olarak iNOS inhibitörünün asimetrik dimetilarginin ayrışmasını inhibe etmektedir. Vaspin seviyeleri adipoz doku içeriği ile orantılı olmakta ve iskemik kalp hastalığı olan hastalarda düşük olduğu bildirilmektedir (Sawicka

ve ark., 2016). Dolaşımdaki vaspinin obezite, insülin duyarlılığı ve glukoz metabolizması ile ilgili olup olmadığı bilinmemektedir. Bu nedenle, insan vaspin serum konsantrasyonlarının ölçümü için enzim bağlantılı immünosorbent analizi (ELISA) geliştirilmiştir. Vaspin ELISA kullanılarak çok çeşitli obezite, vücut yağ dağılımı, insülin duyarlılığı ve glukoz toleransı olan bireylerde dolaşımdaki vaspin düzeyi tespit edilmeye çalışılmaktadır (Youn ve ark., 2008). Vaspin serum seviyesi karaciğer yağlanmasıyla aynı sıra aminotransferaz konsantrasyonları ile doğrudan ilişkilendirilmiştir. Vaspin inflamatuvar süreçte yer almakta ve metabolik olaylarda rol oynamaktadır. Visseral adipoz dokuda en fazla ekspresyona sahip olan omentin-1'in karaciğer yağlanmasıyla bir belirleyicisi olduğu ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığında omentin-1 ve vaspin düzeyinin arttığı gözlenmektedir. Kilo kaybı ve enerji kısıtlaması histolojik intrahepatik yağ içeriği enzim konsantrasyonlarını azaltabilmekte ve adipokin düzeyini artırabilmektedir (Ebrahimi ve ark., 2018). İnsan plasentasında vaspin hormonu tespit edilmektedir. Bununla birlikte perinatal dönemde dolaşan omentin ve vaspin konsantrasyonları ile ilgili şu anda mevcut bilgi bulunmamaktadır (Briana ve ark., 2011). Korelasyon çalışmaları yeni tanıyan adipokinlerle yani omentin ve vaspin ile ilgili benzer ilişkileri tanımlamaya yönelik çalışmaların devam ettiğini bildirmektedir (Sperling ve ark., 2016).

## KAYNAKÇA

- Blüher, M. (2014). Adipokines–removing road blocks to obesity and diabetes therapy. *Mol Metab*, 3, 230-240.
- Briana, D.D., Boutsikou, M., Baka, S., Gourgiotis, D., Marmarinos, A., Liosi, S., Hassiakos, D., Malamitsi-Puchner, A. (2011). Omentin-1 and vaspin are present in the fetus and neonate, and perinatal concentrations are similar in normal and growth-restricted pregnancies. *Metab Clin Exp*, 60, 486-490.
- Brunetti, L., Di Nisio, C., Recinella, L., Chiavaroli, A., Leone, S., Ferrante, C., Orlando, G., Vacca, M. (2011). Effects of vaspin, chemerin and omentin-1 on feeding behavior and hypothalamic peptide gene expression in the rat. *Peptides*, 32, 1866-1871.
- Doğan, K., Ekin, M., Helvacioğlu, Ç., Yaşar, L. (2017). Can serum vaspin levels predict clomiphene resistance in infertile women with PCOS?. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 217, 6-11.
- Ebrahimi, S., Gargari, B.P., Izadi, A., Imani, B., Asjodi, F. (2018). The effects of Ramadan fasting on serum concentrations of vaspin and omentin-1 in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Integr Med*, 19, 110-114.
- Fasshauer, M., Blüher, M. (2015). Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci*, 36, 461-470.
- Heiker, J.T., Klötting, N., Kovacs, P., Kuettner, E.B., Sträter, N., Schultz, S., Kern, M., Stumvoll, M., Blüher, M., Sickinger, A.G.B. (2013). Vaspin inhibits kallikrein 7 by serpin mechanism. *Cell Mol Life Sci*, 70, 2569-2583.
- Hida, K., Wada, J., Eguchi, J., Zhang, H., Baba, M., Seida, A., Hashimoto, I., Okada, T., Yasuhara, A., Nakatsuka, A., Shikata, K., Hourai, S., Futami, J., Watanabe, E., Matsuki, Y., Hiramatsu, R., Akagi, S., Makino, H., Kanwar, Y.S. (2005). Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102, 10610-10615.
- Kafalidis, G., Boutsikou, T., Briana, D.D., Boutsikou, M., Marmarinos, A., Baka, S., Hassiakos, D., Gourgiotis, D., Malamitsi-Puchner, A. (2013). Adipokines vaspin and omentin-1 are up-regulated in large for gestational age infants at term. *Cytokine*, 62, 70-74.

- Klötting, N., Kovacs, P., Kern, M., Heiker, J.T., Fasshauer, M., Schön, M.R., Stumvoll, M., Beck-Sickinger, A.G., Blüher, M. (2011). Central vaspin administration acutely reduces food intake and has sustained blood glucose-lowering effects. *Diabetologia*, 54, 1819-1823.
- Lago, F., Dieguez, C., Gómez-Reino, J., Gualillo, O. (2007). The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev*, 18, 313-325.
- Lago, F., Gómez, R., Gómez-Reino, J.J., Dieguez, C., Gualillo, O. (2009). Adipokines as novel modulators of lipid metabolism. *Trends Biochem Sci*, 34, 500-510.
- Leal, V.O., Mafra, D. (2013). Adipokines in obesity. *Clin Chim Acta*, 419, 87-94.
- McGown, C., Birerdinc, A., Younossi, Z.M. (2014). Adipose tissue as an endocrine organ. *Clin Liver Dis*, 18, 41-58.
- Rauci, R., Rusolo, F., Sharma, A., Colonna, G., Castello, G., Costantini, S. (2013). Functional and structural features of adipokine family. *Cytokine*, 61, 1-14.
- Sawicka, M., Janowska, J., Chudek, J. (2016). Potential beneficial effect of some adipokines positively correlated with the adipose tissue content on the cardiovascular system. *Int J Cardiol*, 1, 581-589.
- Saxena, N.K., Anania, F.A. (2014). Adipocytokines and hepatic fibrosis. *Trends Endocrinol Metab*, 26, 153-161.
- Scotece, M., Conde, J., Vuolteenaho, K., Koskinen, A., López, V., Gómez-Reino, J., Lago, F., Moilanen, E., Gualillo, O. (2014). Adipokines as drug targets in joint and bone disease. *Drug Discov Today*, 19, 241-258.
- Sperling, M., Grzelak, T., Pelczyńska, M., Jasinska, P., Bogdanski, P., Papek-Musialik, D., Czyzewska, K. (2016). Concentrations of omentin and vaspin versus insulin resistance in obese individuals. *Biomed Pharmacother*, 83, 542-547.
- Than, W.H., Chan, G.C.K., Kwan, B.C.H., Lai, K.B., Chan, R.C.K., Teoh, J.Y.C., Ng, J.K.C., Fung, W.W.S., Chow, K.M., Cheng, P.M.S., Li, P.K.T., Szeto, C.C. (2023). Plasma vaspin levels and clinical outcome in incident peritoneal dialysis patients. *BMC Nephrol*, 24(1), 206.

- Tu, C., He, J., Wu, B., Wang, W., Li, Z. (2018). An extensive review regarding the adipokines in the pathogenesis and progression of osteoarthritis. *Cytokine*, 113, 1-12.
- Youn, B.S., Klöting, N., Kratzsch, J., Lee, N., Park, J.W., Song, E.S., Ruschke, K., Oberbach, A., Fasshauer, M., Stumvoll, M., Blüher, M. (2008). Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*, 57, 372-377.
- Wang, H., Chen, F., Li, J., Wang, Y., Jiang, C., Wang, Y., Zhang, M., Xu, J. (2020). Vaspin antagonizes high fat-induced bone loss in rats and promotes osteoblastic differentiation in primary rat osteoblasts through Smad-Runx2 signaling pathway. *Nutr Metab (Lond)*, 17, 9.

## BÖLÜM 7

### SÜTÇÜ SIĞIRLARDA GENOM BOYU İLİŞKİ ANALİZİ ÇALIŞMALARI

Ali Osman TURGUT<sup>1</sup>  
Davut KOCA<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408073>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye, E-posta: aosman.turgut@siirt.edu.tr, ORCID: 0000-0001-6863-0939

<sup>2</sup>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye, E-posta: davutkoca@yyu.edu.tr, ORCID: 0000-0002-7962-6959



## GİRİŞ

Genom boyu ilişki analizi çalışmaları (genome-wide association studies; GWAS), genom boyunca binlerce genetik varyasyonun ilgilenilen bir fenotiple olan ilişkisini inceleyen ve genotip-fenotip ilişkisini ortaya koyan bir moleküler yaklaşımdır. Bu yaklaşım, insanlarda ve hayvanlarda yürütülen genetik çalışmalarına yeni bir boyut ve ivme kazandırmıştır (Barsh ve ark., 2012; Tam ve ark., 2019).

GWAS çalışmaları ilk olarak insanlarda başlamıştır. Bu bağlamda genellikle hastalıklarla ilişkili genetik varyasyonların belirlenmesi noktasında önemli bir avantaj yakalamıştır. İnsanlarda başlayan bu çalışmalar daha sonra evcil memeli hayvanlara da tatbik edilmeye başlanmıştır. Özellikle DNA dizileme platformlarının gelişmesi ve yaygın kullanılmasıyla evcil hayvanlarda yürütülen GWAS çalışmalarının sayısı hızlı bir şekilde artmıştır. Özellikle 2005 yılından sonra geliştirilmeye başlanan tek nükleotid polimorfizmi (single nucleotide polymorphism; SNP) çipleri (veya array) sayesinde memeli hayvanlarda yürütülen GWAS çalışmaları önemli bir hız kazanmıştır. Günümüzde pek çok farklı hayvan türü için geliştirilmiş çok sayıda SNP çipi bulunmaktadır. Bu çiplerin yoğunluğu 3000 SNP'den başlayıp 777000 SNP'ye kadar değişmektedir (Eggen ve ark., 2012; Wiggans ve ark., 2017).

GWAS çalışmalarının en yaygın olarak yürütüldüğü çiftlik hayvanı türü sığır türüdür. Verim yönü olarak incelendiğinde ise daha çok süt sığırı yetiştiriciliğinde GWAS uygulamalarının yaygın olduğu görülmektedir. Bu bağlamda süt sığırı yetiştiriciliğinde başta ekonomik önemi olan süt verimi, süt kalitesi, fertilité, büyüme, reproduktif parametreler gibi kantitatif karakterler olmak üzere hatalık direnci ve ısı stresi gibi konularda da GWAS çalışmaları yürütülmektedir (Dikmen ve ark., 2015; Paiva ve ark., 2020; Mohammadi ve ark., 2020; Carthy ve ark., 2022; Heaton ve ark., 2022). Yapılan bu çalışmalarda verim özellikleri ile ilişkili SNP'ler ve aday genler belirlenerek verim özelliklerini etkileyen moleküler mekanizmalar ortaya konulmaya çalışılmaktadır. Bu kitap bölümünde süt sığırı yetiştiriciliğinde yürütülen GWAS çalışmaları özetlenmeye çalışılmıştır.



## 1. GWAS AŞAMALARI DENEY VE DİZAYNI

Klasik bir GWAS çalışması; DNA ve fenotipik bilginin toplanması, hayvanların SNP çipleri veya yeni nesil dizileme yöntemleriyle genotiplendirilmesi, SNP kalite kontrolü (SNP quality control; SNP QC), istatistiksel ilişki analizi (genotip-fenotip ilişki analizi) ve sonuçların değerlendirilmesi aşamalarından oluşmaktadır. İlişki analizi sonrasında ilgili SNP'ler genom veri tabanlarında incelenerek verim özelliği ile yüksek önem derecesinde ilişkili olduğu belirlenen SNP'lerin hangi kromozomal lokasyonda ve hangi gen üzerinde yer aldığı tespit edilerek ilgili kalitatif veya kantitatif özelliklerle ilişki aday genler belirlenebilmektedir (Uffelmann ve ark., 2021). Daha sonrada yolak analizleri ile ilgili genlerin birbirleriyle olan ilişkileri ve verim özelliği üzerine etkili moleküler mekanizma ortaya konulmaktadır (Paiva ve ark., 2020).

GWAS çalışmalarında ilişkili analizinde önem derecesi genom boyunda yapılan incelemeye nedeniyle klasik kabul gören p değeri 0.05, incelenen SNP sayısına bölünerek yeni bir istatistiksel önem derecesi belirlenmektedir. Bonferroni correction olarak isimlendirilen bu yaklaşım yürütülen GWAS çalışmalarının çoğunluğunda uygulanmaktadır (Han ve ark., 2009). Örneğin sütçü sığırlarda 50000 SNP'nin tek seferde analize tabi tutulduğu ele alınırsa düzeltilmiş p değeri =  $0.05/50000 = 0.000001$  olarak hesaplanabilir. Ancak düzeltilmiş p değeri hesaplanırken SNP QC aşamasını geçen SNP sayısı dikkate alınmaktadır (Mohammadi ve ark., 2020). GWAS çalışmalarında ilk ve en önemli aşamalardan biri analiz edilecek dosya formatlarının hazırlanmasıdır. Sütçü sığırlarda yaygın olarak kullanılan SNP çiplerinin çıktı dosyaları genellikle PLINK formatına dönüştürülmektedir. PLINK dosya formatı genotip ve fenotip bilgilerini belirli bir düzen içerisinde barındıran dosya formatıdır. Bu dosya formatları; SNP bilgisi, SNP'nin kromozomal lokasyonu, genotip bilgisi, birey bilgisi ve mevcut pedigr bilgileri ve fenotip bilgilerini içeren özel bir dosya formatıdır. PLINK dosyalarına, hastalıkla ilgili çalışmalarda genellikle ikili kodlama yapılırken (hasta=1, sağlıklı=2), kantitatif analizde direkt olarak elde edilen fenotipik veri girilmektedir (Purcell ve ark., 2007). Hastalıkla ilişkili yürütülen çalışmalar genellikle vaka-kontrol (case-control) çalışması şeklinde dizayn edilmektedir. İnsan klinik çalışmalarında genellikle 1:4 vaka kontrol oranı altın standart olarak kabul edilmektedir (Kang ve ark., 2009). Ancak yeterli örneklem büyüklüğünde 1:1 vaka kontrol oranının çalışmanın güvenilirliğini artırdığı belirtilmektedir (Moore ve ark., 2019). Kantitatif bir verim özelliği yönünden yapılacak analizde ise direkt olarak her birey için elde edilen fenotipik değer fenotip dosyasına işlenmektedir (Purcell, 2007). Sayının artması ile de güvenilirliğin artmaktadır. Ancak tabi ki bu durum yürütülen çalışmanın ekonomik yükünün artmasına da neden olmaktadır. Bu nedenle GWAS çalışmaların etkili ve uygun örneklem boyutunun belirlenmesi önemli bir husustur.

## 2. SÜTÇÜ SIĞIRLARDA GWAS ÇALIŞMALARI

Sütçü sığırlarda farklı verim özellikleri, ısı stresi ve kalıtsal hastalıklar ve hastalık direnci ile ilişkili genetik varyasyonların ve aday genlerin belirlenmesinde GWAS yaygın olarak kullanılmaktadır. Verim özellikleri bakımından değerlendirildiğinde farklı sütçü sığır ırkında süt verimi, süt kompozisyonu ve farklı reproduktif parametreler; kalıtsal hastalıklar yönünden değerlendirildiğinde intestinal atreziler ve çeşitli enfeksiyöz hastalıklarla ilişkili genetik varyasyonların belirlenmesinde GWAS uygulamasından yararlanılmaktadır.

### 2.1. Süt Verim Özellikleri

Sığırlarda süt verimi, hayvansal üretimin artırılması ve ekonomik kazanç getirisi noktasında önemli bir verim özelliğidir. Sütün miktarının yanısıra, kompozisyonun ve diğer kalite parametrelerinin de yüksek olması istenmektedir. Süt verim özellikleri genetik yapı ve çevresel faktörlerden önemli ölçüde etkilenmektedir. (Wiggans ve ark., 2017; Turgut ve ark., 2023; Koca ve ark., 2023b).

GWAS çalışmalarının en yaygın yürütüldüğü verim özelliği süt verim özelliğidir. Farklı sütçü sığır ırklarında yürütülen GWAS çalışmaları sayesinde süt verimini etkileyen çok sayıda genetik varyasyon ve aday gen belirlenmiştir. Bu bağlamda, EEF2K (eukaryotic elongation factor 2 kinase), KLHL1 (kelch like family member 1) (Yue ve ark., 2017), DGAT1 (diacylglycerol O-acyltransferase 1), PDE4B (phosphodiesterase 4B), ANO2 (anoctamin 2) (Kim ve ark., 2021), CPSF1 (Cleavage and polyadenylation specificity factor 1) (Nayeri ve ark., 2016) genlerinin süt verimi ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmektedir. Yapılan başka bir çalışmada ise kromozom 1, 2, 3, 4, 7, 10, 14, 21 ve 23 üzerinde yer alan toplam 46 SNP'nin süt verimini; kromozom 2, 4, 9 ve 22 üzerinde yer alan toplam 20 SNP'nin süt yağ oranını; kromozom 1, 4, 7, 9 10 ve 23 üzerinde bulunan 32 SNP'nin süt proteinini ve kromozom 6 ve 14 üzerindeki toplam 6 SNP'nin ise somatik hücre sayısını etkilediği bildirilmiştir (Silva ve ark., 2020). Mai ve ark., (2010) Danish Jersey ırkı sığırlarda yaptıkları çalışmada süt verimi, süt proteini ve süt yağı ile ilişkili çok sayıda SNP tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Nayeri ve ark., (2016) farklı otozomal kromozomlar üzerinde bulunan ve süt verimini etkileyen 173 SNP, süt yağını etkileyen 381 SNP süt proteinini etkileyen 32 SNP tespit etmişleridir. Ayrıca süt yağı ve proteinini etkileyen SNP'lerin büyük çoğunluğunun kromozom 5 (BTA5) ve kromozom 14 (BTA14) üzerinde bulunduğu belirlenmiştir. Sığırlarda yapılan diğer çalışmalarda da süt verim özellikleri ile ilişkili çok sayıda SNP'nin varlığı ortaya konulmuştur (Maxa ve ark., 2012; Paiva ve ark., 2020). Genel olarak incelendiğinde süt verim özelliklerini etkileyen gen bölgelerinin çoğunluğunun sığırlarda 14. Kromozom üzerinde olduğu görülmektedir.

## 2.2. Reprodüktif Verim Özellikleri

Sütçü sığırlarda reprodüktif verim özellikleri ekonomik kazancı etkileyen en önemli verim özelliklerindedir. Fertilite oranı, erken gelişmişlik, pubertas yaşı ve ilk buzağılama yaşı, gebelik oranı, doğum kolaylığı, buzağı doğum ağırlığı ve buzağı süten kesim yaşı önemli reprodüktif parametrelerdir. Ancak reprodüktif parametrelerde kalıtım derecesinin (heritability) genel olarak düşüktür olması bu özelliklerin iyileştirilmesindeki en önemli engellerin başında gelmektedir (Hawken ve ark., 2012). Bu bağlamda GWAS, reprodüktif verim özelliklerin etkileyen SNP'lerin tespit edilmesi ve reprodüktif parametrelerin iyileştirilmesi noktasında önemli avantajlar sunmaktadır. Sütçü sığırlarda reprodüktif parametreler üzerinde çok sayıda GWAS çalışması yürütülmektedir. Bu çalışmalar reprodüktif parametreler ile ilişkili fizyolojik yollar ve fertiliteyi etkileyen genetik varyasyonların ve aday genlerin belirlenmesine önemli katkılar sunmaktadır (Grigoletto ve ark., 2020).

Anti-Müllerian hormon (AMH) sığırlarda fertiliteyi etkileyen önemli indikatörlerden biridir. Sütçü sığırlarda AMH'nin antral folikül sayısı ve embryo kalitesi ile ilişki olduğu bildirilmektedir. Serum AMH düzeyleri sütçü sığırlarda bir fertilite markırı olarak kabul edilmektedir (Koca ve ark., 2023a). Yapılan GWAS çalışmaları sayesinde serum AMH düzeyini etkileyen bazı genomik bölgeler tespit edilmiştir (Gobikrushanth ve ark., 2018; Nawaz ve ark., 2018; Grigoletto ve ark., 2020). Holstein ırkı sığırlarda özellikle kromozom 11 üzerindeki çok sayıda SNP'nin serum AMH düzeyini etkilediği ortaya konulmuştur. AMH düzeyini etkileyen en önemli aday genin ise DENND1A olduğu tespit edilmiştir (Nawaz ve ark., 2018).

Bazı sütçü ırklarda dişi hayvanların seçimi genellikle dişi fertilite indeksi (DFİ) olarak isimlendirilen yöntemle gerçekleştirilmektedir. DFİ; inek ve düvelerde gebelik başına düşen tohumlama sayısı, servis periyodu, ilk ve son tohumlama arası süre ve gebelik oranı gibi parametrelere bakılarak hesaplanmaktadır. Höglund ve ark., (2015) Nordic Red Cattle ırkında yaptıkları çalışmada kromozom 6'da GPR125, kromozom 13'de ANKRD60, kromozom 15'de GRAMD1B ve kromozom 24'de ZNF521 genlerinin DFİ ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada Sahana ve ark., (2010) FTİ ile ilişki çok sayıda SNP belirlemişler ve bu SNP'lerin kromozom 1, 3, 5, 7, 9, 10, 13, 19, 20, 24 ve 29 üzerinde bulunduğunu belirlemişlerdir.

Sütçü sığırlarda progeni boğaların seçiminde kızların gebelik oranları önemli bir kriterdir. Bu bağlamda 2008 yılından bu yana suni tohumlama boğalarının seçiminde kızların gebelik oranları da değerlendirmeye alınmıştır. Yürütülen GWAS çalışmaları ile boğaların kızlarının gebelik oranlarını etkileyen çok sayıda genomik bölge belirlenmiştir. Peñagaricano ve ark., (2011) Holstein ırkı boğalarda yaptıkları çalışmada gebelik oranları ile ilişkili çok sayıda genomik bölgenin varlığını ortaya koymuşlar ve DYNC112, ZNF541, CACNA1H ve ROGDI genlerinin gebelik oranları ilişkili aday genler olduğunu tespit etmişlerdir.

Yürütülen diğer çalışmalarda da reproduktif parametrelerle ilişkili çok sayıda SNP ve aday gen belirlenmiştir. Mohammadi ve ark., (2020) sığırlarda yürüttükleri çalışmada damızlıkta kullanım yaşı, ilk buzağılama yaşı, buzağılama aralığı, gebelik süresi, gebelik oranı ve gebelik başına düşen tohumlama sayısı gibi reproduktif parametrelerle ilişkili olan çok sayıda yeni aday gen belirlemişlerdir. Bu bağlamda Holstein ırkı sığırlarda OSTN, DPP6, EphA5, CADPS2, Rfc1, ADGRB3, Myo3a, C10H14orf93, KIAA1217, RBPJL, SLC18A2, GARNL3, NCALD, ASPH, ASIC2, OR3A1, CHRNB4, CACNA2D2, DLGAP1, GRIN2A ve ME3 genlerinin reproduktif parametrelerle ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir.

### 2.3. Kalıtsal Hastalıklar

GWAS yaklaşımı kongenital hastalıkların belirlenmesi noktasında önemli avantaj sunmaktadır. Çoğunlukla kongenital hastalıkların ortaya çıkışına neden olan genetik faktörler bilinmemektedir. Klasik moleküler yaklaşımlarla kongenital hastalıkların ortaya çıkışına neden olan varyasyonların tespiti mümkün olmamaktadır. Bu bağlamda GWAS yaklaşımı ile hızlı ve tüm genom boyunca yürütülen çalışmalar kalıtsal hastalıklarla ilişkili genomik bölgelerin tespitine olanak tanımaktadır.

Intestinal atreziler sığırlarda sıklıkla şekillenen kongenital hastalıklardandır. Intestinal atrezi, bağırsak lümeninin doğuştan kapalı olması ile karakterize bir hastalıktır. Atrezi bağırsağın dudenomun, jejenum, ileum, kolon veya anüs kısımlarında meydana gelmekte ve fekal içeriğin dışarı çıkışına engel olmaktadır. Hastalıktan etkilenen buzağular genellikle bir hafta içerisinde ölmekte veya ötenazi edilmektedir. Ancak bu hastalık moleküler mekanizmasına yönelik bilgi birikimi sınırlıdır. Intestinal atrezilerin sebeplerine yönelik GWAS çalışmaları da sınırlı sayıdadır. Keane ve ark., (2023), yaptıkları çalışmada GWAS ile farklı intestinal atrezi alt tipleri ile ilişkili 18 genomik bölgede toplam 31 SNP tespit etmişlerdir. Bununla birlikte anne doğum sayısı ve yavru cinsiyetinin de intestinal atrezi oluşumu ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir. Jersey ırkında yürütülen bir başka çalışmada da intestinal atrezilerle ilişkili toplam 16 SNP belirlenmiş ve bu SNP'lerin

14'ünün kromozom 14, kalan 2 SNP'nin ise kromozom 26 üzerinde bulunduğu belirlenmiştir (Carthy ve ark., 2022).

Konjestif kalp yetmezliği sığırlarda görülen önemli kalıtsal hastalıklardandır. Hastalık genellikle cor pulmonalenin genişlemesiyle karakterizedir (Moxley ve ark., 2019). Bu hastalığının genetik kökenine ilişkin yürütülen GWAS çalışmaları, hastalıkla ilişkili genetik varyasyonların varlığını ortaya koymaktadır. Konu ile ilgili Heaton ve ark., (2022), yürüttükleri çalışmada, genlerinin konjestif kalp yetmezliği ile yüksek düzeyde ilişki gösteren SNP'lerin ARRDC3 ve NFIA genleri üzerinde bulunduğunu belirlemiştir.

Sığırlarda görülen önemli kalıtsal kusurlardan biri de ayak ve bacaklarda meydana gelen malformasyonlardır. Bu malformasyonlar hayvanların verim ve reproduktif özelliklerini etkileyerek ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu malformasyonun kalıtsal kökeni de kesin olarak bilinmemektedir. Ancak yapılan bir çalışmada ayak ve bacak malformasyonları ilişkili aday genler belirlenmiştir. De Lima Silva ve ark., (2023) yaptıkları çalışmada GWAS ile TG7, EXT1, ITGA1, PPARD, SCUBE3, and SHOX genlerindeki varyasyonların ayak ve bacak malformasyonları ilişkili olabileceğini ortaya koymuşlardır.

## 2.4. Isı Stresi

Isı stresi özellikle Holstein ırkı sığırlarda ciddi ekonomik kayıplara neden olabilen önemli bir durumdur. Genellikle tropikal bölgelerde yetiştirilen Zebular (Bos İndicus) Avrupa kökenli Bos Taurus türünün ırklarına göre ısı stresine daha dayanıklıdır. Isı stresine karşı tolerans aynı popülasyondaki hayvanlar arasında farklılık göstermektedir (Cheruiyot ve ark., 2021). Bu durum ısı stresine karşı bireyler arasındaki genetik varyasyonların etkisine işaret etmektedir (Cheruiyot ve ark., 2021; Dikmen ve ark., 2015). GWAS yaklaşımı bu noktada ısı stresine karşı tolerans ile ilişkili moleküler mekanizmanın daha iyi anlaşılması noktasında önemli bir fırsat sunmaktadır. Cheruiyot ve ark., (2021), Holstein ırkı sığırlarda yaptıkları çalışmada ısı stresine karşı toleransla ilişkili potansiyel 61 genomik bölgenin varlığını ortaya koymuşlardır. Yaptıkları analizde ısı stresine karşı toleransla ilişkili önemli aday genlerin sinir sistemi üzerine etkili olan TPR1, ITPR2, and GRIA4 NPFFR2, CALCR ve GHR olduğunu tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise Bohlouli ve ark., (2022) ısı stresi toleransı ile ilişkili toplam 38 potansiyel aday gen belirlemişler ve bu genlerden bazılarının AMFR, ADGRB1, DENND3, DUSP16, EFR3A, EMP1, ENSBTAG00000003838,

EPS8, MGP, PIK3C2G, STYK1, TMEM71, GSG1, SMARCE1, CCDC57 ve FASN olduğunu tespit etmişlerdir. Bu genlerin aynı zamanda yağ asidi sentezinde de rol oynadığını belirlemişlerdir. Dikmen ve ark., (2015) Holstein ırkı sığırlarda yaptıkları çalışmada PGR, ASL, ACAT2, HSD17B7, ARL6IP1 ve SERPINE2 genlerinin ısı stresine karşı termo regülasyonda etkili olabileceğini belirlemişlerdir.

### 3. SONUÇ

GWAS memelilerde fenotipik varyasyonlarla ilişkili genetik varyasyonların ve aday genlerin tespitine olanak tanıyan güncel bir yaklaşımdır. Bu yöntem sütçü sığırlarda da verim özellikleri başta olmak üzere verimi etkileyebilecek kalıtsal ve metabolik hastalıkların moleküler mekanizmasının daha iyi anlaşılması noktasında önemli avantajlar sunmaktadır. Bu bağlamda GWAS sütçü sığırlarda başta süt verimi olmak üzere, süt kompozisyonu, süt kalitesi, reproduktif parametreler, ısı stresi ve sebebi bilinmeyen çok sayıda hastalığın genetik kökeninin ortaya konulmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle yeni nesil dizileme yöntemlerinin kullanımının daha da yaygınlaşmasıyla GWAS yaklaşımının önümüzdeki yıllarda da gerek verim özelliklerinin iyileştirilmesi gerekse hastalıkların moleküler mekanizmasının daha iyi anlaşılmasına yönelik önemli katkılarının devam edeceği söylenebilir.

## KAYNAKÇA

- Barsh, G. S., Copenhaver, G. P., Gibson, G., & Williams, S. M. (2012). Guidelines for genome-wide association studies. *PLoS Genetics*, 8(7), e1002812.
- Bohlouli, M., Halli, K., Yin, T., Gengler, N., & König, S. (2022). Genome-wide associations for heat stress response suggest potential candidate genes underlying milk fatty acid composition in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 3323-3340.
- Carthy, T. R., Keane, O. M., Hanrahan, J. P., Matthews, D., McEwan, J., Rowe, S., & Mee, J. (2022). Investigation of intestinal atresia in a Jersey sire family. In *Proceedings of 12th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP) Technical and species orientated innovations in animal breeding, and contribution of genetics to solving societal challenges* (pp. 2810-2813). Wageningen Academic Publishers.
- Cheruiyot, E. K., Haile-Mariam, M., Cocks, B. G., MacLeod, I. M., Xiang, R., & Pryce, J. E. (2021). New loci and neuronal pathways for resilience to heat stress in cattle. *Scientific reports*, 11(1), 16619.
- de Lima Silva, T., Gondro, C., de Souza Fonseca, P. A., da Silva, D. A., Vargas, G., de Rezende Neves, H. H., ... & Carvalheiro, R. (2023). Feet and legs malformation in Nellore cattle: genetic analysis and prioritization of GWAS results. *Frontiers in Genetics*, 14, 1118308.
- Demir, E., Moravčíková, N., Kaya, S., Kasarda, R., Bilginer, Ü., Dođru, H., ... & Karşlı, T. (2023). Genome-wide screening for selection signatures in native and cosmopolitan cattle breeds reared in Türkiye. *Animal Genetics*, 54(6), 721-730.
- Dikmen, S., Wang, X. Z., Ortega, M. S., Cole, J. B., Null, D. J., & Hansen, P. J. (2015). Single nucleotide polymorphisms associated with thermoregulation in lactating dairy cows exposed to heat stress. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 132(6), 409-419.
- Eggen, A. (2012) The development and application of genomic selection as a new breeding paradigm, *Animal Frontiers*, 2, 10-15
- Gobikrushanth, M., Purfield, D. C., Colazo, M. G., Butler, S. T., Wang, Z., & Ambrose, D. J. (2018). The relationship between serum anti-Müllerian hormone concentrations and fertility, and genome-wide associations for anti-Müllerian hormone in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 101(8), 7563-7574.

- Grigoletto, L., Santana, M. H. A., Bressan, F. F., Eler, J. P., Nogueira, M. F. G., Kadarmideen, H. N., ... & Brito, L. F. (2020). Genetic parameters and genome-wide association studies for anti-müllerian hormone levels and antral follicle populations measured after estrus synchronization in Nellore cattle. *Animals*, *10*(7), 1185.
- Han, B., Kang, H. M., & Eskin, E. (2009). Rapid and accurate multiple testing correction and power estimation for millions of correlated markers. *PLoS genetics*, *5*(4), e1000456.
- Hawken, R. J., Zhang, Y. D., Fortes, M. R. S., Collis, E., Barris, W. C., Corbet, N. J., ... & Lehnert, S. A. (2012). Genome-wide association studies of female reproduction in tropically adapted beef cattle. *Journal of Animal Science*, *90*(5), 1398-1410.
- Heaton, M. P., Harhay, G. P., Bassett, A. S., Clark, H. J., Carlson, J. M., Jobman, E. E., ... & Vander Ley, B. L. (2022). Association of ARRDC3 and NFIA variants with bovine congestive heart failure in feedlot cattle. *F1000Research*, *11*, 385.
- Höglund, J. K., Buitenhuis, B., Gulbrandsen, B., Lund, M. S., & Sahana, G. (2015). Genome-wide association study for female fertility in Nordic Red cattle. *BMC Genetics*, *16*, 1-11.
- Kang, M. S., Choi, S. H., & Koh, I. S. (2009). The effect of increasing control-to-case ratio on statistical power in a simulated case-control SNP association study. *Genomics & Informatics*, *7*(3), 148-151.
- Kim, S., Lim, B., Cho, J., Lee, S., Dang, C. G., Jeon, J. H., ... & Lee, J. (2021). Genome-wide identification of candidate genes for milk production traits in Korean Holstein Cattle. *Animals*, *11*(5), 1392.
- Kim, S., Lim, B., Cho, J., Lee, S., Dang, C. G., Jeon, J. H., ... & Lee, J. (2021). Genome-wide identification of candidate genes for milk production traits in Korean Holstein Cattle. *Animals*, *11*(5), 1392.
- Koca, D., Nak, Y., Sendag, S., Nak, D., Avcılar, T., Sahin, M. E., ... & Wehrend, A. (2023a). Evaluation of serum anti-Müllerian hormone concentrations following treatment with vitamin D in Holstein Friesian heifers. *Reproduction in Domestic Animals*, *58*(12), 1695-1701.
- Koca, D., Turgut, A.O., Çetin, N., Üner, S., Gülendağ, E., & Karagülle, B. (2023b). Chemical Composition and Physical Properties of Milk in Norduz Sheep. *Van Veterinary Journal*, *34*(3), 271-274.



- Mai, M. D., Sahana, G., Christiansen, F. B., & Guldbbrandtsen, B. (2010). A genome-wide association study for milk production traits in Danish Jersey cattle using a 50K single nucleotide polymorphism chip. *Journal of Animal Science*, 88(11), 3522-3528.
- Mohammadi, A., Alijani, S., Rafat, S. A., & Abdollahi-Arpanahi, R. (2020). Genome-wide association study and pathway analysis for female fertility traits in Iranian Holstein cattle. *Annals of Animal Science*, 20(3), 825-851.
- Moore, C. M., Jacobson, S. A., & Fingerlin, T. E. (2020). Power and sample size calculations for genetic association studies in the presence of genetic model misspecification. *Human heredity*, 84(6), 256-271.
- Mrode, R., Ojango, J. M. K., Okeyo, A. M., & Mwacharo, J. M. (2019). Genomic selection and use of molecular tools in breeding programs for indigenous and crossbred cattle in developing countries: Current status and future prospects. *Frontiers in Genetics*, 9, 694.
- Nawaz, M. Y., Jimenez-Krassel, F., Steibel, J. P., Lu, Y., Baktula, A., Vukasinovic, N., ... & Tempelman, R. J. (2018). Genomic heritability and genome-wide association analysis of anti-Müllerian hormone in Holstein dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 101(9), 8063-8075.
- Nayeri, S., Sargolzaei, M., Abo-Ismael, M. K., May, N., Miller, S. P., Schenkel, F., ... & Stothard, P. (2016). Genome-wide association for milk production and female fertility traits in Canadian dairy Holstein cattle. *BMC Genetics*, 17(1), 1-11.
- Paiva, J. T., Peixoto, M. G. C. D., Bruneli, F. A. T., Alvarenga, A. B., Oliveira, H. R., Silva, A. A., ... & Lopes, P. S. (2020). Genetic parameters, genome-wide association and gene networks for milk and reproductive traits in Guzera cattle. *Livestock Science*, 242, 104273.
- Peñagaricano, F., Weigel, K. A., & Khatib, H. (2012). Genome-wide association study identifies candidate markers for bull fertility in Holstein dairy cattle. *Animal Genetics*, 43, 65-71.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., ... & Sham, P. C. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559-575.
- Sahana, G., Guldbbrandtsen, B., Bendixen, C., & Lund, M. S. (2010). Genome-wide association mapping for female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle. *Animal Genetics*, 41(6), 579-588.

- Silva, A. A., Silva, D. A., Silva, F. F., Costa, C. N., Silva, H. T., Lopes, P. S., ... & Carvalheira, J. (2020). GWAS and gene networks for milk-related traits from test-day multiple lactations in Portuguese Holstein cattle. *Journal of Applied Genetics*, 61(3), 465-476.
- Tam, V., Patel, N., Turcotte, M., Bossé, Y., Paré, G., & Meyre, D. (2019). Benefits and limitations of genome-wide association studies. *Nature Reviews Genetics*, 20(8), 467-484.
- Turgut, A.O., Gülendağ, E., Koca, D., & Üner, S. (2023). Milk Composition Traits of Hamdani Crossbreed Sheep Raised Under Extensive Management. *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 7(2), 271-279.
- Uffelmann, E., Huang, Q. Q., Munung, N. S., De Vries, J., Okada, Y., Martin, A. R., ... & Posthuma, D. (2021). Genome-wide association studies. *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1), 59.
- Wiggans, G.R., Cole, J.B., Hubbard, S.M., Sonstegard, T.S. (2016). Genomic Selection in DairyCattle: The USDA Experience. *Annual Review of Animal Biosciences*, 5, 309-327.



## BÖLÜM 8

### EVCİL HAYVANLARDA ANTI-MÜLLERİYAN HORMONUN KLİNİK KULLANIMI

Dr. Davut KOCA<sup>1</sup>  
Dr. Ali Osman TURGUT<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408079>

<sup>1</sup> Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye, e-posta: davutkoca@yyu.edu.tr, ORCID: 0000-0002-7962-6959

<sup>2</sup> Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye, e-posta: aosman.turgut@siirt.edu.tr, ORCID: 0000-0001-6863-0939



## GİRİŞ

Anti-Müllerian hormonunun (AMH) uzun bir geçmişi vardır, ancak varlığı 20. yüzyılın ortaların sonrasında tanımlanmıştır. Alfred Jost, 1953 yılında AMH'nin varlığını ilk kez tanıtan kişiydi. O dönemde bilim adamları, testis dokularının sadece erkek dış genital organlarının gelişiminden sorumlu kimyasal mesajcı olan testosteronu sentezlemekle kalmayıp aynı zamanda tavşan fetüslerinde Müllerian kanallarını geriletken bir kimyasal ürettiğini düşünüyordu (Jost, 1953). AMH daha sonra Picon tarafından karakterize edilmiştir (Picon, 1969) ve ardından sığır fetüs testis dokusu inkübasyon ortamlarından saflaştırmıştır (Picard and Josso, 1984). Geç fetal yaşamda, AMH, Müllerian kanalların hormona daha duyarlı olmadığı zamanlarda dişi kadın (Vigier ve ark., 1984), sığır (Takahashi ve ark., 1986) ve koyunlarda (Bézar ve ark., 1987) ovaryum granüloza hücreleri tarafından salgılanmaktadır (Josso, 1991; Teixeira ve ark., 2001). AMH, transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) ailesinin bir üyesidir ve aynı zamanda Müllerian inhibiting substance/factor (MIS) (Cate ve ark., 1986) olarak da adlandırılmaktadır. Glikoprotein yapıda olan AMH'nin moleküler ağırlığı 140 kDa'dır ve 553-575 amino asidi kapsamaktadır (Josso ve Di Clemente, 2003), yarı ömrü ise 1.5 gündür (Claes ve ark., 2013). AMH günümüzde evcil hayvanlarda klinik sahada oldukça yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Bu kitap bölümünde AMH ve AMH'nin klinik kullanımını hakkında bilgiler özetlenmeye çalışılmıştır.

## 1. SIĞIRLARDA GEBELİKTE AMH DÜZEYLERİ İLE FETAL CİNSİYET ARASINDAKİ İLİŞKİ

Kadınlarda AMH düzeylerine bağlı olarak gebelikte cinsiyet tayinin yapılabileceği rapor edilmektedir (Empey ve ark., 2012). Bunun temel hipotezi gebeliğin erken döneminde erkek fetüslerin gonadlarının daha erken oluştuğu ile ilgilidir (Vigier ve ark., 1981). Bu duruma benzer şekilde sığırlarda yürütülen bir çalışmada üç farklı deney grubu tasarlanıp anne, yavru ve plasental AMH ölçümleri yapılmıştır. Sonuç olarak, gebelik sürecinde, maternal AMH'nin ilk trimesterde foliküler gelişim sürecinin baskılanması nedeniyle düşmeye başladığı görülmektedir. Gebelik ilerledikçe, dişi fetüsleri taşıyan annelerde, erkek fetüsleri taşıyan annelere göre maternal AMH daha belirgin bir şekilde azalmaktadır. Benzer bir fark, fetal düzeyde de gözlemlenmektedir; dişi fetal AMH seviyeleri, erkek fetal AMH seviyelerine göre yaklaşık olarak 1000 kat daha düşük ve maternal AMH seviyelerine göre 10 kat daha düşüktür. Ayrıca, plasentanın AMH üretimine katkıda bulunmadığı görülmektedir. Bu sonuçlar gebeliğin 35-135.günlerinde erkek fetüsü taşıyan annelerin istatistiksel olarak daha yüksek AMH düzeylerine sahip olduklarını göstermektedir. (Stojsin-Carter ve ark., 2017).

## 2. DIŞI BUZAĞILARDA AMH VE TEKRARLANABİLİRLİK

Dişilerde Anti-Müllerian Hormon (AMH), preantral ve küçük antral foliküllerdeki granüloza hücreleri tarafından üretilir (Rico ve ark., 2011). Holstein dışı buzağılarda AMH seviyeleri, özellikle yaşamların ilk aylarında, prepubertal dönemde önemli dalgalanmalara uğrasa da, pubertas ve sonraki aylarda yetişkinlerde gözlemlenen seviyelere ulaşmakta ve istikrarlı bir seyir belirler (Mossa ve ark., 2017). Dikkat çekici bir nokta, sığırlarda AMH seviyelerinin östrus siklusu içerisinde minimal değişiklik göstermesidir. Birçok çalışma seksüel siklus içerisinde herhangi bir noktada alınan AMH ölçümleri ile aynı veya sonraki sikluslarda farklı günlerde toplanan ölçümler arasında güçlü bir korelasyon olduğunu ortaya koymaktadır (Mossa ve ark., 2017; Ireland ve ark., 2010; Pfeiffer et al., 2014; Souza et al., 2015, Koca ve ark., 2023). Bu bulgular, siklusun hangi günü olursa olsun AMH konsantrasyonlarını tek bir kan örneği ile değerlendirmenin güvenilirliğini vurgulamaktadır (Mossa ve Ireland, 2019).

## 3. SİĞİRLARDA PUBERTAS YAŞI VE AMH ARASINDAKİ İLİŞKİ

Reprodüktif performansı etkileyen en önemli faktörlerin başında pubertas yaşı yer almaktadır (Perry, 2016). Geç yaşta pubertasa ulaşan düvelerin işletmeye maliyetleri daha yüksek olduğu ifade edilmektedir (Wehrman ve ark., 1996). Daha geç yaşta pubertaya ulaşan düvelerin gebelik oranlarının daha düşük ve daha geç sürede gebe kalmakta ve sürü ömrünün kısa olduğu rapor edilmektedir (Batista ve ark., 2016; El-Sheikh ve ark., 2017, Tilbrook ve ark., 1992). Buna yönelik olarak Japanese Black ırkı düvelerde doğumdan itibaren pubertas ve sonrasında AMH düzeyleri belirli aralıklarla ölçülmüştür. Yapılan çalışmada pubertasa erken ve geç ulaşan hayvanların AMH seviyeleri göz önünde bulundurularak yapılan değerlendirmelerde geç pubertasa ulaşan hayvanların AMH düzeylerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada 16. haftada belirlenen AMH seviyelerinin postpubertal dönemde ölçülen AMH düzeyleri ile önemli düzeyde korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bilgilere dayanarak, AMH'nin erken dönemde pubertasa ulaşma yaşının belirlenmesinde yararlı bir parametre olabileceği öngörülmektedir (El-Sheikh ve ark., 2017).

## 4. SÜTÇÜ DÜVELERDE SÜRÜ VERİM ÖMRÜNÜ BELİRMEDE AMH

Düşük AMH seviyeleri olan sütçü düvelerin suboptimal fertilitete ve sürüden düşük reprodüktif performansına bağlı çıkarılma durumlarını test etmek için yapılan bir çalışmaya 11-15 aylık yaşta 281 Holstein sütçü düve katılmıştır. Bu hayvanların AMH düzeyleri ticari bir Human Elisa Kiti ile

değerlendirilerek düşük, orta ve yüksek olarak sınıflandırılmıştır. Yapılan analiz ve değerlendirmeler sonucunda düşük AMH düzeyine sahip sütçü düvelerin sürü verim ömrünün kısa, süt verimin ilk lastasyonda daha az olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, laktasyonlarının tümü göz önünde bulundurulduğunda gebelik oranlarının düşük ve ıskarta oranının ise istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tüm bu bilgiler ışığında, AMH'nin sürü verim ömrünü belirlemede kullanılabilecek bir belirteç olduğu belirtilmektedir (Jimenez-Krassel ve ark., 2015).

## 5. EMBRİYO TRANSFER ÇALIŞMALARINDA AMH

Embriyo transferi (ET), yüksek değerli buzağuların ve sığırların etkin bir şekilde üretilmesini sağlamak amacıyla kullanılan temel bir üreme tekniğidir. Bu, genetik potansiyeli üstün olan hayvanların donör olarak kullanmayı içerir. ET geçiren inek sayısında belirgin bir artış gözlemlenmiştir, bu da bu yöntemin hayvancılık endüstrisinde yaygın ve kullanılabilir bir uygulama haline geldiğini göstermektedir (Mapletoft ve ark., 2002; Sağırkaya, 2009). ET sürecinin önemli bir adımı olan süperovülasyon tedavisi, gonadotropinlerin uygulanmasını içerir. Ancak, hayvanlar arasında önemli bir değişkenlik bulunmaktadır (Mapletoft ve ark., 2002). Bu değişkenlik, süperovülasyon tedavisinin başlangıcındaki foliküler popülasyonundaki farklılıklardan kaynaklanır. Daha çok foliküler popülasyonlara sahip donörler, daha küçük popülasyonlara sahip olanlara kıyasla daha fazla transfer edilebilir embriyo elde etme eğilimindedir. Ayrıca, sığırlarda antral folikül sayısı ile fertilité parametreleri arasında pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Bu göstergeler, ovaryum fonksiyonu (Ireland ve ark., 2007; Ireland ve ark., 2009; Jimenez-Krassel ve ark., 2009), süperovülasyon yanıtları (Cushman ve ark., 1999; Kawamata, 1994; Singh ve ark., 2004), in vitro blastosist üretimi (Pontes ve ark., 2009; Taneja ve ark., 2000) gibi uygulamaları içermektedir.

Anti-Müllerian hormon (AMH), sağlıklı olarak büyüyen foliküllerde granüloza hücreleri tarafından üretilen glikoprotein yapıda bir hormondur (La Marca ve Volpe, 2006). Bu hormon, primordial foliküllerin antral foliküllere ilk geçişini denetlemede önemli bir rol oynar. Ayrıca, recruitment sırasında foliküllerin FSH'ya duyarlılığını azaltır (Gigli ve ark., 2005; Yang ve ark., 2017). Anti-Müllerian hormon (AMH) seviyeleri, donörlerin süperovülasyon protokollerine yanıtını tahmin etmek için yaygın olarak kullanılan bir göstergedir. Hem sığırlarda (Ireland ve ark., 2008; Ireland ve ark., 2010; Rico et al., 2011) hem de kadınlarda (Hehenkamp ve ark., 2006; La Marca ve Volpe, 2006), AMH konsantrasyonu siklus boyunca stabil kalır. Sığırlarda (Ireland ve ark., 2010; Mossa and Ireland 2019), kadınlarda (Peluso ve ark., 2014) ve farelerde (Kevenaar ve ark., 2006) AMH, ovaryumlardaki morfolojik olarak sağlıklı folikül sayısı olan yumurtalık rezervi ile pozitif bir



korelasyona sahiptir. Ayrıca, sığırlarda foliküler dalgalar sırasında gelişen antral folikül sayısı ile AMH arasında bir pozitif ilişki bulunmaktadır. Dolaşımdaki AMH seviyeleri daha yüksek olan sığırlar, yüksek antral folikül sayılarına ve dolayısıyla daha fazla ovaryum rezervlerine sahip olma eğilimindedir. Ayrıca, düşük AMH konsantrasyonlarına sahip yaşı uygun eşdeğerlerine kıyasla süperovülasyona daha olumlu yanıt verme eğilimindedirler (Jimenez-Krassel ve ark., 2015). Bu bulgular, hem kadınlar (Broer ve ark., 2011; La Marca ve ark., 2010) hem de sığırlar (Morotti ve ark., 2018; Mossa ve ark., 2017; Mossa ve Ireland 2019; Umer ve ark., 2019) üzerinde yapılan birçok çalışmanın, dolaşımdaki AMH seviyeleri ile süperovülasyona yanıt arasında pozitif bir korelasyon olduğunu belirtmektedir.

## **6. DIŞI KÖPEKLERDE YAVRU SAYISINI BELİRLEMEDE AMH'İN ROLÜ**

Farklı yaş ve ırklarda 155 köpeğin katıldığı bir çalışmada AMH düzeyleri, yaş ve yavru sayısına etkinliği değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada AMH düzeylerinin 2.9-21.1 ng/ml arasında değiştiği ticari Elisa kiti ile belirlenmiştir. Bununla birlikte köpek ırkı ve yaşının AMH düzeylerini etkilediği tespit edildi. Dört yaşından küçük dişi köpeklerin ortalama AMH konsantrasyonu 12.4 ng/ml iken, dört yaşından büyük dişi köpeklerde bu değer 10.5 ng/ml idi ( $p<0.05$ ). Artan her yaşa bağlı AMH düzeylerinin 0.5 ng/ml düştüğü gözlemlendi. Irka bağlı bulgular göz önüne alındığında yapılan çalışmada küçük ırkların dev ırklara kıyasla AMH düzeylerinin istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bulundu. Suni tohumlama yapılarak gebe bırakılan köpeklerde ırkların kendi içerisinde AMH düzeyi yüksek olanların daha fazla sayıda yavru doğurduğu belirlendi. Sonuç olarak yapılan bu çalışmada yaşa ve ırka bağlı AMH düzeylerinin değişebileceği ayrıca yaş ilerledikçe AMH düzeylerinin azaldığı gözlemlendi. Ayrıca, AMH düzeylerine bakarak yavru sayısını tahmin etmede bir indikatör olarak kullanılabilirliği öngörülmektedir (Hollinshead et al., 2017).

## **7. OVARYAN REMNANT SENDROMLU KÖPEKLERİN TANISINDA AMH'İN KULLANILABİLİRLİĞİ**

Ovaryan Remnant sendrom (ORS) kısırlaştırma operasyonunda bir ya da iki ovaryumun tamamen ya da kısmen bırakıp fonksiyonlarına devam etmesi olarak tanımlanabilmektedir (Turna Yilmaz et al., 2015). ORS'nin teşhisinde birkaç farklı yöntem kullanılabilir. Ancak, seksüel siklusun evresi testin güvenilirliğini etkileyebileceği ve bazen birden fazla kan örneği alınması gerektiği bilinmektedir (Walter, 2020). Bu bilgiler ve durumu yönelik ORS'nin AMH'nin etkinliği değerlendiren bir çalışmaya farklı ırk 46 dişi köpek katıldı. Bu köpeklerin seksüel durumları anamnez, klinik, laboratuvar muayeneleri ile teyit edilerek prepubertal, kısırlaştırılmamış,

kısırlaştırılmış ve ORS olarak dört grupta kategorize edilmiştir. AMH düzeyleri göz önüne alınarak yapılan değerlendirmede kısırlaştırılmamış ( $4.26 \pm 0.82$  ng/ml) ve ORS'li ( $4.40 \pm 1.09$  ng/ml) köpeklerin düzeylerinin birbirine benzer ancak kısırlaştırılmış köpeklerin ( $0.28 \pm 0.09$  ng/ml) AMH düzeylerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda AMH'nin ORS'li köpeklerin tanısında kullanılabileceği kanısına varılmıştır (Turna Yılmaz et al., 2015).

## **8. KISRACLARDA GRANULOZA HÜCRE TÜMÖRLERİN TANISINDA ENDOKRİN BELİRTEÇ OLARAK AMH'İN KULLANIMI**

Kısıraklarda ovaryum tümörlerinden granuloza hücre tümörü ile sık karşılaşmaktadır. Bu durum kısırakların hormonal bozukluklara bağlı olarak infertil olmasına yol açmaktadır. Bu hastalığın tedavisi için genellikle ovariectomi yapılmaktadır. Ancak, granuloza hücre tümörlerini diğer patolojiden ayırt etmek gereklidir. Bunun için daha önce yapılan çalışmalarda ultrasonografi, testosteron ve inhibin ölçümlerinden yararlanılmaktadır. Ancak bu yöntemlerin klinik tanı için sınırlı kullanımı olduğu bildirilmektedir (Claes ve ark., 2016; McCue ve ark., 2006; Sundberg ve ark., 1977). Buna yönelik olarak yapılan bir çalışmada AMH'nin kısırak granuloza hücre tümörlerin tanısında kullanılabilecek bir biobelirteç olduğu ve bu eşik değerinin  $4.70$  ng/mL olduğu sonucu elde edilmiştir (Murase ve ark., 2018).

## **SONUÇ**

AMH günümüzde evcil hayvanlarda klinik sahada oldukça yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Bu bağlamda, AMH ile ilgili olarak farklı hayvan türlerinde birçok çalışma yürütülmüştür. Çalışmalardan elde edilen veriler AMH'nin hastalık tanısı, damızlık hayvan seçimi ve daha birçok klinik hususta güvenilir bir biobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

## KAYNAKÇA

- Batista, E. O. S., Guerreiro, B. M., Freitas, B. G., Silva, J. C. B., Vieira, L. M., Ferreira, R. M., ... & Baruselli, P. S. (2016). Plasma anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for in vitro embryo production. *Domestic Animal Endocrinology*, 54, 1-9.
- Bezard, J., Vigier, B., Tran, D., Mauleon, P., & Josso, N. (1987). Immunocytochemical study of anti-Müllerian hormone in sheep ovarian follicles during fetal and post-natal development. *Reproduction*, 80(2), 509-516.
- Broer, S. L., Dólleman, M., Opmeer, B. C., Fauser, B. C., Mol, B. W., & Broekmans, F. J. M. (2011). AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 17(1), 46-54.
- Cate, R.L.; Mattaliano, R.J.; Hession, C.; Tizard, R.; Farber, N.M.; Cheung, A.; Ninfa, E.G.; Frey, A.Z.; Gash, D.J.; Chow, E.P. Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell*, 1986, 45, 685-698.
- Claes, A. N., & Ball, B. A. (2016). Biological functions and clinical applications of anti-Müllerian hormone in stallions and mares. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 32(3), 451-464.
- Claes, A., Ball, B. A., Almeida, J., Corbin, C. J., & Conley, A. J. (2013). Serum anti-Müllerian hormone concentrations in stallions: developmental changes, seasonal variation, and differences between intact stallions, cryptorchid stallions, and geldings. *Theriogenology*, 79(9), 1229-1235.
- Cushman, R. A., DeSouza, J. C., Hedgpeth, V. S., & Britt, J. H. (1999). Superovulatory response of one ovary is related to the micro-and macroscopic population of follicles in the contralateral ovary of the cow. *Biology of Reproduction*, 60(2), 349-354.
- El-Sheikh Ali, H., Kitahara, G., Takahashi, T., Mido, S., Sadawy, M., Kobayashi, I., ... & Osawa, T. (2017). Plasma anti-Müllerian hormone profile in heifers from birth through puberty and relationship with puberty onset. *Biology of Reproduction*, 97(1), 153-161.
- Empey, R., Santillan, D. A., Santillan, M., Tyler, E. M., Hunter, S. K., Smith, E. M., & Stegmann, B. J. (2012). The influence of fetal sex on

- patterns of change in anti-Müllerian hormone during pregnancy. *Proceedings in Obstetrics and Gynecology*, 2(3).
- Gigli, I., Cushman, R. A., Wahl, C. M., & Fortune, J. E. (2005). Evidence for a role for anti-Müllerian hormone in the suppression of follicle activation in mouse ovaries and bovine ovarian cortex grafted beneath the chick chorioallantoic membrane. *Molecular Reproduction and Development*, 71(4), 480-488.
- Hehenkamp, W. J., Looman, C. W., Themmen, A. P., de Jong, F. H., Te Velde, E. R., & Broekmans, F. J. (2006). Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(10), 4057-4063.
- Hollinshead, F. K., Walker, C., & Hanlon, D. W. (2017). Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size. *Reproduction in Domestic Animals*, 52, 35-40.
- Ireland, J. J., Smith, G. W., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Folger, J. K., Ireland, J. L. H., ... & Evans, A. C. O. (2010). Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 23(1), 1-14.
- Ireland, J. J., Ward, F., Jimenez-Krassel, F., Ireland, J. L. H., Smith, G. W., Lonergan, P., & Evans, A. C. O. (2007). Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. *Human Reproduction*, 22(6), 1687-1695.
- Ireland, J. J., Zielak-Steciwo, A. E., Jimenez-Krassel, F., Folger, J., Bettogowda, A., Scheetz, D., Walsh, S., Mossa, F., Kinght, P. G., Smith, G. W., Lonergan, P., & Evans, A. C. O. (2009). Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in cattle. *Biology of Reproduction*, 80(5), 954-964.
- Ireland, J. L. H., Scheetz, D., Jimenez-Krassel, F., Themmen, A. P. N., Ward, F., Lonergan, P., Swith, G. W., Perez, G. I., Evans, A. C. O., & Ireland, J. J. (2008). Antral follicle count reliably predicts number of

- morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of Reproduction*, 79(6), 1219–1225.
- Jimenez-Krassel, F., Folger, J. K., Ireland, J. L. H., Smith, G. W., Hou, X., Davis, J. S., ... & Ireland, J. J. (2009). Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. *Biology of Reproduction*, 80(6), 1272-1281.
- Jimenez-Krassel, F., Scheetz, D. M., Neuder, L. M., Ireland, J. L. H., Pursley, J. R., Smith, G. W., ... & Ireland, J. J. (2015). Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated with productive herd life. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 3036-3045.
- Josso, N. (1991). Remembrance of Dr. Alfred Jost. *Endocrinology*, 129(5), 2274-2276.
- Josso, N., & di Clemente, N. (2003). Transduction pathway of anti-Müllerian hormone, a sex-specific member of the TGF- $\beta$  family. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 14(2), 91-97.
- Jost, A. (1953). Problems of fetal endocrinology: the gonadal and nypophyseal hormones. *Recent Progr Hormone Res*, 8, 379-418.
- Kawamata, M. (1994). Relationships between the number of small follicles prior to superovulatory treatment and superovulatory response in Holstein cows. *Journal of Veterinary Medical Science*, 56(5), 965-967.
- Kevenaar, M. E., Meerasahib, M. F., Kramer, P., van de Lang-Born, B. M., de Jong, F. H., Groome, N. P., ... & Visser, J. A. (2006). Serum anti-müllerian hormone levels reflect the size of the primordial follicle pool in mice. *Endocrinology*, 147(7), 3228-3234.
- Koca, D., Nak, Y., Sendag, S., Nak, D., Avcılar, T., Sahin, M. E., ... & Wehrend, A. (2023). Evaluation of serum anti-Müllerian hormone concentrations following treatment with vitamin D in Holstein Friesian heifers. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(12), 1695-1701.
- La Marca, A., & Volpe, A. (2006). Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clinical Endocrinology*, 64(6), 603-610.
- La Marca, A., Sighinolfi, G., Radi, D., Argento, C., Baraldi, E., Artenisio, A. C., ... & Volpe, A. (2010). Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update*, 16(2), 113-130.

- Mapletoft, R. J., Steward, K. B., & Adams, G. P. (2002). Recent advances in the superovulation in cattle. *Reproduction Nutrition Development*, 42(6), 601-611.
- McCue PM, Roser JF, Munro CJ, Liu IK, Lasley BL. (2006). Granulosa cell tumors of the equine ovary. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 22, 799-817.
- Morotti, F., Barreiros, T. R. R., Machado, F. Z., González, S. M., Marinho, L. S. R., & Seneda, M. M. (2018). Is the number of antral follicles an interesting selection criterium for fertility in cattle? *Animal Reproduction (AR)*, 12(3), 479-486.
- Mossa, F., & Ireland, J. J. (2019). Physiology and endocrinology symposium: Anti-Müllerian hormone: A biomarker for the ovarian reserve, ovarian function, and fertility in dairy cows. *Journal of Animal Science*, 97(4), 1446-1455.
- Mossa, F., Jimenez-Krassel, F., Scheetz, D., Weber-Nielsen, M., Evans, A. C. O., & Ireland, J. J. (2017). Anti-Müllerian Hormone (AMH) and fertility management in agricultural species. *Reproduction*, 154(1), 1-31.
- Murase, H., Ball, B. A., Tangyuenyong, S., Watanabe, G., Sato, F., Hada, T., & Nambo, Y. (2018). Serum anti-Müllerian hormone concentrations in mares with granulosa cell tumors versus other ovarian abnormalities. *Journal of Equine Veterinary Science*, 60, 6-10.
- Peluso, C., Fonseca, F. L. A., Rodart, I. F., Cavalcanti, V., Gastaldo, G., Christofolini, D. M., ... & Bianco, B. (2014). AMH: An ovarian reserve biomarker in assisted reproduction. *Clinica Chimica Acta*, 437, 175-182.
- Perry, G. A. (2016). Factors affecting puberty in replacement beef heifers. *Theriogenology*, 86(1), 373-378.
- Pfeiffer, K. E., Jury, L. J., & Larson, J. E. (2014). Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domestic Animal Endocrinology*, 46, 58-64.
- Picard, J. Y., & Josso, N. (1984). Purification of testicular anti-Müllerian hormone allowing direct visualization of the pure glycoprotein and determination of yield and purification factor. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 34(1), 23-29.
- Picon, R. (1969). Action of the fetal testis on the development in vitro of the Müllerian ducts in the rat. *Archives d'Anatomie Microscopique et de Morphologie Expérimentale*, 58(1), 1-19.

- Pontes, J. H. F., Nonato-Junior, I., Sanches, B. V., Ereno-Junior, J. C., Uvo, S., Barreiros, T. R. R., ... & Seneda, M. M. (2009). Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. *Theriogenology*, 71(4), 690-697.
- Rico, C., Médigue, C., Fabre, S., Jarrier, P., Bontoux, M., Clément, F., & Monniaux, D. (2011). Regulation of anti-Müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biology of Reproduction*, 84(3), 560-571.
- Sağırkaya, H. (2009). Sığırlarda embriyo transfer uygulaması ve Türkiye açısından önemi. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 28(2), 11-20.
- Singh, J., Domínguez, M., Jaiswal, R., & Adams, G. P. (2004). A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle. *Theriogenology*, 62(1-2), 227-243.
- Souza, A. H., Carvalho, P. D., Rozner, A. E., Vieira, L. M., Hackbart, K. S., Bender, R. W., ... & Wiltbank, M. C. (2015). Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(1), 169-178.
- Stojšin-Carter, A., Costa, N. N., De Morais, R., Tiago, H., Costa, M. P., Carter, T. F., ... & King, W. A. (2017). Fetal sex alters maternal anti-Müllerian hormone during pregnancy in cattle. *Animal Reproduction Science*, 186, 85-92.
- Sundberg, J. P., Burnstein, T., Page, E. H., Kirkham, W. W., & Robinson, F. R. (1977). Neoplasms of equidae. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 170(2), 150-152.
- Takahashi, M., Hayashi, M., Manganaro, T. F., & Donahoe, P. K. (1986). The ontogeny of mullerian inhibiting substance in granulosa cells of the bovine ovarian follicle. *Biology of Reproduction*, 35(2), 447-453.
- Taneja, M., Bols, P. E., de Velde, A. V., Ju, J. C., Schreiber, D., Tripp, M. W., ... & Yang, X. (2000). Developmental competence of juvenile calf oocytes in vitro and in vivo: influence of donor animal variation and repeated gonadotropin stimulation. *Biology of Reproduction*, 62(1), 206-213.

- Teixeira, J., Maheswaran, S., & Donahoe, P. K. (2001). Mullerian inhibiting substance: an instructive developmental hormone with diagnostic and possible therapeutic applications. *Endocrine Reviews*, 22(5), 657-674.
- Tilbrook, A. J., De Kretser, D. M., & Clarke, I. J. (1992). A role for inhibin in the regulation of the secretion of follicle stimulating hormone in male domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology*, 9(4), 243-260.
- Turna Yilmaz, Ö., Toydemir, T. S. F., Kirsan, I., Gunay Ucmak, Z., & Caliskan Karacam, E. (2015). Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool for ovarian remnant syndrome in bitches. *Veterinary Research Communications*, 39, 159-162.
- Umer, S., Zhao, S. J., Sammad, A., Weldegebriall Sahlu, B., Pang, Y., & Zhu, H. (2019). AMH: Could it be used as a biomarker for fertility and superovulation in domestic animals? *Genes*, 10(12), 1009.
- Vigier, B., PICARD, J. Y., TRAN, D., LEGEAI, L., & JOSSO, N. (1984). Production of anti-Müllerian hormone: another homology between Sertoli and granulosa cells. *Endocrinology*, 114(4), 1315-1320.
- Vigier, B., Picard, J. Y., Bézard, J., & Josso, N. (1981). Anti-Müllerian hormone: a local or long-distance morphogenetic factor?. *Human Genetics*, 58, 85-90.
- Walter, B. (2020). Anti-Müllerian hormone in dogs and cats reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*, 55, 26-31.
- Wehrman, M. E., Kojima, F. N., Sanchez, T., Mariscal, D. V., & Kinder, J. E. (1996). Incidence of precocious puberty in developing beef heifers. *Journal of Animal Science*, 74(10), 2462-2467.
- Yang, M. Y., Cushman, R. A., & Fortune, J. E. (2017). Anti-Müllerian hormone inhibits activation and growth of bovine ovarian follicles in vitro and is localized to growing follicles. *MHR: Basic Science of Reproductive Medicine*, 23(5), 282-291.





## BÖLÜM 9

### NEONATAL SEPTİSEMİLİ BUZAĞILARDA İMMÜNOTERAPİ

Dr. Vedat BALDAZ<sup>1</sup>

Prof. Dr. Tekin ŞAHİN<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408086>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye, vedatbaldaz@siirt.edu.tr, ORCID: 0000-0001-6799-1716

<sup>2</sup>Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Siirt, Türkiye, tsahin@siirt.edu.tr, ORCID: 0000-0002-1164-3429



## GİRİŞ

Buzağılarda neonatal dönem, fizyolojik fonksiyonların gelişiminde, hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin değişkenliğinde önemli bir aşamayı kapsamaktadır. Bu aşama, buzağının vücut sisteminin, ekstra-uterin ortama adaptasyon için gerekli değişiklikleri yapması gereken adaptif bir dönem olarak bilinir (Kozat, 2019; Piccione ve ark., 2010). Yenidoğanlar, intra-uterin ortama kıyasla metabolik olarak farklı koşullara maruz kaldıkları için neonatal hastalıklara karşı daha duyarlıdır ve yüksek ölüm riskiyle karşı karşıyadır (Kozat, 2018). Buzağı yetiştirmenin ana hedefi, sağlıklı buzağılar elde ederek hedeflenen sürü büyüklüğünü karşılamaktır. Bu bağlamda, buzağı ölümlerinin azaltılması ve günlük canlı ağırlığının artırılması temel başarı kriterleridir (Kozat, 2019; Sherwin ve ark., 2016).

Neonatal dönemdeki buzağılar üzerine yapılan araştırmalarda, hematolojik, biyokimyasal, asit-baz dengesi ve koagülasyon profilindeki değişikliklerin incelenerek neonatal hastalıkların tanı ve tedavisi üzerine önemli bilgiler elde edilmiştir. Bu dönemdeki buzağılarda vücut sıcaklığı, kalp ve solunum hızları gibi fizyolojik referans değerlerin takip edilmesi büyük önem taşır. Ayrıca, doğumun ilk haftasında yapılan biyokimyasal parametre değerlendirmeleri, total protein, kolesterol, trigliserid, glukoz gibi parametrelerin yanı sıra bir dizi diğer bileşenin düzeyini içermektedir. Bu araştırmaların amacı, buzağuların sağlık durumunu değerlendirerek hastalıkların önlenmesine yönelik stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlamaktır (Johnson ve ark., 2007; Kozat, 2019; Piccione ve ark., 2010).

Neonatal dönemdeki hastalıkların, yüksek tedavi maliyetleri, düşük hayvan performansı ve buzağı ölümleri gibi olumsuz etkileri nedeniyle hem ekonomik hem de hayvan refahı açısından büyük bir önemi vardır. Buzağı yetiştiriciliğinin temel amaçları olan sağlık, performans, yedek düve üretimi ve karlılık hedeflerine ulaşabilmek için neonatal dönemde hastalıkların önlenmesi ve erken tanı ile tedavi oranlarının artırılması, bu sektördeki aktörlerin ekonomik karlılığına önemli ölçüde katkıda bulunacaktır (Grunberg, 2012; Lorenz ve ark., 2011; Topal, 2018).

Neonatal dönemdeki buzağılarda, septisemi, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp., *Rotavirus*, *Coronavirus* ve *Cryptosporidiosis* ishalleri gibi solunum yolu enfeksiyonları ile birlikte ruminal drinking, abomasum timpanisi gibi sorunlar sıklıkla görülmektedir. Diğer geviş getiren hayvanlarda olduğu gibi, yeni doğan buzağuların yaşları ne kadar küçükse, hastalıkların görülme sıklığı da o kadar yüksek olmaktadır. Buzağılarda özellikle ilk 30 gün septisemi ve ishalin en sık gözlemlendiği ve mortalitenin en yüksek olduğu dönem olarak bilinmektedir (Batmaz, 2012; McQuirk, 2008; Topal, 2018). Bu dönemdeki buzağılarda karşılaşılan bir diğer önemli sorun ise pasif transfer yetmezliğidir (PTY). Ruminantların plasentaları

epiteliokoryal olduğundan, buzağılar yeni doğduklarında immunglobulin (Ig) alımı minimum düzeydedir. Bu nedenle kolostrumun mümkün olan en kısa sürede alınması gerekmektedir. PTY olan buzağılar, bulaşıcı hastalıklara karşı yeterince korunamadıkları için daha duyarlı olabilir ve bu durum ölüm oranlarını artırabilir (Gökçe ve Erdoğan, 2013; Lorenz ve ark., 2011; McGuirk ve Collins, 2004; Topal, 2018).

## 1. NEONATAL SEPTİSEMİ

Neonatal septisemi, yaklaşık olarak bir asrı aşkın bir süredir bilinmekte olup, geleneksel olarak PTY ile birlikte özellikle 2 haftalıktan küçük buzağılar üzerinde etkinliği olan bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Bu hastalık, yüksek morbidite ve mortalite oranlarına neden olduğu için dünya genelinde ve ülkemizde sığır yetiştiriciliğinin önemli sorunlarından biri olarak öne çıkmaktadır. Enfeksiyona bağlı ölüm oranları küçük aile sığırcılığında %10-15 arasında, sürü sağlığını hedefleyen programların tam anlamıyla uygulandığı işletmelerde ise %1-8 arasında değişmektedir. Bu buzağı ölümleri işletme açısından önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Septisemi veya koliseptisemi, yeni doğan buzağılarda doğumdan sonraki ilk 10 gün içinde en önemli hastalık ve ölüm nedeni olarak kabul edilmektedir. Bu hastalığa kısa sürede müdahale edilmediği takdirde hızlı ilerlemesi ve ölümcül olma potansiyeli gittikçe artacaktır (Aldridge ve ark., 1993; Constable, 2004; Çitil ve Gökçe, 2013; Fecteau ve ark., 2009; Gay ve Besser, 1994).

Neonatal septisemi, bakteriyemi, ve sepsis ifadeleri, yeni doğanların polisistemik enfeksiyonlarını tanımlamakta ve her bir terimin birbirinden bazı küçük farklılıkları bulunmaktadır. Bakteriyemi, hastanın kanında bir bakterinin laboratuvar kültürü yöntemleriyle tespit edilmesini ifade eder. Öte yandan, septisemi terimi, patojen bakterilerin sistemik dolaşıma akut olarak girmesi ve toksinlerinin ortaya çıkması sonucunda vücudun çeşitli sistemlerinde veya organlarında sepsis veya septik şok oluşturan lokalizasyon olarak tanımlanır. Bu terim, tek bir bakteri ile sınırlı olmayan tüm mikroorganizmaları içerir. Sepsis ise bir enfeksiyon ve sistemik inflamatuvar yanıtın birleşimi olarak tanımlanır ve PTY en yaygın nedenlerden biridir. Bu terminolojik ayrıntılar, neonatal septisemi olgularının daha iyi anlaşılmasını ve etkili tedavi stratejilerinin belirlenmesini sağlamaktadır (Constable, 2004; Çitil ve Gökçe, 2013; Fecteau ve ark., 2009; Fecteau, Van Metre, ve ark., 1997; House ve ark., 2017).

### 1.1. Etiyoloji

Hastalığın etiyojisinin tam olarak aydınlatılamamış olması ve kontrolünün eksik olması, buzağı septisemisinin hala önemli bir sağlık sorunu olarak varlığını sürdürmesine neden olmaktadır. *E. coli*, *Klebsiella*, *Salmonella* ve diğer gram negatif bakteriler, hastalığın etiyojisinde en sık

rol alan mikroorganizmalar olarak öne çıkmaktadır (Aldridge ve ark., 1993; Constable, 2004; Fecteau, Van Metre, ve ark., 1997; Ünver ve ark., 2005). Buzağı septisemisi, özellikle kolostral antikor transferinin yetersiz olduğu durumlarda daha sık görülmektedir. Yenidoğan hastalıklarına zemin hazırlayan başlıca faktörler arasında yetersiz kolostrum tüketimi, düşük Ig konsantrasyonu ve yenidoğan buzağılarda spesifik bağışıklık sistemlerinin bulunmaması yer almaktadır (Besser ve Gay, 1994; Erdoğan ve ark., 2009; McGuire ve Adams, 1982; Todd ve Whyte, 1995). Morbidite ve mortalitenin karmaşık etiyojisi, yetersiz kolostrum alımı, patojenlere maruz kalma, hijyen eksikliği ve uygun beslenme desteğinin sağlanamaması gibi faktörlere dayanmaktadır. Bu bağlamda, birçok araştırmacı, laktojenik bağışıklığın buzağı sağlığı üzerinde önemli bir etkisi olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle, buzağı septisemisinin kontrolü için kolostrum alımının artırılması, hijyen standartlarının iyileştirilmesi ve uygun beslenme stratejilerinin benimsenmesi önemlidir (Çitil ve Gökçe, 2013; Lundborg, 2004; Rea ve ark., 1996; Tyler ve ark., 1999).

**Tablo.** Neonatal buzağılarda meydana gelen ishallerin yaygın nedenleri (Şahal ve ark., 2018).

<b>Etkenler</b>	<b>Görülme zamanları</b>
<i>E. coli</i>	<4 gün
<i>Salmonella</i> spp.	5-10 gün
<i>Clostridium perfringens</i>	<14 gün
<i>Rotavirus</i>	4-21 gün
<i>Coronavirus</i>	4-21 gün
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5-21gün
<i>Eimeria</i> spp.	>21 gün
Nutrisyonel nedenler	her zaman

*E. coli*, uzun süredir sığırlarda yeni doğan septisemisinin ana nedeni olarak kabul edilmekte ve klinik olarak "koliseptisemi" terimi kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bir dizi araştırma *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Listeria monocytogenes*, *Pasturella* spp., *Streptococcus* spp., *Leptospira* spp ve *Actinobacillus* türleri dahil olmak üzere diğer bakterilerin de hastalıkta rol oynayabileceğini göstermiştir. Gram negatif (-), sporsuz, hareketli, çubuk şeklindeki *E. coli*'nin spesifik serotipleri K-99 ve K-101 tipik olarak hastalığın birincil nedenidir. Bu bakteriler hastalığa neden olan endotoksin ve enterotoksin olarak bilinen önemli iki toksini vücuda salmaktadırlar (Çitil ve Gökçe, 2013; House ve ark., 2017).

Neonatal buzağı ishaline yol açan viral etkenler arasında *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Parvovirus*, *Calicivirus*, *Torovirus*, *Reovirus* ve *Astrovirus* bulunmaktadır. Ancak *Rotavirus* ve *Coronavirus*, yüksek morbidite rakamlarına ve salgınlara neden olarak öne çıkar ve bir ayılıktan küçük buzağılarda en yaygın patojenler arasında yer alır (Deng ve ark., 2003; Karakuş, 2021). Rotavirüs enfeksiyonu, büyüme gecikmesi, zayıf buzağuların doğumu ve yüksek ölüm oranları gibi ekonomik kayıplara yol açabilir. Araştırmalar, bazı sürülerde neonatal buzağuların %50'ye varan oranlarda ishalden etkilendiğini göstermiştir (Garcia-Sanchez ve ark., 1993). *Coronavirus* ve *Rotavirus* enfeksiyonları genellikle genç hayvanlarda görülürken, yeni doğanlar genellikle yaşamın ilk haftalarında enfeksiyonlara karşı daha duyarlıdır (Alkan, 1998; Lu ve ark., 1991).

Sığırlarda gebeliğin son aylarında, özellikle kuru dönemde annenin yetersiz beslenmesi, neonatal buzağuların sağlığını doğrudan etkileyebilir. Kuru dönem beslenmesinde yeterli özen gösterilmemesi, düşük kilolu, cılız, hatta doğuştan anormal veya hastalıklı yavruların doğmasına yol açabilir ve bu durum, buzağuların enfeksiyonlara karşı bağışıklığını zayıflatarak hastalıklara duyarlılığını artırabilir (Çitil ve Gökçe, 2013).

Annenin sağlığı ve beslenmesi, gebelik sürecinde önemli bir dizi faktörü içermektedir. Bu faktörler arasında, gebeliğin son üç ayında annenin dengesiz veya yetersiz beslenmesi öne çıkmaktadır. Ayrıca, kuruda kalma süresinin kısa olması veya hiç kuruya bırakılmaması da dikkat çeken bir etkidir (en az 8 hafta). Gebelik dönemindeki beslenmenin kalitesiz oluşu, vitamin ve mineral bakımından yetersiz beslenme, gebeliğin üçüncü trimester döneminde ortaya çıkan kalitatif ve kantitatif açlık durumu, yeşil yemin yetersiz tüketimi, doğumun yaklaştığı son dönemlerde annenin başka bir yere nakledilmesi gibi durumlar da sağlık üzerinde olumsuz etkiler doğurabilir. Güç doğumlar ve doğum sırasında hijyenik kurallara uyulmaması da bu faktörler arasında yer almakta olup, ayrıca, anada postpartum dönemde meydana gelen özellikle metabolik sorunlar, mastitis, metritis gibi hastalıklar da yeni doğan buzağılarda, önemli sağlık sorunlarına yol açabilir. Bu nedenle, gebelik sürecinde annenin dengeli ve yeterli beslenmesi, kuruda kalma süresinin uygun şekilde planlanması, hijyen kurallarına titizlikle uyulması ve postpartum dönemde annenin sağlığının yakından takip edilmesi, sığır yetiştiriciliğinde sağlıklı bir üreme ve hayvan refahının sürdürülebilirliği için kritik öneme sahiptir (Bilal, 2007; Fecteau ve ark., 2009).

Yeni doğan buzağılarda göbek kordonunun kesilmesi ve bağlanması sırasında asepsi ve antisepsi de dahil olmak üzere doğum sırasında ve doğum sonrası dönemde uygun sağlık önlemleri alınmazsa buzağının bağışıklık sistemi zayıfladığı için enfeksiyon riski artabilir. Ayrıca güç doğum, ağız ve dil lezyonları, mastitis gibi nedenlerle buzağının ememesi ve uygun zamanda yeterli ve kaliteli kolostrum alamaması nedeniyle sağlık sorunları ortaya

çıkabilir. Yavrunun sağlığına zarar verebilecek diğer faktörler arasında yeni doğanların olumsuz çevre koşullarına karşı yetişkinlerden daha savunmasız olması, embriyonik dönemde kanda aşırı metabolit birikimi olması ve güç bir doğumun sonucu olarak buzağının doğum kanalında daha uzun süre geçirmesi sayılabilir (Gül, 2016; Radostits ve ark., 2006).

Çevresel etkenler, ahır hayvancılığında önemli bir rol oynamakta olup, bu bağlamda; doğum bokslarının ve ahır hijyeninin yetersizliği, ahır içinde farklı yaş gruplarındaki hayvanların ve buzağuların aynı alanda barındırılması, barınakların aşırı kalabalık olması gibi faktörler dikkate alınmalıdır. Ahırların yetersiz havalandırılması, güneş ışığından yoksun olmaları ve buzağuların cereyana maruz kalması da çevresel şartların olumsuz etkilerini artırabilir. Ayrıca, bakım ve beslenme uygulamalarındaki yetersizlikler, bilinçsizce yapılan besleme yöntemleri ve sık bakıcı değişimleri gibi unsurlar, hayvan sağlığı açısından ciddi sorunlara neden olabilir. Ekşimiş, çürümüş veya çok soğuk süt kullanılması buzağuların yeterli kolostrum alamama, kolostrumdaki antikor miktarının yetersizliği, kolostrumdaki antikorların yeni nakledilen ahır florasıyla uyumsuzluğu ve enfeksiyon öncesinde kolostral pasif bağışıklık sağlanamaması, yenidoğanlara kolostrum yerine süt veya süt ikamelerinin verilmesi de çevresel etkenlerin doğrudan bir sonucu olarak değerlendirilebilir (Çitil ve Gökçe, 2013; Fecteau ve ark., 2009; Güneş ve ark., 2004; Ünver ve ark., 2005).

## 1.2. Patogenez

Hastalık solunum, sindirim ve omfalogen yolla bulaşmaktadır. Ancak nadiren de olsa intrauterin yolla da bulaşma meydana gelebilmektedir. Bulaşmada rol oynayan esas faktör hasta hayvanların dışkısı kabul edilmektedir. Ancak kontamine yemlikler, kontamine hayvan altlıkları, enfekte olmuş annenin sütü de hastalığın bulaşmasında rol oynamaktadır (Hofmann, 1992; Radostits ve ark., 2006). Yeterli şekilde beslenememe, stres ve kötü çevre koşullarına bağlı olarak hayvanların bağışıklık sisteminin zayıflaması etkenlerin kana karışarak septisemi tablosu oluşmasına neden olabilir. *E. coli* çoğunlukla ince bağırsakta bulunduğundan, enterotoksinleri bağırsaklardaki sıvı-elektrolit dengesini değiştirir, bu da bağırsakların asit-baz dengesini bozarak ishal ve dehidrasyona neden olur (House ve ark., 2017).

Hastalığın gelişiminde üç temel faktör belirleyici rol oynar. Birincisi, konakçı duyarlılığı, hastalığa karşı bireyin genetik yatkınlığını belirler. İkincisi, barsak lümenindeki fiziksel, kimyasal ve hijyenik koşullar ile mikroorganizmaların varlığı, hastalığın seyrini etkiler. Son olarak, hastalık etkenlerinin farklı serotipleri, hastalık belirtileri ve şiddeti üzerinde etkili olabilir. Bu faktörlerin etkileşimi, hastalığın karmaşıklığını şekillendirir (Çitil ve Gökçe, 2013).



*E. coli* doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Enfeksiyon, hayvanın bağıışıklık düzeyi, etkenin özellikleri, suşların dokuları istila etme yeteneği, enterotoksin salgılama ve septisemiye neden olma yetenekleri ve diğer çevresel faktörler gibi hastalığa yatkınlık yaratan koşullar altında meydana gelir (Fecteau ve ark., 2009; House ve ark., 2017; Radostits ve ark., 2006).

### 1.3. Klinik Semptomlar

Yaygın olarak 1-7 günlük neonatal buzağılarda görülmektedir. Klinik semptomlar hastalığın şiddetine göre değişkenlik göstermektedir. İlerleme hızlıdır ve çoğu zaman ölümcüldür. Hastalığın çok erken dönemlerinde klinik bulgular gözlenememektedir. Emme yeteneğinin zayıf olması veya emzirmeye karşı ilgisiz olması erken dönemde görülen nonspesifik bir klinik bulgudur. Anormal rektal sıcaklık (ateş veya hipotermi) gözlenebilmektedir. Genellikle sepsis, şok, şiddetli ishal ve dehidrasyon da görülen diğer klinik bulgulardır (Aldridge ve ark., 1993; Fecteau ve ark., 2009; Gay ve Besser, 1994).

Hastalık, şiddetli depresyon, taşikardi, taşipne, letarji ve anoreksi ile karakterizedir. Vücut ısısında hafif bir artış ve rumende şişkinlik ve ağrı belirtileri vardır. Hayvan hastalık belirtilerini göstermesinden belli bir süre sonra sürekli yatma isteği göstermektedir. Hastalık hızla gelişen endotoksik şok ve şoka eşlik eden ishal ile karakterizedir ve yeni doğan yavruarda yüksek ölüm oranlarına neden olur (Aldridge ve ark., 1993; Fecteau, Pare, ve ark., 1997; Gay ve Besser, 1994).

Septisemiden kaynaklanan menenjit veya meningoensefalit, hastalığın perakut evresinde hayvanda merkezi sinir sistemi sorunları, opisthotonus, ataksi, tonik konvülsiyonlar ve midriyazise neden olur. Ölüm genellikle 6-24 saat içinde gerçekleşir. Yenidoğanlarda septiseminin yaygın göstergeleri arasında uyuşukluk, depresyon, emme refleksinin azalması veya tamamen kaybolması, dehidrasyon, ateş veya hipotermi, mukozalarda hiperemi, peteşi, şiddetli ishal, menenjit, pnömoni, eklemlerde veya göbekte şişme, buzağılarda şiddetli ishal ve akut ölümler yer alır (Çitil ve Gökçe, 2013; Fecteau ve ark., 2009; House ve ark., 2017).

### 1.4. Tanı

Teşhis klinik, laboratuvar ve patolojik bulgulara dayanmaktadır. Etiyolojik teşhis, ölen hayvanlardan alınan kan, dışkı ve bağırsak içeriğinden etkenin izole edilmesiyle yapılır. Neonatal buzağılar iki klinik gruba ayrılabilir. Biri septisemi ile uyumlu klinik bulgu gösterenler diğeri ise klinik bulguları olmayan ancak öyküye göre risk altında olduğu düşünölenler. Birçok septisemi vakasında görülen hızlı kötöleşme ve erken tedavinin büyük olasılıkla başarılı olması nedeniyle, çoğu klinisyen laboratuvar onayı olmadan varsayımsal bir tanıya dayanarak antimikrobiyal tedavi başlatır. Septiseminin

erken klinik bulguları hafif ve nonspesifik olabilir (Fecteau Pare ve ark., 1997; House ve ark., 2017). Fokal enfeksiyon veya enfeksiyonla uyumlu bir klinik tablonun varlığı sepsis şüphesini artırır. Ancak septisemi kesin tanısı kan kültürüne dayanır. Negatif bir sonuç dikkatle yorumlanmalıdır çünkü birçok faktör kan kültüründen bakteri izolasyonunu engelleyebilir. Bunlar arasında önceki antibiyotik tedavisi, opsonize edici antikorların varlığı, bakteri sayısı ve hastalıkların seyri yer alır. Kan kültürü negatif olduğunda eklem, beyin-omurilik, periton veya plevral sıvılar gibi diğer vücut sıvılarının kültürleri bakteriyolojik tanı için yardımcı olabilir. Bazı laboratuvar bulguları septisemi şüphesini artırabilir. Septiseminin hematolojik anormallikleri hastalığın şiddetine göre değişir. Anormal nötrofil sayısı (nötrofili ve nötropeni) ve artmış olgunlaşmamış formlar (bantlar, miyelositler, metamiyelositler) sıklıkla görülür. Fibrinojen konsantrasyonu genellikle artar. Ağır vakalarda trombositopeni görülebilir. Koagülasyon profiline, protrombin ve trombin zamanı, fibrinojen ve fibrinojen yıkım ürünleri dahil edilmiştir (Irmak ve ark., 2006). Hipoglisemi veya daha az sıklıkla hiperglisemi görülebilir. Septik buzağılarda metabolik asidoz da sıklıkla görülür. Şiddetli vakalarda böbrek ve karaciğer parametrelerini değerlendirmek için yapılan laboratuvar testleri genellikle anormaldir. Septisemik buzağılarda düşük globulinlerin neden olduğu düşük serum proteinleri vardır. Plazma IgG konsantrasyonlarının 500 mg/dL'nin altında olması PTY tanısıyla uyumludur. Neonatal sepsis için tanısız belirteçler, enfekte olan ve olmayan hasta arasında ayırım yapılmasını sağlayacak ve hastalığın erken teşhisinde faydalı olabilirler. Genel olarak, biyobelirteçler; hücre yüzeyi belirteçleri (CD11b, CD64 ve CD69), kemokinler ve sitokinler (interlökin-6 ve -8) veya akut faz reaktanları (C-reaktif proteinler, prokalsitonin ve serum amiloid A) olarak kategorize edilirler (Fecteau ve ark., 2009; Ng ve Lam, 2006).

## 1.5. Tedavi

Septisemi, yenidoğanlarda yüksek mortalite ile seyreden kritik bir durumdur. Hasta hayvanların tedavisi, enfeksiyonları kontrol etmek, inflamatuvar yanıtı modüle etmek, kan volümünü normalleştirmek, metabolik asidozu ortadan kaldırmak ve yaşamın kritik aşamasında hastayı desteklemek için oral veya parenteral beslenmek, immünoterapi (plazma veya kolostrum), sıvı elektrolit (intravenöz veya oral sıvılar), kemoterapi (antibiyotikler) ve semptomatik ve destekleyici tedaviden oluşmalıdır (Bilal, 2007; Fecteau ve ark., 2009; Gül, 2012; Hofmann, 1992; Radostits ve ark., 2006).

### 1.5.1. Diyet Tedavi

Tedavide diyet de çok önemlidir. Hastalara verilen süt miktarı azaltılmalı, yağsız süt verilmeli veya bir miktar yoğurt eklenmelidir. İdeal olarak 1-2 gün hiç süt verilmemelidir. Kaybedilen sıvının yerine konmasına çalışılmalı; bu amaçla %5 glukoz, %4,2 NaHCO<sub>3</sub> ve izotonik NaCl birlikte

verilmelidir. Bununla beraber günde 3-5 kez 200-250 ml demlenmiş çay veya papatya çayı verilmelidir. Hafif ishal durumlarında ayran verilebilir. Hastaların önünde temiz su bulundurulmalıdır (Çitil ve Gökçe, 2013; Gül, 2016).

### 1.5.2. Kemoterapi

Kemoterapi tedavisi, sistemik ve lokal ikincil enfeksiyonları önlemenin yanı sıra mukozal bariyeri aşan, dolaşıma giren ve bağırsak lümeninde yaşayan bakterileri öldürmeyi amaçlar. Hayvanlarda kullanılacak en etkili antibiyotik, mümkünse antibiyogram sonuçlarına göre seçilmelidir. Hastalara geniş spektrumlu antibiyotikler (Tetrasiklinler, Oksitetrasiklinler, Neomisin, Ampisilin, Amoksisilin, Kloramfenikol, Trimetoprim+sülfanamid kombinasyonu, Polimiksin-B, Danofloksasin, Enrofloksasin, Florfenikol vb) ağızdan veya parenteral yolla verilir. Oral antibiyotik seçerken, bağırsaktaki konsantrasyonlarını azaltmamak için bağırsakta emilmeyenleri (Neomisin, Nitrofuranlar, Tetrasiklinler, Trimetoprim+sülfanamid) seçmeye özen gösterilmelidir (Çitil ve Gökçe, 2013).

### 1.5.3. Sıvı-Elektrolit Tedavi

Sıvı elektrolit tedavisinin en önemli amacı asit-baz dengesini korumak, dehidrasyondan kaynaklanan sıvı-elektrolit kayıplarını yerine koymak, hipovolemiyi ortadan kaldırmak, gerekli enerji ihtiyacını karşılamak ve ciddi böbrek yetmezliğini (azotemi) önlemektir. Dehidrasyon, ishallerli buzağılarda en önemli ölüm nedenidir ve septisemi ve septik şok vakalarında mortaliteye katkıda bulunur. Buzağılar için pratik, uygun maliyetli ve etkili sıvı tedavisi bazen zor olabilir. Buzağının klinik durumunun ve dehidrasyon derecesinin değerlendirilmesi, hastaya uygulanacak uygun sıvının seçiminde önemli bir kritik adımdır. İshalde meydana gelen sıvı ve elektrolit kayıpları, 80 ml/kg/saat (40 kg'lık bir buzağı için saatte 3 litreden fazla) intravenöz sıvı uygulamasını gerektirebilir (House ve ark., 2017; Naylor, 1989; Radostits ve ark., 2006).

### 1.5.4. Semptomatik ve Destekleyici Tedavi

Sıvı-elektrolit dengesinin yeniden sağlanması ve metabolik asidozun düzeltilmesinin ardından intestinal salgıların azaltılması, bağırsak mukozasının büzüşmesi ve gerekli doku onarımının sağlanması, iz element, mineral ve vitamin ihtiyaçlarını karşılanması amaçlanmalıdır. Bu bağlamda, bağırsak büzücü olarak tanık asit ve meşe yaprağı, örtücü ve koruyucu olarak keten, pirinç veya yulaf lapası, emici olarak Carbon medisinalis tercih edilmelidir. Vitamin ihtiyacını karşılamak üzere A, C, D, E ve B kompleks vitaminleri ile iz elementler bu amaçla kullanılabilir. Gastrointestinal antiseptik olarak Kreolin, Nitrofuranlar, Sülfonamidler oral yolla

uygulanabilir. Analjezik (Novaljin, Dolarjin, Ronaljin vb.) ve spazmolitik (Buscopan, Scoban) ilaçların kullanımı ile bağırsak peristaltizmi azaltılır. Ayrıca, antiprostaglandin etkisi nedeniyle Fluniksin meglumün intravenöz enjeksiyon yoluyla uygulanmalıdır. Bu önlemler, hayvan sağlığını koruma ve iyileştirme amacı güden bir tedavi protokolünün parçalarını oluşturarak bağırsak fonksiyonlarını optimize etmeyi hedeflemektedir (Berchtold, 1999; Bilal, 2007; Hofmann, 1992; House ve ark., 2017; Naylor, 1989; Radostits ve ark., 2006).

### 1.5.5. İmmünoterapi

Embriyonik dönemde antikorlar plasentadan yavruya geçemediği için prenatal bağışıklık sistemi gelişimi mümkün değildir. Yavrularda bağışıklığın gelişebilmesi için maternal antikorları doğumdan sonra kolostrum yoluyla almak zorundadırlar. Buzağlarda pasif bağışıklık, ya kolostral Ig'lerin doğrudan sağlanması ya da kolostruma eşdeğer maddelerin kullanılması yoluyla elde edilebilir. Yetersiz kolostrum alımında veya pastörize edilmemiş kolostrumdan yayılabilecek enfeksiyonların bulaşmasını önlemek için kolostrum eşdeğerleri tavsiye edilir. Ayrıca, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış buzağlarda bulaşıcı hastalıkların tedavisi için pasif immünoterapi uygulamalarında da kolostruma eşdeğer maddeler kullanılmaktadırlar. Yumurta, kan veya serum, ticari olarak kurutulmuş peynir altı suyu ve normal süttten elde edilen ürünler de kolostruma eklenebilir veya kolostrum yerine kullanılabilir. Buzağda uygun miktarda antikor oluşturmak için bu ürünlerin anne kolostrumuyla birlikte kullanılması pasif transferi kolaylaştırır ve kolostrumdan patojen bulaşma riskini azaltabilir (Kozat, 2021).

Yeni doğmuş steril buzağlarda anneden elde edilemeyen pasif bağışıklığı temin etmek, bağışıklık mekanizmasını uyararak *E. coli* suşlarına karşı antikor sağlamak, genel direnci artırmak ve kullanılacak antibiyotiklerin etkisini güçlendirmek amacıyla immünoterapi uygulanmaktadır. Bu kapsamda, maternal kan transfüzyonları, septisemi ve kolostrum serumları, gammaglobulin solüsyonları ve patojen *E. coli* suşlarına karşı aşılar uygulanmaktadır. Bu immünoterapi yöntemleri, buzağlarda bağışıklık sistemini güçlendirerek hastalıklara karşı koruyucu bir etki sağlamayı amaçlamaktadır. Yenidoğanlara doğumdan sonraki ilk 3-4 saat içinde ağırlıklarının %5'i kadar ve ilk 24 saat içinde ise canlı ağırlıklarının %10'u kadar kolostrum verilmesi önemlidir. Kolostrum ile sağlanan antikorlar, doğumdan sonraki 5-6 hafta boyunca enfeksiyonlara karşı buzağıya pasif bir koruma sağlar. Ancak neonatal buzağlarda kolostral antikor eksikliği oldukça yaygındır. Bu durum, zamanında ve yeterli miktarda kolostrum alınmaması, kolostrumun yeterli Ig içermemesi veya Ig'lerin bağırsaklardan emilimini engelleyen fiziksel, hormonal, genetik ve fizyolojik faktörlerden kaynaklanabilir (Çitil ve Gökçe, 2013).

**Anadan Kan Nakli:**Klinik olarak sağlıklı görünen fakat PTY'li buzağılara tam kan, plazma veya serum (20 mL/kg) damar içi veya intraperitoneal yolla verilebilmektedir. Plazma transfüzyonunun öneminin araştırıldığı bir çalışmada 40 mg/kg dozda plazma transfüzyonunun pasif immünitinin bir göstergesi olarak kabul edilen g-globulin ve total protein konsantrasyonlarını önemli oranda arttırdığı belirlenmiş ve şiddetli PTY'ye maruz kalan buzağılarda plazma transfüzyonunun plazma Ig seviyesini restore ettiği ve tedavide antibiyotik, sıvı ve destekleyici tedavilerle birlikte verilmesinin önemli olduğu rapor edilmiştir. Çok değerli buzağılara anadan tam kan transfüzyonu (1-3 L) da yapılabilir. Yaygın olarak uygulanmamakla birlikte, plazma veya tam kan sol açlık çukurluğundan intraperitoneal yolla uygulanabilir. Sığırlarda bulunan çok sayıda kan grubu nedeniyle, tam kan transfüzyonu reaksiyonları nadir görülür ve çoğu vaka için çapraz eşleştirme gerekli değildir. Tam kan uygulanmasında yan etkiler (letarji, solunum güçlüğü vb.) göz önünde tutulmalıdır. (Chigerwe ve Tyler, 2010; Gökçe ve Erdoğan, 2013; Turgut ve ark., 1998; Weaver ve ark., 2000).

Bağırsak geçirgenliği Ig molekülü geçişine kapandıktan sonra, pasif bağışıklık sağlamak için damar içi, intraperitoneal veya deri altı enjeksiyonlar da kullanılabilir. Canlı vücut ağırlığı kg'a 20 ml plazmayı damar içi yolla alan kolostrum yönünden yetersiz buzağuların toplam Ig'de sadece bir gün içinde %262, IgG<sub>1</sub>'de %192, IgG<sub>2</sub>'de %66, IgM'de %4 ve IgA'da %0 artış görülmüştür. İntraperitoneal olarak uygulandığında 24 saatlik bir süre içinde toplam Ig %268, IgG<sub>1</sub> %192, IgG<sub>2</sub> %66, IgM %6 ve IgA %0 oranında artmıştır. Serum IgG seviyelerinde 2.9 g/L artış ve dolayısıyla %32 IgG retansiyonu, 47 mg IgG içeren plazmanın damar içi verilmesiyle indüklenmiştir (Elitok ve Elitok, 2016; Hammer, 2003; Quigley III ve Bernard, 1996). Buzağı ve taylarda intravenöz olarak uygulanan IgG'nin %68'i kan yoluyla gastrointestinal sisteme geçmekte, %1.5'i dışkı ve %2.5'i idrar yoluyla günlük olarak atılmakta ve yarılanma ömrü 18-23 gün olduğu bildirilmektedir (Besser ve ark., 1988; Elitok ve Elitok, 2016).

**Septisemi Serumları:**Ruminantlarda, plasentanın epiteliokoryal tipinde olması sebebiyle embriyonik dönemde antikorlar anneden yavruya plasental yolla aktarılamaz. Bu nedenle prenatal bağışıklık gelişmez ve buzağılarda yeterli bağışıklığın oluşması için, patojen suşlarla aşılansız ve hiperimmünize edilmiş ineklerden elde edilen septiserumlar kullanılmaktadır (Gül, 2012). Bu süreçte hayvanlar enfeksiyöz etkenle aşılansız, etkene karşı oluşan spesifik antikorlar hayvana aktarılmaktadır. Bu şekilde doğumdan sonra buzağıda pasif bağışıklık sağlanmış olur. *E. coli* başta olmak üzere farklı patojen suşlar (*Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Actinomyces pyogenes*, *Salmonella thphmurium*) ile hazırlanmış hiperimmün serumlar bulunmaktadır. Bu serumlar, buzağıda pasif bağışıklık geliştirmek amacıyla doğumdan sonra deri altından uygulanır. Piyasada bununla ilgili bazı ürünler

(Septicol®/Vetal, Seradoll®/Dollvet, Bovi sera®/Egevet) bulunmaktadır. Serumun içerdiği antikorların ahırın patojen suşlarına uygun kalite ve kantiteye sahip olması durumunda, buzağı septisemi serumu uygulamasıyla başarılı sonuçlar elde edilebilmektedir (Altuğ ve ark., 2013; Batmaz, 2012; Bilal, 2007; İmren ve Şahal, 1996).

### **Kolostrum Serumları:**

#### **-Kolostrum ve bileşimi**

İmmunglobulinler, sitokinler, mineraller ve büyüme faktörleri içerdiğinden, geviş getiren hayvanlarda doğumdan hemen sonra salınan ilk süt örneği olan kolostrum, yeni doğan yavruların sağlığında hayati bir rol oynamaktadır (Conneely ve ark., 2013). Kolostrumun bu önemli bileşenleri, buzağılarda enfeksiyöz ajanlara karşı koruyucu bir bariyer oluşturarak sağlıklı bir bağışıklık sistemi gelişimini destekler. Özellikle yaşamın ilk 24 saati içinde alınan yeterli miktardaki kolostrum, buzağuların immünolojik savunma sistemini güçlendirir ve neonatal dönemde enfeksiyonlara karşı direnç sağlar (Miyazaki ve ark., 2017). Kolostrum, doğumdan haftalar önce annenin kanından meme bezlerine taşınan ve doğumdan 1-3 gün önce zirveye ulaşan Ig'leri içerir. İnekler doğumu takip eden ilk 7 gün boyunca kolostrum salgılar. İnek kolostrumundaki toplam proteinin yaklaşık %70-80'i Ig'lerden oluşurken, normal sütte bu oran sadece %1-2'dir (Gökçe ve Erdoğan, 2013).

Yeni doğan buzağuların bağışıklık sistemlerinin sağlıklı bir şekilde gelişmesinde kolostrumun kritik bir rolü vardır. Kolostrumdaki yüksek Ig seviyesi, buzağıya pasif bağışıklık sağlamak ve bağırsak düzeyinde lokalize etmek açısından önemlidir. İmmunglobulinler, memeli kan dolaşımında lenfositler tarafından üretilen plazma proteinleridir ve vücudu patojen organizmalardan koruyarak enfeksiyonlara karşı direnç oluşturur (Gökçe ve Erdoğan, 2013; Miyazaki ve ark., 2017). Buzağıdaki Ig seviyesi, alınan kolostrum miktarı ve kolostrumdaki Ig konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir. Kolostrum yönetimi, buzağı sağlığı ve sürü büyüklüğü açısından kritik bir yönetim faktörüdür. Maternal Ig'lerin transferi, anneden yavruya gebelik sırasında plasenta yoluyla ya da doğum sonrasında memeden kolostrum yoluyla gerçekleşir. Ancak geviş getiren ve tek tırnaklı hayvanlarda Ig'ler plasentayı geçip yavruya ulaşamaz. Pasif transfer bağışıklığı, Ig'lerin ve diğer kolostral bileşenlerin buzağular tarafından sindirim sisteminden emildiği süreci ifade eder. Bu hayvanların yavruları doğduklarında neredeyse hiç antikora sahip değildir ve bağışıklık sistemleri annenin kolostrumuna bağlıdır (Gökçe ve Erdoğan, 2013; Miyazaki ve ark., 2017).

Yeni doğan buzağuların bağışıklık sistemini destekleyen kolostrum, içerdiği çeşitli bileşenlerle önem taşır. İneklerde IgG'nin %90'ından fazlası kolostrumunda bulunmaktadır ve bu IgG'nin ortalama konsantrasyonu

buzağılamadan sonraki ilk sağımda yaklaşık 60 g/L'dir. Ancak normal sütte IgG içeriği 12. sağımdan sonra dramatik bir şekilde düşer ve 0.5 g/L'ye kadar inebilir. IgM, IgA, IgD ve IgE de kolostrumda bulunur. Özellikle IgG, doğum öncesi dönem boyunca meme bezinde biriken meme epiteli yoluyla kandan aktarılır ve inek kolostrumundaki toplam Ig'lerin yaklaşık %85-90'ını oluşturur. Kolostrum tipik olarak %85-90 IgG, %7-10 IgM ve %5 IgA içerir (Conneely ve ark., 2013; Godson ve ark., 2003).

Buzağı sağlığı için kritik olan kolostrumdaki IgG konsantrasyonu, kaliteyi belirlemede temel bir ölçüttür. Sığırlarda, daha yüksek kalitede kolostrumun varlığı için önerilen IgG konsantrasyonu 50 g/L'dir (Conneely ve ark., 2013). IgG, antikor olarak çeşitli işlevlere sahiptir, bunlar arasında opsonizasyon, kompleman fiksasyonu, patojen yapışmasının önlenmesi, bakteriyel metabolizmanın inhibisyonu, bakteriyel aglütinasyon, virüs ve toksinlerin nötralizasyonu yer alır. Sığır kolostrumundaki IgG, IgG<sub>1</sub> ve IgG<sub>2</sub> alt sınıflarına ayrılır. Özellikle, IgG<sub>1</sub> tüm Ig'lerin yaklaşık %50-80'ini oluşturur ve bu konsantrasyon, meme alveolar epitel hücreleri üzerindeki reseptörler tarafından sağlanır. İneğin yaşı, beslenme durumu, laktasyon aşaması ve genetik ve hormonal etkiler gibi çok sayıda faktör sütteki IgG<sub>1</sub> konsantrasyonunu etkiler. İlk üç laktasyonun IgG<sub>1</sub> konsantrasyonu ve kütlelerini etkileyen en önemli faktörler arasında laktasyon sayısı öne çıkar. Pasif transfer, annenin yaşı ve ırkı, kolostrum tüketim zamanı, doğum tekniği ve kolostrumun Ig içeriği gibi değişkenlerden de etkilenebilir. İmmünglobulin transferi yetersiz olan buzağılarda ölüm riskinin arttığı ve ilk 12 haftada vücut ağırlığı artışının azaldığı gözlemlenmiştir (Chigerwe ve Tyler, 2010; Gökçe ve Erdoğan, 2013; Miyazaki ve ark., 2017; Weaver ve ark., 2000).

### **-Kolostral antikorlar**

İmmünglobulinler, özellikle immunolojik aktivite açısından önemli olan bileşenlerdir ve kolostrum ile birlikte sütte yoğun bir şekilde bulunurlar. Kolostral antikorlar, patojenlerin lökositler tarafından fagositozunu tetikleyerek enfeksiyonun engellenmesinde kritik bir rol oynar. Bu antikorlar aynı zamanda epitel mukozasına patojen bağlanmasını engelleyerek enfeksiyon riskini azaltır. Buzağı serumundaki yüksek seviyedeki kolostral Ig'ler, buzağuların ilk haftalarında sağlıklı bir gelişim göstermelerine katkıda bulunur ve dişi buzağuların damızlık olarak kullanılma şansını artırır (Furman-Fratczak ve ark., 2011; Hurley ve Theil, 2011). Emilim sırasında Ig'ler meme bezinden salınır ve meme epitel hücreleri üzerindeki reseptörler aracılığıyla aktarılır. IgG, IgM ve IgA genellikle inek serumunda bulunur. Bu Ig'ler serumdan meme bezine geçici olarak taşınır. İlk kolostrumda son derece yüksek Ig konsantrasyonlarına (40±200 mg/ml) ulaşarak yeni doğan buzağıyı mikrobiyal enfeksiyonlardan korurlar. Doğumdan sonraki 12 saat içinde kolostrum almayan yeni doğan buzağuların ağırlık artışlarında gerileme ve yüksek ölüm oranına sahip olma olasılığı daha yüksektir. IgG seviyeleri 10

g/L'nin altında olan buzağuların ölüm oranlarının daha yüksek olduğu ve solunum sistemi hastalıklarına daha yatkın olduğu bilinmektedir (Gökçe ve Erdoğan, 2013; Kozat, 2019). Gebelik döneminde annelerin enterotoksijenik *E. coli* ve diğer enterik etkenlere karşı aşılınması, yeni doğanlarda koruyucu bir etki sağlamaktadır. İnaktive rotavirüs aşısı ile aşılanan kısıraklardan doğan taylarda morbidite oranı %30 iken, aşılınmayan kısırakların taylarında morbidite %80'e ulaşmıştır. Kolostrum aracılığı ile hem aktif hücreler hem de laktoferrin gibi çözünen moleküler anneden yavruya geçmektedir (Gökçe ve Erdoğan, 2013; Kozat, 2018; Lemaire ve ark., 2000; Lilius ve Marnila, 2001).

### **-Kolostrumun verilme zamanı ve miktarı**

Yeni doğan buzağuların yaşamlarının ilk 28 gününü kapsayan neonatal dönemde ve kendi bağışıklık sistemleri aktive olana kadar hastalıklara karşı koruyucu bağışıklık sağlamalarının tek yolu kolostrum alımı ve emilimidir (Gökçe ve Erdoğan, 2013). Anne sütündeki Ig'ler, yavruya pasif bağışıklık sağlayarak yenidoğan yavrularda bağışıklık sisteminin gelişimine etki eder. Bu bağlamda, annenin bağışıklık durumu ile yenidoğanın immünolojik korunması arasındaki önemli bağlantı, bilimsel olarak 19. yüzyılın sonlarına kadar vurgulanmamış olsa da uzun bir süre üzerinde durulmuştur (Hurley ve Theil, 2011). Pasif immunité derecesi genellikle yenidoğanın hayatta kalmasıyla pozitif olarak birbiriyle bağlantılıdır ve dolaşımdaki Ig'ler (özellikle IgG) çevresel antijenlere karşı konak savunması için çok önemlidir (Furman-Fratczak ve ark., 2011; Kozat, 2019; Lilius ve Marnila, 2001; Weaver ve ark., 2000). Kolostrumda bulunan çeşitli Ig'ler, buzağının bulaşıcı patojenlere karşı ilk ve en önemli savunma hattı olarak tanımlanmıştır. Buzağı kolostrumdan aynı zamanda enerji de alır. IgG'ler, buzağular kolostrumu yedikten sonra seçici olmayan pinositoz süreci ile bağırsak epitel hücreleri tarafından alınır ve daha sonra lenfatik ve torasik kanallar yoluyla dolaşıma verilir (Gökçe ve Erdoğan, 2013; Murphy ve ark., 2014). Bu nedenle, epitel hücreleri ilk 4 saat içinde herhangi bir değişiklik olmadan tüm IgG'leri maksimum düzeyde emer. Yavru doğduktan sonra ne kadar erken kolostrum alırsa, yavruya da o kadar fazla antikor geçmektedir. Henüz olgunlaşmamış bağırsak epitel hücreleri, buzağılarda doğumun ilk saatlerinden itibaren veziküle olur ve vakuolleşir. Buzağuların Ig almaları saatler ilerledikçe hızlı bir şekilde azalmaktadır. Ayrıca kolostrumun besin değeri de doğumdan sonra hızlı bir şekilde azalmaktadır. Bu sebepten kaynaklı buzağuların doğum gerçekleştikten sonra 2 saat içerisinde kolostrum almaları önerilmektedir (Gökçe ve Erdoğan, 2013; Güngör, 2006; Quigley ve ark., 2002). Kolostrum kalitesi hayvandan hayvana değişmektedir. Yapılan araştırmalar sonucunda inek kolostrumunun düve kolostrumundan daha yoğun antikor bulundurduğu belirlenmiştir. Buzağının canlı ağırlığı, ne kadar kolostruma ihtiyacı olduğunu ve ilk üç gün boyunca ne kadar verileceğini hesaplamak için önemlidir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda ilk kolostrum alımında günlük olarak canlı



ağırlığın %10-12'si sonraki kolostrum alımında ise canlı ağırlığın en fazla %10'u kadar ve günde iki veya üç öğün verilmesi gerektiği bildirilmiştir (Chigerwe ve Tyler, 2010; Gökçe ve Erdoğan, 2013; Miyazaki ve ark., 2017). Yeni doğan buzağıya ilk kolostrum uygulamasından sonra 12 saatten önce kolostrum verilmesinin 24-48 saat boyunca Ig seviyelerinde artışa neden olduğu bildirilmiştir. Birçok çalışmada, yeni doğan buzağuları birçok hastalığa karşı koruyan farklı serum Ig konsantrasyonlarının varlığı tespit edilmiştir. Serumda bulunan Ig konsantrasyonu 10 g/L'den az olduğunda PTY'nin buzağı yaşamının 24. saatinde geliştiği bildirilmiştir (Atkinson ve ark., 2017; Weaver ve ark., 2000). Serum IgG seviyeleri 10 g/L'nin altında olan buzağular üzerinde yapılan bir başka çalışmada, serum IgG seviyeleri 10 g/L'nin üzerinde olan buzağılara kıyasla hastalık vakalarına yakalanma olasılığının daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Yeni doğanlardan Ig'lerin pasif transferi başarısız olduğunda ruminantlarda çeşitli hastalıklara karşı düşük direnç meydana gelir. Buzağı morbiditesi/mortalitesi ile yeni doğan buzağuların maternal Ig transferinin azalması arasında yüksek korelasyon vardır. Artan buzağı morbiditesi/mortalitesi düşük performans, yüksek üretim maliyetleri ve düşük karlılık ile sonuçlanır (Kozat, 2019; Panousis ve ark., 2013; Pardon ve ark., 2015).

### **-Kolostrumun dondurulması**

Geleneksel olarak kolostrumu yeterince almadığı düşünülen veya güç doğum nedeniyle beslenmesi geciken buzağılara önceden depo edilmiş veya dondurulmuş kolostrum takviyesi yapılmaktadır (Godden, 2008; Godson ve ark., 2003; Weaver ve ark., 2000). Kolostrumun dondurulması IgG seviyeleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı belirtilmekle (Holloway ve ark., 2002) birlikte dondurulan kolostrumun kolostral lökositlerin parçalanmasına yol açtığı rapor edilmiştir (Donovan ve ark., 2007; Gökçe ve Erdoğan, 2013). Özellikle sütçü inekler kendi buzağularının kullanabileceğinden çok daha fazla kolostrum üretirler. Fazla kolostrum 4°C'de 24 saat veya derin dondurucuda bir yıl sağlıklı bir şekilde saklanabilir (Godson ve ark., 2003; Lorenz ve ark., 2011). Buzdolabında saklanan kolostrum örneklerinde IgG bir hafta stabil kalabilmekte ancak 6 gün süreyle bakteri bulaşmasının önüne geçebilmek için %5 potasyum sorbat ilavesi yapılmalıdır (Stewart ve ark., 2005). Buzdolabında saklanması için uygun ısıların 0.5-2 °C olduğu da belirtilmektedir. Eğer kolostrum toplanarak uygulanıyor ve uygulama aralığı 1 saatten fazla ise hızlı bakteri üremelerinin önlenmesi için yaklaşık 4.4°C altında bir ısıda tutulması önerilmektedir. Kolostrumun kolay çözündürülmesi açısından bir veya iki litrelik paketler halinde saklanmalıdır (Godson ve ark., 2003; Quigley ve ark., 2001). Dondurulmuş kolostrum, proteinlerin denatüre olmaması için yüksek sıcaklıkta hızlı bir şekilde çözündürülmemelidir. Kolostrumun kaliteli bir şekilde buzağıya verilmesi için, dondurulmuş kolostrumların oda sıcaklığında veya 38°C'de ya da 45-50°C'lik sıcak su

banyosundan tercih edilen herhangi birinde çözdürülmesi tavsiye edilmektedir (Lorenz ve ark., 2011; Quigley ve ark., 2001; Stewart ve ark., 2005). İçirme öncesinde kolostrum vücut sıcaklığına (35-37°C) kadar ısıtılmalıdır (Erdem ve Atasever, 2005). Dondurulmuş kolostrumla beslenmenin PTY üzerine bir etkisinin olmadığı rapor edilmiştir. Bununla birlikte süt işletmelerinden satın alınan dondurulmuş kolostrum örneklerinin içerdiği Ig miktarlarının genellikle yetersiz ve oldukça değişken olduğu rapor edilmiştir. Bu sütçü işletmelerde ilk 6 sağımin kolostrum olarak kabul edilmesinden kaynaklanabilir. Fakat kolostral Ig seviyesi yalnızca ilk 2 sağımda yeterli seviyededir (Godson ve ark., 2003; Gökçe ve Erdoğan, 2013). Doğumdan sonra sağımlarda gecikmeler kolostral Ig seviyelerinde azalmalara yol açmaktadır. Kolostrumun toplanmasında 2 saatlik bir gecikme bile kolostral Ig seviyelerini önemli miktarda azaltmaktadır. Dondurulmuş kolostrumun kullanılmasının diğer dezavantajları yüksek miktarlarda dondurulması için geniş alanların gerekmesi ve uygulamadan önce çözdürülme için zamana ihtiyaç duyulmasıdır. Ayrıca dondurulmuş kolostrum örnekleri Mycobacterium gibi mikroorganizmaların taşınmasında da bir risk oluşturmaktadırlar (Elizondo-Salazar ve ark., 2010; Godson ve ark., 2003; Gökçe ve Erdoğan, 2013).

## KAYNAKÇA

- Aldridge, B. M., Garry, F., Adams, R. (1993). Neonatal septicemia in calves: 25 cases (1985-1990). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 203(9), 1324-1329.
- Alkan, F. (1998). Buzağı İshallerinde Rotavirus ve Coronavirusların Rolü. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 45(01).
- Altuğ, N., Özdemir, R., Cantekin, Z. (2013). Ruminantlarda koruyucu hekimlik: I. aşı uygulamaları. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 10(1) 33-44.
- Atkinson, D., Von Keyserlingk, M., Weary, D. (2017). Benchmarking passive transfer of immunity and growth in dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 100(5), 3773-3782.
- Batmaz, H. (2012). Buzağı septisemisi ve ishallerinin tedavi ve koruma ilkeleri. In *Sürü Sağlığı ve Yönetimi Sempozyumu Bildiri Kitabı* (pp. 51-60).
- Berchtold, J. (1999). Intravenous fluid therapy of calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 15(3), 505-531.
- Besser, T. E., Gay, C. C. (1994). The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 10(1), 107-117.
- Besser, T. E., Gay, C. C., McGUIRE, T. C., Evermann, J. F. (1988). Passive immunity to bovine rotavirus infection associated with transfer of serum antibody into the intestinal lumen. *Journal of Virology*, 62(7), 2238-2242.
- Bilal, T. (2007). Yenidoğanların İç Hastalıkları. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İstanbul*, 158-169.
- Chigerwe, M., Tyler, J. (2010). Serum IgG concentrations after intravenous serum transfusion in a randomized clinical trial in dairy calves with inadequate transfer of colostral immunoglobulins. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(1), 231-234.
- Conneely, M., Berry, D., Sayers, R., Murphy, J., Lorenz, I., Doherty, M., Kennedy, E. (2013). Factors associated with the concentration of immunoglobulin G in the colostrum of dairy cows. *Animal*, 7(11), 1824-1832.
- Constable, P. D. (2004). Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(1), 8-17.

- Çitil, M., Gökçe, E. (2013). Neonatal septisemi. *Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 4(1), 62-70.
- Deng, Y., Batten, C., Liu, B., Lambden, P., Elschner, M., Gunther, H., Otto, P., Schnurch, P., Eichhorn, W., Herbst, W. (2003). Studies of epidemiology and seroprevalence of bovine noroviruses in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(6), 2300-2305.
- Donovan, D. C., Reber, A. J., Gabbard, J. D., Aceves-Avila, M., Galland, K. L., Holbert, K. A., Ely, L. O., Hurley, D. J. (2007). Effect of maternal cells transferred with colostrum on cellular responses to pathogen antigens in neonatal calves. *American Journal of Veterinary Research*, 68(7), 778-782.
- Elitok, Ö. M., Elitok, B. (2016). Parenteral Applications of Colostrum Serums in Treatment and Prevention of Neonatal Calf Diarrhea. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 9(3), 211-214.
- Elizondo-Salazar, J. A., Jayarao, B. M., Heinrichs, A. J. (2010). Effect of heat treatment of bovine colostrum on bacterial counts, viscosity, and immunoglobulin G concentration. *Journal of Dairy Science*, 93(3), 961-967.
- Erdem, H., Atasever, S. (2005). Yeni doğan buzağılarda kolostrumun önemi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(2), 79-84.
- Erdoğan, H. M., Ünver, A., Çitil, M., Güneş, V., Arslan, M. Ö., Tuzcu, M., Gökçe, H. I. (2009). Dairy farming in Kars district, Turkey: III. Neonatal calf health. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 33(3), 185-192.
- Fecteau, G., Pare, J., Van Metre, D. C., Smith, B. P., Holmberg, C. A., Guterbock, W., Jang, S. (1997). Use of a clinical sepsis score for predicting bacteremia in neonatal dairy calves on a calf rearing farm. *The Canadian Veterinary Journal*, 38(2), 101.
- Fecteau, G., Smith, B. P., George, L. W. (2009). Septicemia and meningitis in the newborn calf. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1), 195-208.
- Fecteau, G., Van Metre, D. C., Pare, J., Smith, B. P., Higgins, R., Holmberg, C. A., Jang, S., Guterbock, W. (1997). Bacteriological culture of blood from critically ill neonatal calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 38(2), 95.
- Furman-Fratczak, K., Rzasa, A., Stefaniak, T. (2011). The influence of colostral immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5536-5543.

- Garcia-Sanchez, J., Corral, C., Halaihel, N., Simon, M., Alonso, J., Muzquiz, J., Ortega, C., Girones, O. (1993). Survey of rotavirus infection in a dairy herd: comparison between polycrylamide gel electrophoresis and two commercial tests. *Veterinary Microbiology*, 34(4), 321-332.
- Gay, C., Besser, T. (1994). Escherichia coli septicaemia in calves.
- Godden, S. (2008). Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 19-39.
- Godson, D., Acres, S., Haines, D. (2003). Failure of passive transfer and effective colostrum management in calves. *Large Animal Veterinary Rounds*, 3(10), 1-6.
- Gökçe, E., Erdoğan, H. M. (2013). Neonatal Buzağılarda Kolostral İmmünoglobulinlerin Pasif Transferi. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 4(1), 18-46.
- Grunberg, W. (2012). Ketosis in dairy coes pathophysiology and treatment strategies. In W. Grunberg (Ed.), *Sürü Sağlığı ve Yönetimi Sempozyumu Bildiri Kitabı* (pp. 19-22).
- Gül, Y. (2012). *Geviş Getiren Hayvanların İç Hastalıkları* (Y. Gül, Ed. 3 ed.). Medipres Matbaacılık.
- Gül, Y. (2016). *Geviş getiren hayvanların iç hastalıkları* (4. Baskı ed.). Medipres Yayınevi.
- Güneş, V., Ünver, A., Çitil, M., Erdoğan, H. (2004). Kars Yöresi Neonatal Buzağı İshallerinde Escherichia coli Serotip O157 ve Clostridium perfringens tip Aα-toksini Prevalansının Belirlenmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 10(1), 41-45.
- Güngör, Ö. (2006). Newborn Calves and Colostrum. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 12(1).
- Hammer, C. J. (2003). Effects of exogenous immunoglobulins in neonatal animals. Doktora Tezi, *Graduate College Iowa State University*.
- Hofmann, W. (1992). Rinderkrankheiten. Bd. 1. Innere und chirurgische Erkrankungen. In: Ulmer Verlag, Stuttgart.
- Holloway, N. M., Tyler, J. W., Lakritz, J., Carlson, S. L., Tessman, R. K., Holle, J. (2002). Serum immunoglobulin G concentrations in calves fed fresh colostrum or a colostrum supplement. *Journal of veterinary internal medicine*, 16(2), 187-191.
- House, A. M., Irsik, M., Shearer, J. K. (2017). Sepsis, failure of passive transfer, and fluid therapy in calves. *Veterinary Medicine-Large Animal Clinical Sciences Department publications*. p1-5. Available from: <http://www.calfology.com>. Accessed on, 24-05.

- Hurley, W. L., Theil, P. K. (2011). Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients*, 3(4), 442-474.
- İmren, H., Şahal, M. (1996). Veteriner İç Hastalıkları, 4. Baskı. *Medisan Yayınları, Ankara*.
- İrmak, K., Sen, I., Cöl, R., Birdane, F., Güzelbektes, H., Civelek, T., Yılmaz, A., Turgut, K. (2006). The Evaluation of Coagulation Profiles in Calves with Suspected Septic Shock. *Veterinary Research Communications*, 30, 497-503.
- Johnson, J. L., Godden, S. M., Molitor, T., Ames, T., Hagman, D. (2007). Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 90(11), 5189-5198.
- Karakuş, A. Ö. (2021). Enfektif İshalli ve Sağlıklı Neonatal Buzağılarda Serum Amyloid A, Serum Calprotectin ve ve Fekal Calprotectin Arasındaki İlişkilerin ve İnflamatuvar Marker Olarak Diagnostik öNemlerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, *Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimler enstitüsü, Bursa*.
- Kozat, S. (2018). Hypothermia in newborn calves. *Journal of Istanbul Veterinary Sciences*, 2(1), 30-37.
- Kozat, S. (2019). Yenidoğan Buzağılarda Kolostrum Yönetiminin Önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 14(3), 343-353.
- Kozat, S. (2021). Treatment Principles in Calf Diarrhea. *Proceedings Book*, 113.
- Lemaire, M., Weynants, V., Godfroid, J., Schynts, F., Meyer, G., Letesson, J.-J., Thiry, E. (2000). Effects of bovine herpesvirus type 1 infection in calves with maternal antibodies on immune response and virus latency. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(5), 1885-1894.
- Lilius, E.-M., Marnila, P. (2001). The role of colostral antibodies in prevention of microbial infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 14(3), 295-300.
- Lorenz, I., Mee, J. F., Earley, B., More, S. J. (2011). Calf health from birth to weaning. I. General aspects of disease prevention. *Irish Veterinary Journal*, 64(1), 10.
- Lu, C., Yao, H., Eichhorn, W. (1991). Coronavirus as an agent of neonatal calf diarrhea in a Chinese dairy cattle farm. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 38(1-10), 473-476.

- Lundborg, K. (2004). Housing, management and health in Swedish dairy calves. Doktora Tezi, *Swedish University of Agricultural Sciences*, Skara.
- McGuire, T., Adams, D. (1982). Failure of colostral immunoglobulin transfer to calves: prevalence and diagnosis. *Compend Contin Educ Pract Vet*, 4, S35-S39.
- McGuirk, S. M. (2008). Disease management of dairy calves and heifers. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 139-153.
- McGuirk, S. M., Collins, M. (2004). Managing the production, storage, and delivery of colostrum. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 20(3), 593-603.
- Miyazaki, T., Okada, K., Miyazaki, M. (2017). Neonatal calves coagulate first-milking colostrum and produce a large curd for efficient absorption of immunoglobulins after first ingestion. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 7262-7270.
- Murphy, J. M., Hagey, J. V., Chigerwe, M. (2014). Comparison of serum immunoglobulin G half-life in dairy calves fed colostrum, colostrum replacer or administered with intravenous bovine plasma. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 158(3-4), 233-237.
- Naylor, J. M. (1989). A retrospective study of the relationship between clinical signs and severity of acidosis in diarrheic calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 30(7), 577.
- Ng, P. C., Lam, H. S. (2006). Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Current Opinion in Pediatrics*, 18(2), 125-131.
- Panousis, N., Kritsepi-Konstantinou, M., Kalaitzakis, E., Giadinis, N., Valergakis, G. (2013). Prevalence of failure of passive transfer of immunoglobulins in Holstein calves in Northern Greece and association with management practices. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 64(3), 193-200.
- Pardon, B., Alliët, J., Boone, R., Roelandt, S., Valgaeren, B., Deprez, P. (2015). Prediction of respiratory disease and diarrhea in veal calves based on immunoglobulin levels and the serostatus for respiratory pathogens measured at arrival. *Preventive Veterinary Medicine*, 120(2), 169-176.
- Piccione, G., Casella, S., Pennisi, P., Giannetto, C., Costa, A., Caola, G. (2010). Monitoring of physiological and blood parameters during

- perinatal and neonatal period in calves. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(1), 1-12.
- Quigley III, J., Bernard, J. (1996). Milk replacers with or without animal plasma for dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 79(10), 1881-1884.
- Quigley, J., Hammer, C., Russel, L., Polo, J. (2002). Passive immunity in newborn calves. *Advances in Dairy Technology*, 14, 273-292.
- Quigley, J., Strohbehn, R., Kost, C., O'brien, M. (2001). Formulation of colostrum supplements, colostrum replacers and acquisition of passive immunity in neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, 84(9), 2059-2065.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., Constable, P. D. (2006). *Veterinary Medicine E-Book: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier Health Sciences.
- Rea, D., Tyler, J., Hancock, D., Besser, T., Wilson, L., Krytenberg, D., Sanders, S. (1996). Prediction of calf mortality by use of tests for passive transfer of colostral immunoglobulin. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 208(12), 2047-2049.
- Sherwin, V., Hudson, C., Henderson, A., Breen, J. (2016). Measuring health and performance in preweaning dairy calves. *In Practice*, 38(3), 113-122.
- Stewart, S., Godden, S., Bey, R., Rapnicki, P., Fetrow, J., Farnsworth, R., Scanlon, M., Arnold, Y., Clow, L., Mueller, K. (2005). Preventing bacterial contamination and proliferation during the harvest, storage, and feeding of fresh bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, 88(7), 2571-2578.
- Şahal, M., Terzi, O. S., Ceylan, E., Erdal, K. (2018). Buzağı ishalleri ve korunma yöntemleri. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 58(3), 41-49.
- Todd, A., Whyte, P. (1995). The effect of delays in feeding colostrum and the relationship between immunoglobulin concentration in the serum of neonatal calves and their rates of growth. *Australian Veterinary Journal*, 72(11), 415-417.
- Topal, O. (2018). Buzağılarda neonatal dönem sağlığını değerlendirmede ilk onbeş günde önemli olan klinik bulguların belirlenmesi. Doktora Tezi, *Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. Bursa.
- Turgut, K., Başoğlu, A., Sevinç, M., Şen, İ., Yıldız, M., Kaleli, S. (1998). Plasma transfusion in calves with failure of passive colostral transfer. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 22(2), 123-130.



- Tyler, J. W., Hancock, D. D., Thorne, J. G., Gay, C. C., Gay, J. M. (1999). Partitioning the mortality risk associated with inadequate passive transfer of colostral immunoglobulins in dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13(4), 335-337.
- Ünver, A., Çitil, M., Atabay, İ., Otlu, S., Şahin, M. (2005). Yenidoğan buzağı ishallerinden Salmonella ve Citrobacter türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 11(1), 51-53.
- Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E., Barrington, G. M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(6), 569-577.

## BÖLÜM 10

### KEDİ VE KÖPEKLERDE SERVİKAL VERTEBRA KIRIKLARINDA TEDAVİ SEÇENEKLERİ

Araş. Gör. Onur YILDIRIM<sup>1</sup>  
Prof. Dr. Nihat ŞINDAK<sup>2</sup>  
Dr. Öğr. Üyesi Ali GÜLAYDIN<sup>3</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408090>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Cerrahi ABD, Siirt, Türkiye. onur.yildirim@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-5462-6100

<sup>2</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Cerrahi ABD, Siirt, Türkiye. nihats@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-0431-8940

<sup>3</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Cerrahi ABD, Siirt, Türkiye. a.gulaydin@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0002-7200-1040



## GİRİŞ

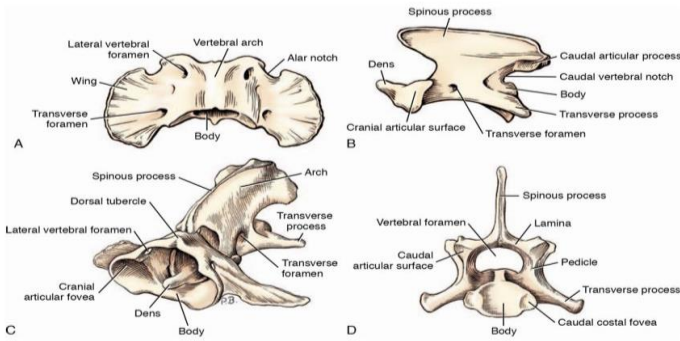
Kedi ve köpeklerde travmatik nedenlere bağlı medulla spinalis ve columna vertebralis yaralanmaları yaygın şekilde görülmektedir (Bruce, 2008; Simpson, 2009). Travmalara bağlı oluşan yaralanmaların başlıcaları vertebra kırıkları, vertebral luksasyonlar ve disk ekstrüzyonlarıdır. Bu hasarların sebepleri arasında trafik kazaları, yüksekte düşme, ısırılma ve sabit nesnelere çarpışma bulunmaktadır (Henke, 2013). Akut omurilik travması ve vertebral instabiliteye sahip hastalar acil vaka olarak kabul edilmeli ve kapsamlı şekilde değerlendirilmelidir. Vertebral kırık ve luksasyonlarda açık redüksiyon ve internal fiksasyon hastadaki travmaya bağlı ödemi ve ağrıyı azaltarak hastanın rehabilite edilmesi açısından önemlidir (Bruce, 2008). Klinik ve radyolojik muayenelerde vertebral stabiliteye sahip hastalar, nörolojik olarak minimal değişimleri olan, hastalarda kafes istirahati gibi cerrahi olmayan yöntemler tercih edilebilir. Ağrı duyusuna sahip travmatik vertebra kırık ve luksasyonları olan hastalarda, yaralanmayı takiben 24-48 saat içinde tedavi edildiğinde prognoz genellikle olumludur (Bagley, 2000; Simpson, 2009).

Omurilik yaralanmaları birincil ve ikincil olarak ikiye ayrılır. Birincil yaralanma genellikle travmaya bağlı sarsıntı, kompresyon olarak sınıflandırılabilen mekanik bir hasarlardır. Omurilik instabilite veya kompresyon nedeniyle yaralanmaya maruz kalabilir. Mekanik hasar sinir dokusuna zarar vererek kanama, iskemi ve ödem gibi patolojik durumlara yol açabilir (Hurlbert,2006). İkincil yaralanma; serbest radikaller, uyarıcı nörotransmitterler, sitokinler, inflamatuvar araçlar gibi faktörler aracılığı ile başlatılır. Columna vertebralis yaralanmalarının tedavisindeki amaç omurilikte devam eden birincil yaralanmayı önleyerek birincil ve ikincil yaralanmaların etkilerini azaltmaktır. Birincil yaralanmalar, vertebral kolonun yeniden hizalanması, stabilizasyonu ve omuriliğin dekompresyonunu sağlamaktır (Bruce ,2008). Destekleyici bakım ve tıbbi tedavi ile birlikte bu müdahaleler, omurilikte ikincil yaralanmanın hafifletilmesine de yardımcı olur. Kedi ve köpeklerde gerek deneysel gerekse klinik birçok çalışmaya konu olan omurilik hasarının tedavisi için henüz uygun bir tedavi protokolü geliştirilememiştir. Buna karşın kaydedilen gelişmelerin hastalar için umut vadettiği görülmektedir (Can, 2016).

### 1.Servikal Vertebra Anatomisi

Servikal omurga segmenti toplamda 7 vertebradan oluşur. Servikal vertebralar corpus, lamina, pedikül, processus transversus ve processus spinosus bölümlerinden meydana gelir. Başın serbest olarak hareket ettirilmesinde görevli atlas ve axis boyun omurları diğer servikal vertebralara göre bir hayli değişime uğramıştır. Görünüşte bir gövdeye sahip olamamakla birlikte arcus dorsalis ve ventralisin kemiksel bir halka şeklinde

birleşmesinden meydana gelir (König, 2007). Ayrıca atlas ve axis arasında arasında intervertebral disk yoktur. Atlas kısa bir gövdeye ve geniş proc. transversuslara sahiptir. Processus transversus yanlarda massa lateralis'ten itibaren genişleyerek kanat şeklindeki alae atlantis'i şekillendirir (Dyce,2009). Foramen vertebrale laterale omur kemerinin craniodorsal bölümüne açılır. Foramen transversarium kısa bir kanal ile atlasın kanatlarının kaudaline açılır. İkinci servikal omur axis, başın rotasyon hareketini sağlar (Iulius, 2007). Axis'in gövdesinin kranial ucu merkezde lokalize olmuştur ve gelişimi sırasında atlas'ın gövdesinden geliştiği kabul edilen dens yer alır. Kaudal eklem yüzü olan facies articularis caudalis düzgün ve içbükey olup yüzü intervertebral diske dönüktür. Axis kemeri olan arcus vertebrae üzerinde omur gövdesinin kranial ve kaudal uçlarında, uzunlamasına bir çıkıntı processus spinosus bulunur. Transversal çıkıntılar processus transversi çift olup tabanlarında foramen transversarium bulunur (Dyce, 2009). Axis'in dens'i atlas'ın fovea articularis'i ile birlikte atlas ve başın rotasyon hareketini sağlayan eklemi oluşturur. Ayrıca boyun omurlarının gövdesi geriye gidildikçe kısalmır (König, 2007) (Şekil 1).



**Şekil 1.** Servikal omurga bölümleri (Johnston, 2018).

Servikal omurların eklem ve transversal çıkıntıları çok iyi gelişmiştir. Servikal vertebralarda C3, C4, C5 ve C6 omurlarının transversal çıkıntıları üzerinde foramen transversarium bulunur. Boyun omurlarında aynı tarafta yer alan her bir foramen transversarium ard arda gelecek şekilde intervertebral arter, ven ve sinirlerin geçmesi için transversal seyirli canalis transversariusu şekillendirir (Dyce, 2009). Servikal omurganın her iki tarafında bulunan arteria vertebralis, foramen transversaria'dan geçer. Ayrıca sekiz çift servikal sinirden ilki C1'in foramina transversaria'sından çıkar. Diğer sinirler ise her bir vertebranın foramen intervertebralisinden çıkar. Diğer bir anatomik yapı ligamentum nuchae T1'in processus spinosus'undan C2'nin processus spinosus'unun kaudaline uzanır (König, 2007).

## 2.Nörolojik Muayene

Nörolojik muayene klinisyenleri doğru ve kesin bir nöroanatomik lokalizasyona yönlendirmek için belirli bir sıra ile yapılmalıdır. Nöroanatomik lokalizasyon, bir lezyonun gözlenen klinik belirtilerle sonuçlanacağı sinir sistemi içindeki bölgeyi ifade eder (Johnston, 2018). Omurilik travmasının tespiti için postüral reaksiyonların, bilinç durumunun, spinal reflekslerin incelenmesine ek olarak hastanın yürüyüşünün, duruşunun ve zihinsel durumunun gözlemlenmesi gereklidir. Aynı zamanda lezyon lokalizasyonunun doğru yapılmasına yardımcı olacaktır (McDonnell, 2001). Omurilik travması olan hastalarda istemli hareketlerin azalması veya kaybı, kas tonusundaki değişiklikler, spinal refleks anomalileri, kas atrofisi ve duysal işlev bozuklukları gibi belirtiler gözlenebilir (Thomas, 2010).

İstemli hareketlerin muayenesi yapılırken beyin sapından ikinci torakal vertebra segmentine kadar herhangi bir yerdeki nöromüsküler sistemi etkileyen travma sonucu hastada tetraparezi veya tetraplaji gibi klinik belirtiler görülebilir. İstemli hareketleri değerlendirmek için yapılan muayene sırasında özellikle yatar durumda olan hastalarda çok dikkatli olunmalıdır. Servikal travma hastalarında pelvik bölgedeki motor disfonksiyonu sıklıkla karşılaşılr. Bu gözlemin ana nedeni pelvik bölgeye giden motor nöronların periferik olarak yerleşmiş olmasıdır. Ayrıca yapılan muayene sırasında C1-C5 omurilik segmentlerini etkileyen travmalarda ön ekstremitenin adım uzunluğunda artışa neden olabilirken, C6-T2 omurilik segmentlerini etkileyenler adım uzunluğunda azalmaya neden olabileceği değerlendirilmelidir (McDonnell, 2001).

Omurilik travması olan hastaların çoğunda spinal reflekslerde bir disfonksiyon meydana gelmektedir. Yapılan muayenelerde tetraparezisi olan bir hastanın ön ekstremitelerinde sağlam refleksler, kranial servikal segmentlerde bir lezyon olduğunu düşündürür. Ön ekstremitelerdeki reflekslerde azalma ise C6-T2 vertebra segmentlerinde kaynaklanan alt motor nöronlarındaki bir patolojiyi gösterir. Ön ekstremitelerde klinik olarak en faydalı ve objektif refleksler fleksör geri çekme refleksleridir. Ayrıca ön ekstremitelerde azalmış olan geri çekme refleksleri muayene sırasında C1-C5 omurilik segmentlerindeki bir lezyonla ilişkilendirilir (Forterre, 2008). Kas tonusu muayenesi spinal reflekslere benzer şekilde yorumlanır. Lezyonun lokalizasyonuna göre hipotoni, atoni veya hipertoni olabilir (McDonnell, 2001). Servikal travma hastalarında karşılaşılan bir diğer klinik belirti kas atrofisidir. Ön ekstremitelerin nörojenik atrofisinde hastalığın başlangıcından sonraki 7 gün içinde semptom gösterir ve kemik çıkıntılarının görülebileceği kadar şiddetli olur. Ekstremitenin kullanılmaması sonrası oluşan atrofiler ise C6-T2 segmentlerinin kranialindeki merkezi sinir sistemini etkileyen bir lezyona işaret eder ve belirgin hale gelmesi için hastalığın birkaç hafta

sürmesi gerekir (McDonnell, 2001). Servikal travma hastalarında boyun ağrısı hayvanın duruşundan veya davranışlarından anlaşılabilir, ancak sadece dikkatli bir fiziksel muayene ile tespit edilebilir. Servikal procesus spinosuslara veya procesus transversuslara yapılan basınç ile muayene gerçekleştirilir. Palpasyonda omurgada eğrilik, kitle, şişlik, kas atrofisi palpe edilmelidir (Thomas, 2010). Ayrıca servikal vertebra travmalı hastalarda görülen semptomlardan biri idrar ve dışkı inkontinansıdır. Bu durum özellikle ikinci torakal vertebra kaudalinde yer alan travmalar sonucu meydana gelmektedir (Chen, 2005).

### 3. Vertebral Travma Hastalarında Görüntüleme Yöntemleri

#### 3.1. Direk Radyografi

Radyografik muayene klinik ve nörolojik muayeneler yapıldıktan sonra hastanın ilgili vertebra bölgesine odaklanılarak yapılan en yaygın muayene yöntemidir (Johnston, 2018). Radyografi kemik dokuya ile ilgili kırık, çıkık, diskospondilitis, tümörler, doğumsal anomaliler, dejeneratif değişiklikler ve disk hernilerine ilişkin lezyonların belirlenmesinde bilgi verir (İntaş, 2016).

Röntgen çekilirken hastada spinal hasara neden olmamak için mümkün olduğu kadar radyografiler hastayı hareket ettirmeden ya da sedasyon altında alınmalıdır. Ayrıca vertebral stabiliteyi bozmamak için sert bir zeminde, hareketsiz, düz ve ortograt olarak radyografiler alınmalıdır (İntaş, 2016) (Şekil 2, 3).



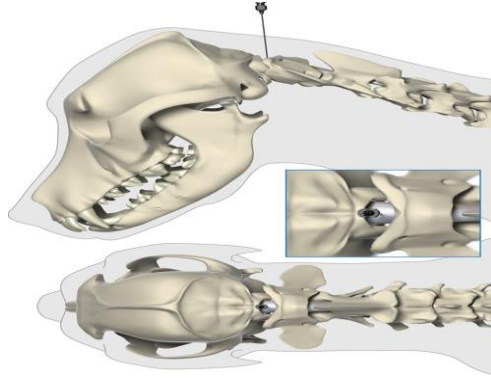
Şekil 2. Bir köpekte atlantoaxial eklem luksasyonu (İntaş, 2016).



Şekil 3. C7-T1 intervertebral aralıkta ileri derecede daralma ve spondilozis oluşumu (İntaş, 2016).

### 3.2.Myelografi

Spinal hastalıkların tanısı için kontrast maddenin (iyoheksol, 0,25-0,45 mL/kg) atlantooxipital subaraknoid boşluğa enjekte edilmesi ile medulla spinalisin görüntülenmesini sağlayan yöntemdir (McCartney, 1997). Kontrast madde enjeksiyonundan sonra çift pozisyon radyografiler alınmalıdır (İntaş, 2016) (Şekil 4, 5).



Şekil 4. Atlantooxipital subaraknoid boşluğa giriş yöntemi (Dewey, 2016).



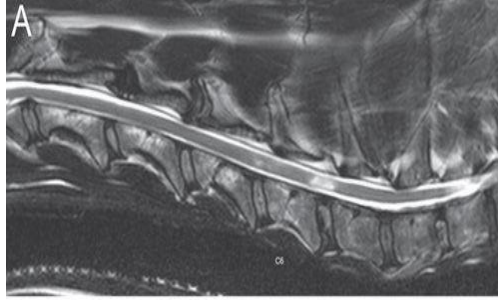
Şekil 5. Servikal myelogram radyografisi (Dewey, 2016).

### 3.3.Manyetik Rezonans (MR)

Manyetik rezonans, yumuşak dokuların yüksek çözünürlüklü görüntülerini elde etmek için güçlü bir manyetik alan ve aralıklı radyo frekansı darbelerinin bir kombinasyonunu kullanan görüntüleme yöntemidir. Manyetik rezonans görüntüleme yöntemi ile omirilik ödemi, omirilik kanaması, travmatik intervertebral disk hernisi ve yumuşak doku yapılarına verilen hasarın değerlendirilmesinde kullanılır (Nicholes ,2005). Bu yöntemin



en büyük avantajı tomografiden farklı olarak transversal, sagittal ve dorsal gibi çeşitli boyutlarda detay bilgi verebilmesidir (Dewey, 2016) (Şekil 6).



Şekil 6. Servikal MR görüntüsü (Dewey, 2016).

### 3.4.Bilgisayarlı Tomografi (BT)

Bilgisayarlı tomografi lezyonlu bölgeyi duyarlı seçici sensörler tarafından kaydederek, bilgisayar analizinden geçirip görüntüleme yöntemidir. Digital olması nedeniyle lezyonlu bölgeyi daha iyi göstererek farklı yoğunluklarda yeni görüntüler elde edilebilmektedir. BT tarayıcıları, yumuşak doku, mineralize disk hernilerinde, vertebral neoplazilerde ve servikal spondilomiyelopati ve kemik yapılarının yüksek çözünürlüklü görüntülerini elde etmek için dönen bir çift X-ışını tüpü ve dedektör kullanır (Dewey, 2016) (Şekil 7).



Şekil 7. BT makinesinin portalındaki hasta (Dewey, 2016).

### 4.Lezyonların Lokalizasyonu

Travma sonrası hastaya uygulanan fiziksel ve nörolojik muayenelerin amacı omurilik lezyonlarının yerini tespit edebilmektir. Bu amaç ile omurilik 4 ana bölümde incelenir (Eravcı, 2012).

Bu bölümler;

- AC1/C5,
- C6/T2,
- T3/L3,
- L4/S3 olmak üzere dört bölümdür (Eravcı, 2012).

C1/C5 segmentlerindeki lezyonlar dört ekstremitayı ya da herhangi bir ekstremitayı lokal olarak etkileyebilir. Klinik semptom olarak boyunda ağrı, ataksi, solunum depresyonu gözlenebilir. Ayrıca hastalar adım atarken ayaklarını sürdüğü, ayağa kalkamama ve proprioseptif kayıp gibi klinik semptomlar gözlenebilir. Hafif olgularda hastalar ayaklarının dorsal yüzü ile yere dokunur ve ayaklarını yere sürerek yürür. Şiddetli olgularda ise propriosepsiyon kaybının yanında istemli hareket ve idrar kesesi disfonksiyonu bozulduğu için prognoz olumsuzdur (Parent, 2010).

C6/T2 segmentlerindeki lezyonlarda hasta yürütüldüğünde ön ekstremitelerdeki bulgular daha belirgindir. Pedal reflekslerde azalma ve zayıf bir geri çekme gözlenir. Şiddetli travmalarda interkostal kaslarda paraliz sonucu inspirasyon sırasında göğüs kafesi daralır, ekspresyon sırasında genişler (Önyay, 2016).

## 5.Konservatif Tedavi

Birçok vertebral kırık cerrahi ve cerrahi olmayan yöntemlerin beraber kullanılması ile tedavi edilir. Cerrahi stabilizasyon yapıp yapılmaması göz önünde bulundurulmadan hastalara kafes istirahati önerilir. Kafes istirahati ile yumuşak dokuların iyileşmesini sağlamak ve vertebralara erken yüklenmeyi en aza indirmek için genellikle 4-6 hafta arası uygulanır (Dewey, 2016). Operatif tedavi seçenekleri dışında kalan yöntemler anestezi, spinal manipülasyon ve cerrahi implantlarla ilgili komplikasyonları önler. Ayrıca maliyet açısından eksternal splintlerin kullanımı cerrahi müdahalelerden daha ucuz olabilir (Johnston, 2018).

Minimal nörolojik fonksiyon bozukluğu olan ve torasik, abdominal veya pelvik yaralanmaların olmadığı hastalar splint uygulanması için idealdir (Patterson, 1992). Atel uygulamasının amacı hastanın vertebral segmentlerini hareketsiz kılmaktır (Bagley, 2000). Bazı köpekler splint nedeniyle tedirgin ve rahatsız olduklarından bu uygulama için uygun olmayabilirler (Bagley, 2000). Kediler genel olarak atelleri iyi tolere edemezler (Johnston, 2018). Dış splintler, hastada dekübital ülserlere ve splintin kayması gibi komplikasyonlara yol açabilir. Atelin yer değiştirmesi vertebral instabiliteye neden olarak daha büyük hasarlara neden olabilir (Patterson, 1992) (Şekil 8).



**Şekil 8.** Konservatif tedavi amacı ile bandaj uygulaması (Dewey, 2016).

## **6.Dorsal Yaklaşım Tekniği**

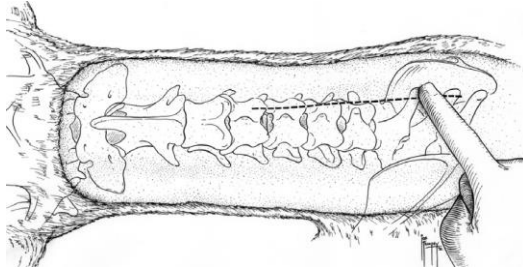
### **6.1.Dorsal Laminektomi**

Dorsal laminektomi medulla spinalisin tüm dorsal yüzeyine kolay erişim sağlayarak medulla spinalisteki baskıyı ve kompresyona neden olan lezyonların çıkarılması amacıyla uygulanan cerrahi yaklaşımdır. Dorsal laminektomi ile birlikte vida ve pin uygulanarak eklem stabilizasyonu sağlanabilir. Bu teknik omurilikte kompresyona neden olan lezyonun primer olarak dorsalde veya dorsolateralde bulunması durumunda veya birden çok noktada lezyon olması durumunda fayda sağlar (Dewey, 2017).

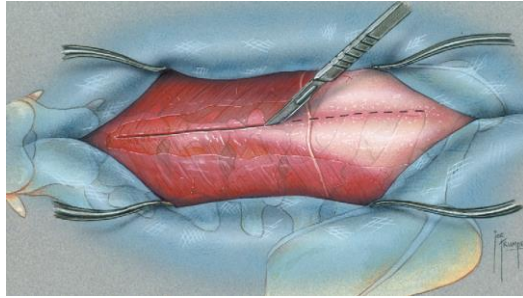
Hasta sternal pozisyonda yatırılır. Baş, boyun ve vertebral kolonun sola veya sağa rotasyonu oluşumunu en aza indirecek şekilde konumlandırılır. Baş ve boynu daha iyi stabilize etmek için cerrahi olarak hazırlanmış alana kraniyal ve kaudal yapışkan bant eklenebilir. Ön ekstremiteler kraniyale doğru konumlandırılır. Ensizyon hattı kraniyal olarak oksipital çıkıntı, atlasın kanatları ve spinöz prosesi ve kaudal olarak T1 ve C7'nin spinöz prosesi olarak belirlenir. Deri ensizyonundan sonra rhomboideus ve trapezius kasları ensize edilir (Bruce , 2008). Kasların ensizyonundan sonra ortaya çıkan ligamentum nucha üzerine ensizyon yapılarak ekarte edilir. Daha sonra vertebraların procesus spinosusları açığa çıkarılır (Bagley, 2000). Servikal vertebraların dorsal prosesus spinozusları ortaya çıkartıldıktan sonra ronjurlarla uzaklaştırılır. Sonrasında dorsal lamina dikkatlice uzaklaştırılır. Spinal kanala girildikten sonra kalan lamina ve ligamentum flavum dikkatlice kesilir ve uzaklaştırılır (Shores, 2017). Bu işlemler esnasında eklem yüzleri korunmalıdır. Eklem kapsülü ve ligmentum flavum omurilikte dekompresyonu sağlamak için kesip çıkartılır (Shores, 2017) ( Şekil 9-13).



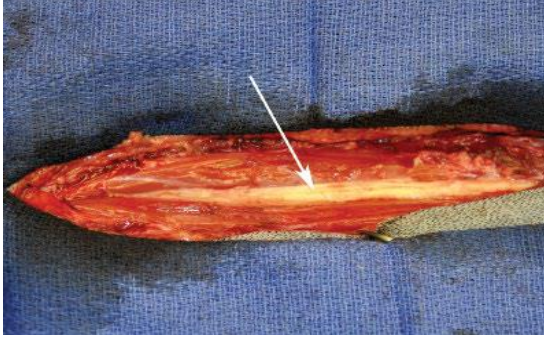
Şekil 9. Dorsoventral konumlandırılmış hasta (Nicholes, 2005).



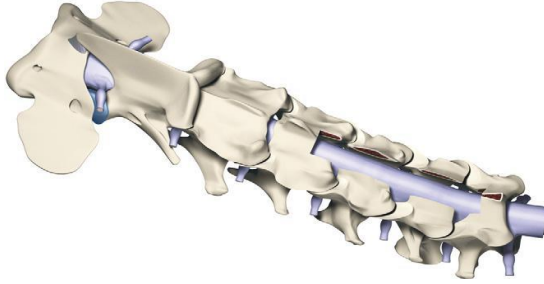
Şekil 10. Dorsal laminektomi ensizyon bölgesi (Nicholes, 2005).



Şekil 11. Deri ve Kasların ensizyon bölgeleri (Nicholes, 2005).



Şekil 12. Ligamentum nucha (Bruce, 2008).

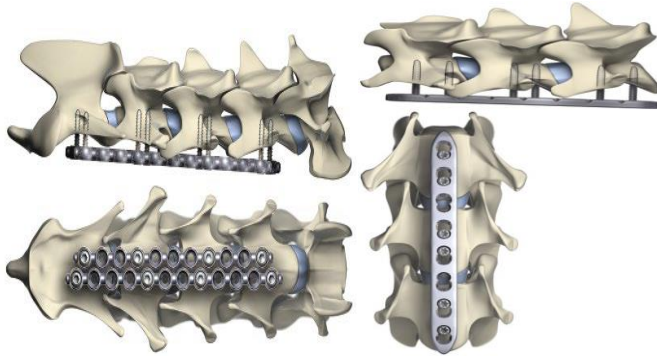


Şekil 13: Dorsal laminektomi (Nicholes, 2005).

## 7.Servikal Kırıklar ve Luksasyonlar

Servikal omurgadaki yaralanmalar, diğer spinal segmentlerdeki travmalara oranla daha az görülür . C2 vertebra diğer servikal vertebralara oranla daha yoğun bir şekilde travmalardan etkilendiği bildirilmiştir (Bruce, 2008). C2 vertebra gövdesi özellikle fleksiyon-kompresyon travmaları durumunda yaralanmaya yatkındır. Servikal vertebral kanalın omurilik çapına oranı diğer vertebralara oranla büyük olduğundan, servikal omurga kırıklarının daha az ciddi nörolojik sonuçları olabilir. Bu nedenle disloke servikal kırıklar veya nörolojik durumu kötüleşen hayvanlar dışındaki travma hastaları için öncelikle medikal tedavi düşünülebilir (Gaitero, 2009).

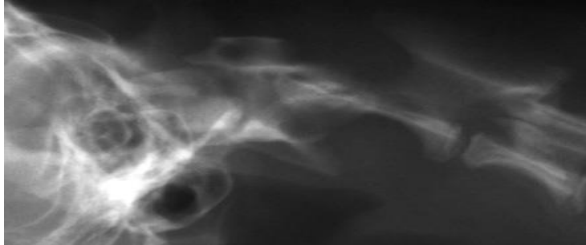
Servikal kırıklar için cerrahi tedavi raporları az olsa da, cerrahinin perioperatif mortalite oranının yüksek olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda bu oranının %36'ya kadar çıktığı tespit edilmiştir (Hawthorne, 1999). Bu vakalarda ölüm nedeni kardiyopulmoner arrest olarak belirtilmiştir. Solunum disfonksiyonu, servikal omurilik bozuklukları olan hastalarda C3-C5 sinir köklerinden kaynaklanan lezyonlara bağlı diyafraim disfonksiyonu olsun veya olmasın, interkostal kas innervasyon disfonksiyonuna sonucu olduğu belirlenmiştir (Beal, 2001) (Şekil 14).



**Şekil 14.** Monokortikal vida, plaka stabilizasyonu ve kilitleme plaka sistemleri (Shores, 2017).

### 7.1. Atlantoaxial Subluksasyon

Atlantoaxial subluksasyon özellikle küçük ırk köpek cinslerinde (pomeranian, poodles vb.) görülen bir hastalıktır. Hastalık kalıtsal olarak ya da travma sonrası ortaya çıkabilir. Özellikle köpeklerde dorsal ve ventral yaklaşım teknikleri ile sağaltım başarılı bir şekilde uygulanabilir (Platt, 2004). Ancak dorsal yaklaşım tekniğinin kullanılması sonucu hastalarda postoperatif nörolojik disfonksiyon oranının ventral yaklaşım tekniğine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Shores, 2017) (Şekil 15).

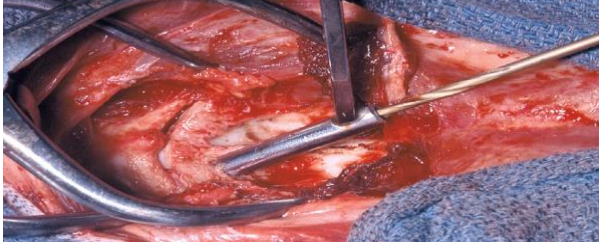


**Şekil 15.** Atlantoaxial luksasyon radyografisi (Nicholes, 2005).

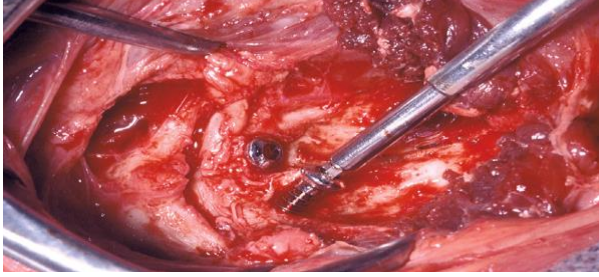
### 7.2. Ventral Yaklaşım Tekniği ile Vida Uygulaması

Kranialde larenksten manubriuma doğru bir ensizyon yapılır. Sternohiyoideus kasları ekarte edilir ve sağ sternotiroideus kası tiroid kıkırdağına yakın yerden ensize edilir (Nicholes, 2005). Trakea, özofagus ve sol arteria karotis sol tarafa doğru ekarte edildikten sonra cervical vertebralara ulaşılır. Daha sonra atlas kemiğinin arcus ventralisi palpe edilir. Atlanto-axial eklem açılır. Uygulanacak vidalar C1 ve C2 vertebraların caudal columna kısmına yerleştirilir (Thomas, 1991). Vidalar yerleştirilirken vertebranın orta hattından 30 derece dorsalden 20 derecelik bir açıyla konumlandırılır. Vidalar

5-8 mm uzunluğunda olmalıdır. Ayrıca alternatif olarak kemik çimentosu kullanılabilir. En az iki adet vida ya da pin önceden drillenmiş deliklere kırık ve luksasyon bölgelerine yerleştirilir (Nicholes, 2005) (Şekil 16-18).



Şekil 16. Cervikal vertebraya dril uygulaması (Nicholes, 2005).



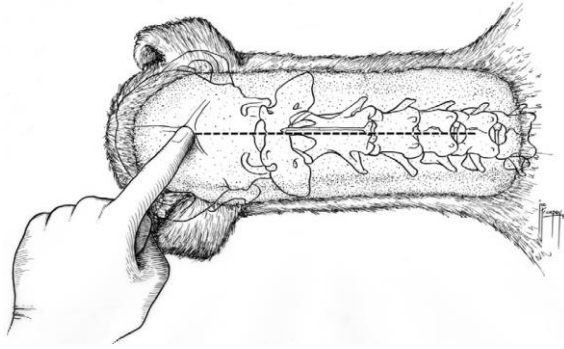
Şekil 17. Vertebral vida uygulaması (Nicholes, 2005).



Şekil 18. Postoperatif radyografi- cervical vertebral vida uygulaması (Nicholes, 2005).

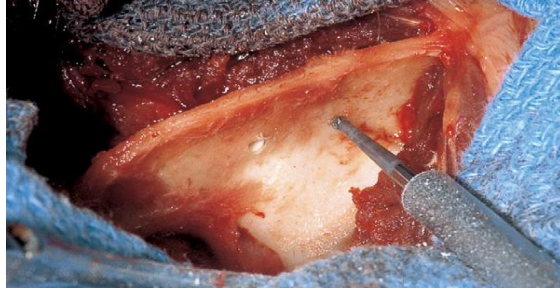
### 7.3.Dorsal Serklaj Tekniği ile Fiksasyon

Hasta dorsoventral konumda operasyon masası üzerine sabitlenir. ensizyon oksipital çıkıntı üzerinden başlanarak median hattın hemen dışından yapılır (Johnston, 2018) (Şekil 19).



**Şekil 19.** Dorsal serklaj tekniği için ensizyon hattı (Nicholes, 2005).

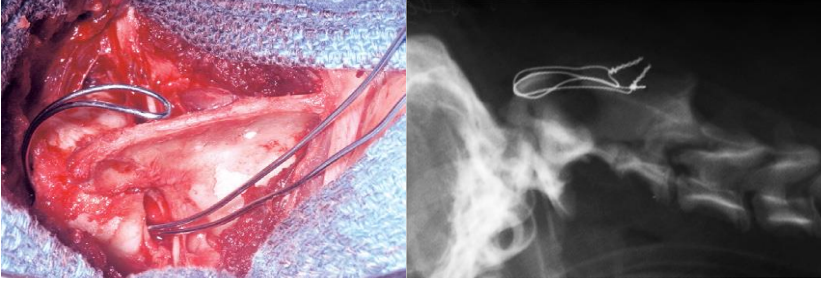
Ensizyon yapılırken boyunun bükülmemesi gerektiğine dikkat edilmelidir. C2'nin processus spinosus kısmına drilleme işlemi uygulanır (Johnston, 2018) (Şekil 20, 21).



**Şekil 20.** C2'nin processus spinosus kısmına drilleme işlemi (Nicholes, 2005).

C1 ve C2 arasındaki vertebral kanala erişim sağlamak için periost ve yumuşak dokular dissekte edilir. C1 vertebral kanal altından kranial yönde bir serklaj tel geçirilir. Omuriliğe baskıdan kaçınılmalıdır. Serklaj atlantookspital boşluktan alınır ve daha önce açılmış deliklerden geçirilerek fiksasyon sağlanır (Dewey, 2016).

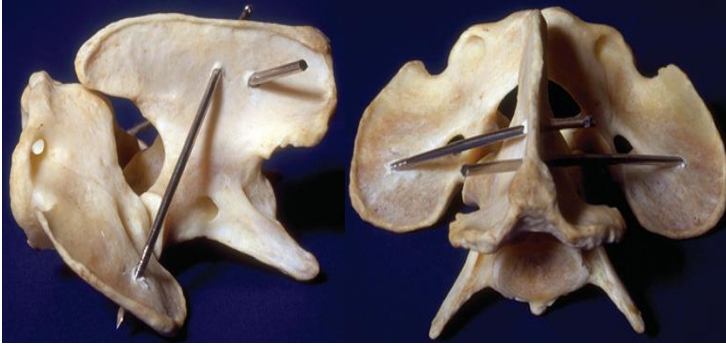




Şekil 21. Dorsal serklaj tekniği ile fiksasyon (Nicholes, 2005).

#### 7.4.Dorsal Cross-Pin Fiksasyonu

Bu yöntem dorsal serklaj tekniğinden daha güçlü bir stabilizasyon sağlar. Omurluk travması riski taşımaz ve herhangi bir fiksasyon başarısızlığı için faydalı bir kurtarma seçeneğidir (Jeffery, 1996). Dezavantajı, C2'nin procesus spinosusuna dayanmasıdır. C1 sinir kökü ve foramen transversiumdan çıkarken vertebral arterden kaçınmak için dikkatli olunmalıdır. Pin C2'nin proc. spinosusun her iki tarafına ventrolateral yönde uygulanır. İyi bir stabilizasyon sağlamak için pinleri genellikle C1 ve C2 arasında hafifçe eğilmesi gerekir. Daha sonra pinlerin açıkta kalan kısımlarına kemik çimentosu uygulanır, ancak küçük ırk köpeklerin kemiklerinde termal nekroz riskini azaltmak için çimento ile C2'nin proc. spinosusu arasında doğrudan temastan kaçınılmalıdır (Johnston, 2018) (Şekil 22).



Şekil 22. Dorsal cross-pin fiksasyonu (Nicholes, 2005).

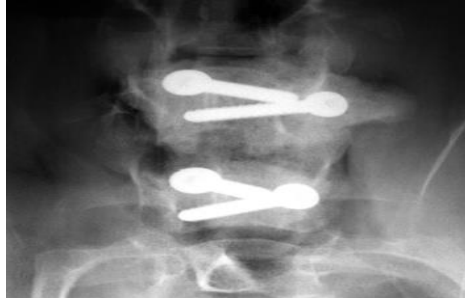
#### 7.5.C2-T1 Kırıkları ve Luksasyonları

Axis, servikal vertebralar arasında en sık kırılan vertebradır. Servikal omurganın kırıkları ve luksasyonları vertebral vidalar, pinler ve vida uygulamaları ve polimetilmetakrilat (PMMA) ile kombine ile stabilize edilir (Johnston, 2018). Yaklaşım için larenksten manubriuma bir ensizyon yapılır. Sternohiyoideus ve sternoccephalicus kasları ekarte edilir . A. carotis

communis, trachea ve özafagus sol tarafa ekarte edilir. C6'nın proc. transversus ventrale doğru yöneldiğinden cerrahi bölge bu şekilde tespit edilebilir. Redüksiyon bir ekartör veya hafif traksiyon ile gerçekleştirilir. Uygulanacak pinler, vidalara oranla daha sıkı tutunma sağlamasına rağmen yanlışlıkla vertebra kanala veya invertebral foramene girme ihtimali yüksektir. İmplant gönderilme açıları 30, 35 ve 40 derece olarak yapılan çalışmalarda değerlendirme sonucu sırasıyla %42, %59 ve %67 güvenli bulunmuştur. İmplantın uygulama açısının artması implantın kemiği kavramasını azaltacağı ve vertebral arterin zarar görme riskini arttıracığı unutulmamalıdır (Johnston, 2018).

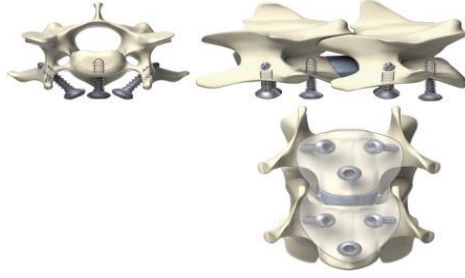
### 7.6. Monocortical Vida ve PMMA Fiksasyonu

Monokortikal vida ile PMMA ventral yaklaşım, fiksasyonu için kullanılır. Vida pozisyonu vertebra gövdesine göre mümkün olduğunca kranial veya kaudal olmalıdır. Vida kaudoventral/kraniodorsal açı ile disk aralığına paralel olarak yönlendirilmelidir. Orta ile büyük cins köpekler genellikle 3.5 mm kortikal vidalar uygulanırken, daha küçük köpekler ve kediler için 2.0 mm veya 2.7 mm vidalar daha uygundur (Agnello, 2010) (Şekil 23).



Şekil 23. Monocortical vida uygulaması (Nicholes, 2005).

Vidaların vertebral kanalı yanlışlıkla delmesini önlemek için kendinden kılavuzlu vidalar tercih edilir. Kemiğin boyutuna ve instabilite derecesine bağlı olarak gerektiğinde her bir vertebra gövdesine iki ila dört vida yerleştirilebilir. Vida uzunluğu, PMMA'ya dahil edilecek yaklaşık 10-15 mm vida çıkıntısına izin verecek kadar olmalıdır. PMMA 1-1,5 cm kalınlığında olmalıdır. PMMA yüksekliğinin m. longus colli seviyesinin üzerine çıkarılması önerilmez, çünkü çıkıntı yapan çimento yemek borusu veya soluk borusuna baskı uygulayabilir ve yutma güçlüğüne ve solunum belirtilerine neden olabilir (Hettlich, 2013) (Şekil 24).

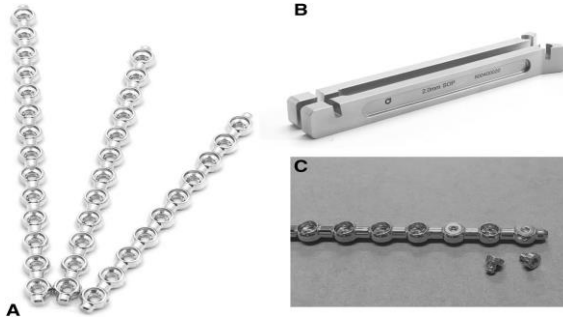


**Şekil 24.** Servikal omurgada PMMA ile monokortikal bikortikal vida fiksasyonu (Nicholes, 2005).

## 8.Servikal Vertebral Plakalar

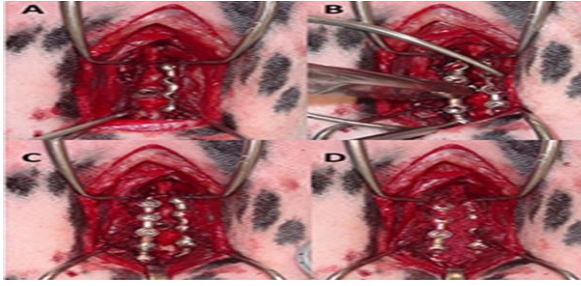
### 8.1.Zincir Plakalar (SOP)

Zincir plakalar özel geliştirilmiş kilitleme plakalarıdır. SOP plağı her yönde şekillendirilebilir, bu da onu çok yönlü bir implant haline getirir. SOP plakaları mümkün olan en az şekillendirme ile uygulanmalıdır. SOP plakası ile birden fazla vertebra gövdesine uygulanabilir. Ayrıca stabilizasyonu güçlendirmek için iki plaka yan yana yerleştirilebilir (Voss, 2006) (Şekil 25).



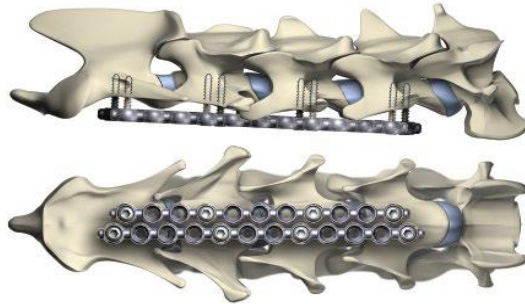
**Şekil 25.** SOP plakaları (Field, 2018).

Etkilenen servikal vertebra corpusunun ventral kısmına uygun boyut ve uzunlukta SOP plakası seçilir (küçük ile orta boy köpekler için 2.0 mm büyük ırk köpekler için 3.5 mm). Bir intervertebral diske vida yerleştirmekten kaçınmak için özen gösterilmelidir (Shores, 2017) (Şekil 26).



Şekil 26. Zincir plaka uygulaması (SOP) (Solano, 2015).

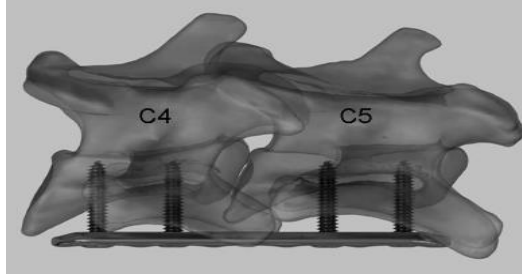
Vida deliği aralığı istenildiği gibi uymuyorsa, farklı boyutta bir SOP düşünülebilir veya birincisine bitişik ikinci bir SOP plağı uygulanabilir. Kilitleme mekanizmasını uygulamak ve uygun vida yerleşimi için özel matkap kılavuzları gereklidir. Bu, vidaları plakaya dik olarak kemiğe yerleştirmeye olanak sağlayacaktır. Derinlik ölçümü sırasında, SOP plağı bir miktar basınçla ve uygun konumda tutulmalıdır, çünkü plak vidaları bir kez uygulanmalıdır. Aynı plak bölgesine birden fazla uygulama plakayı kemiğe doğru çekmeyecektir (Voss, 2006) (Şekil 27).



Şekil 27. Monokortikal vida fiksasyonu ile servikal omurganın ventral yönüne iki (SOP) plak uygulaması (Nicholes, 2005).

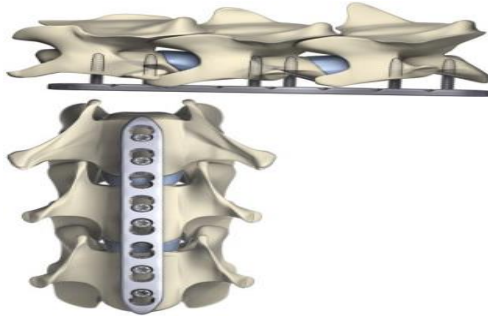
## 8.2.Kilitli Kompresyon Plağı (LCP)

LCP, geleneksel kortikal vidaların yanı sıra kilitleme vidalarının yerleştirilmesine izin veren hibrit deliklere sahiptir (Shores, 2017).



Şekil 28. Kilitli Kompresyon plak uygulaması (Agnello, 2010).

LCP delikleri, kilitleme vidalarının kafasına uyum sağlayan dişlere sahiptir. Vidanın doğru pozisyonunu sağlamak için kılavuzlu dril kullanılır. LCP'ye özgü kilitleme vidaları kendinden kılavuzludur (Nicholes, 2005). Kilitleme vidaları kullanılırken plak ve kemik arasında yüksek derecede temasa gerek yoktur. LCP'deki kilitleme vidaları plakaya dik olarak yerleştirilir. Yanlış yerleştirilmiş vidalardan kaçınmak için ameliyat öncesi dikkatli planlama ve uygun implant boyutu ve uzunluğunun seçilmesi önemlidir (Voss, 2006) (Şekil 28, 29).



Şekil 29. LCP plak ve monokortikal vida fiksasyonu (Nicholes, 2005).

## 9. Postoperatif Bakım

Postoperatif hasta yönetimi özellikle vertebral instabiliteye sahip hastalarda yoğun emek ve zaman alıcı olabilir. Bu hastalarda ağrı yönetimi operatif ya da konservatif yöntemle tedavi edilen hastalar için çok önemlidir. Bu amaç ile opioidler preoperatif ve postoperatif etkili bir ağrı kontrol yöntemidir. Morfin, hidromorfin ve fentanil gibi agonistler güçlü analjezik etkilere sahiptirler (Kwee, 2015). Ancak opioidler bulantıya, solunum depresyonuna ve idrar retensiyonuna neden olabilirler. Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlarda ağrı yönetimi için kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçlar gastrointestinal irritasyon/ülserasyon, hepatoselüler hasar ve böbrek yetmezliğine neden olabilirler. Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar

hemodinamik olarak stabil olmayan travma hastalarında dikkatli kullanılmalıdır, çünkü hipoperfüzyon yan etki olasılığını artırabilir. Omurilik yaralanması olan hastaların bir tür gastrointestinal irritasyon gösterme eğilimi, nonsteroid antiinflamatuar ilaçların dikkatle kullanılması gerektiği anlamına gelir (Barton, 2000; Hinton, 2002). Postoperatif hastaların bakımları son derece özenli ve dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Hastaların temiz ve kuru tutulmasına, yumuşak altlıkla barındırılmasına özen gösterilmelidir. İdrar ve dışkının neden olduğu cilt tahrişinden korunma amacı ile hasta düzenli olarak yıkanmalıdır. Ayrıca hastaları atelektazi, pnömoni ve dekübital yaralardan korumak adına farklı yarı pozisyonları uygulanmalıdır. İstemli motor aktivite fonksiyonu az olan hastaların idrar kesesi el manipülasyonu ya da kateterizasyon ile düzenli olarak boşaltılmalıdır (Johnston, 2018).

## KAYNAKÇA

- Agnello, K. A., Kapatkin, A. S., Garcia, T. C., Hayashi, K., Welihozkiy, A. T., Stover, S. M. (2010). Intervertebral Biomechanics Of Locking Compression Plate Monocortical Fixation Of The Canine Cervical Spine. *Vet Surg*, 39(8), 991-1000. <https://doi.org/10.1111/J.1532-950X.2010.00755.X>
- Bagley, R.S. (2000). Spinal Fracture Or Luxation. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 30(1), 133-153. [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(00\)50006-0](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(00)50006-0)
- Barton, A.E, Bayley, D. L., Mikami M, Et Al. (2000). Phenotypic Changes In Neutrophils Related To Antiinflammatory Therapy. *Biochim Biophys Acta*, 3, 1500(1), 108-18.
- Beal, M. W., Paglia, D. T., Griffin, G. M., Hughes, D., & King, L. G. (2001). Ventilatory Failure, Ventilator Management, And Outcome In Dogs With Cervical Spinal Disorders: 14 Cases (1991–1999). *Journal Of The American Veterinary Medical Association*, 218(10), 1598-1602.
- Bruce, C.W., Brisson. B. A., Gyselinch K. (2008). Spinal Fracture And Luxation In Dogs And Cats: A Retrospective Evaluation Of 95 Cases. *Vet Comp Orthop Traumatol*, 21(3), 280-284.
- Can, P. (2016). Omurilik Hasarında Güncel Tedavi Yöntemleri. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Surg-Special Topics*, 2(3),45-49.
- Chen, A. V., Bagley, R. S., West, C. L., Gavin, P. R., Tucker, R. L. (2005). Fecal Incontinence And Spinal Cord Abnormalities In Seven Dogs. *Journal Of The American Veterinary Medical Association*, 227(12), 1945-1951.
- Dewey C.W. Torakolumbal Vertebra Cerrahisi. Fossum TW. editör. Küçük Hayvan Cerrahisi. Malatya: Medipres; 2017.
- Dewey C. W., da Costa R.C. Ducote J.M. Neurodiagnostics. Dewey CW, Da Costa R.C. Editors. Practical Guide To Canine And Feline Neurology, New Jersey: Wiley-Blackwell; 2016.
- Dyce K. M., Sack W.O. Textbook Of Veterinary Anatomy. 4<sup>th</sup> Edition, Amsterdam: Elsevier Health Sciences; 2009.
- Eravci, E., Demirutku, A., Mutlu, Z., Devecioğlu, Y., & Aktaş, M. (2012). Kraniyal Sinirler Ve Klinik Muayenesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(3).
- Field, M. R., Butler, R., Wills, R. W., & Maxwell, W. M. (2018). Retrospective Evaluation Of Perioperative And Short Term Clinical

- Outcomes In Appendicular Long Bone Skeleton Fractures Repaired Via The String Of Pearls (SOP) Locking Plate System. *BMC Veterinary Research*, 14, 1-9.
- Forterre, F., Konar, M., Tomek, A., Doherr, M., Howard, J., Spreng, D., Vandavelde, M., Jaggy, A. (2008). Accuracy Of The Withdrawal Reflex For Localization Of The Site Of Cervical Disk Herniation In Dogs: 35 Cases (2004–2007). *Journal Of The American Veterinary Medical Association*, 232(4), 559-563.
- Gaitero, L., Añor, S. (2009). Cranial Thoracic Disc Protrusions In Three German Shepherd Dogs. *The Veterinary Journal*, 182(2), 349-351.
- Hawthorne, J. C., Blevins, W. E., Wallace, L. J., Glickman, N., Waters, D. J. (1999). Cervical Vertebral Fractures In 56 Dogs: A Retrospective Study. *Journal Of The American Animal Hospital Association*, 35(2), 135-146.
- Henke, D., Gorgas, D., Flegel, T., Vandavelde, M., Lang, J., Doherr, M. G., Forterre, F. (2013). Magnetic Resonance Imaging Findings In Dogs With Traumatic Intervertebral Disk Extrusion With Or Without Spinal Cord Compression: 31 Cases (2006–2010). *Journal Of The American Veterinary Medical Association*, 242(2), 217-222.
- Hettlich, B. F., Allen, M. J., Pascetta, D., Fosgate, G. T., Litsky, A. S. (2013). Biomechanical Comparison Between Bicortical Pin And Monocortical Screw/Polymethylmethacrylate Constructs In The Cadaveric Canine Cervical Vertebral Column. *Veterinary Surgery*, 42(6), 693-700.
- Hinton, L. E., McLoughlin, M. A., Johnson, S. E., Weisbrode, S. E. (2002). Spontaneous Gastroduodenal Perforation In 16 Dogs And Seven Cats (1982–1999). *Journal Of The American Animal Hospital Association*, 38(2), 176-187.
- Hurlbert, R. J. (2006). Strategies Of Medical Intervention In The Management Of Acute Spinal Cord Injury. *Spine*, 31(11S), S16-S21.
- İntaş, D., Çelimli N.,Kramer, M.(2016). Spinal Hastalıklarda Görüntülü Tanı. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Surg-Special Topics*, 2(3),18-29.
- De Iuliis D., Pulerà D. The Dissection Of Vertebrates. Second Editdon. Academic. Elsevier Science; 2019.
- Jeffery, N. D. (1996). Dorsal Cross Pinning Of The Atlantoaxial Joint: New Surgical Technique For Atlantoaxial Subluxation. *Journal Of Small Animal Practice*, 37(1), 26-29.



- Platt S.R., Da Costa R.C. Cervical Vertebral Column and Spinal Cord. Johnston S.A., Tobias K.M, Editors. Veterinary Surgery: Small Animal Expert Consult. Missouri: Elsevier; 2018.
- König H.E., Liebich H.G., Maierl J. Veterinary Anatomy Of Domestic Mammals: Text Book And Colour Atlas (Third Edition). Schattauer Verlag; 2007.
- Kwee, M. M., Ho, Y. H., & Rozen, W. M. (2015). The Prone Position During Surgery And Its Complications: A Systematic Review And Evidence-Based Guidelines. *International Surgery*, 100(2), 292-303.
- Mccartney, W. T. (1997). Lumbar Myelography In 79 Dogs, Using Different Puncture Sites. *Veterinary Record*, 141(16), 417-419.
- Mcdonnell, J. J., Piatt, S. R., Clayton, L. A. (2001). Neurologic Conditions Causing Lameness In Companion Animals. *Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice*, 31(1), 17-38.
- Nicholes J, Wheller S. Small Animal Spinal Disorder Diagnosis And Surgery 2nd Edition.Elsevier Health; 2005.
- Önyay, T., İnal S. K., Özbakir B. D. (2016). Spinal Hastalıklarda Klinik Muayene, *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Surg-Special Topics*, 2(3), 6-12.
- Parent, J. (2010). Clinical Approach And Lesion Localization In Patients With Spinal Diseases. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 40(5), 733-753.
- Patterson, R. H., Smith, G. K. (1992). Backsplinting For Treatment Of Thoracic And Lumbar Fracture/Luxation In The Dog: Principles Of Application And Case Series. *Veterinary And Comparative Orthopaedics And Traumatology*, 5(04), 179-187.
- Platt, S. R., Chambers, J. N., Cross, A. (2004). A Modified Ventral Fixation For Surgical Management Of Atlantoaxial Subluxation In 19 Dogs. *Veterinary Surgery*, 33(4), 349-354.
- Hettlich B., Vertebral Fracture And Luxation Repair. Shores A, Brisson B. A.,Editors. Current Techniques In Canine And Feline Neurosurgery, John Wiley; 2017.
- Simpson, S. A., Syring, R., Otto, C. M. (2009). Severe Blunt Trauma In Dogs: 235 Cases (1997–2003). *Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care*, 19(6), 588-602.
- Solano, M. A., Fitzpatrick, N., Bertran, J. (2015). Cervical Distraction-Stabilization Using An Intervertebral Spacer Screw And String-Of Pearl (SOP™) Plates In 16 Dogs With Disc-Associated Wobbler Syndrome. *Veterinary Surgery*, 44(5), 627-641.

- Thomas, W. B. (2010). Diseases of the brain. Preface. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 40(1), ix-x.
- Thomas, W. B., Sorjonen, D. C., Simpson, S. T. (1991). Surgical Management Of Atlantoaxial Subluxation In 23 Dogs. *Veterinary Surgery*, 20(6), 409-412.
- Voss, K., Steffen, F., & Montavon, P. M. (2006). Use Of The Compact Unilock System For Ventral Stabilization Procedures Of The Cervical Spine. *Veterinary And Comparative Orthopaedics And Traumatology*, 19(01), 21-28.



## BÖLÜM 11

### KEDİLERDE ASİTESE KLİNİK YAKLAŞIM

Arş. Gör. Mahsum BAŞAK<sup>1</sup>

Doç. Dr. Gülşah AKGÜL<sup>2</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408098>

<sup>1</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Siirt, Türkiye.  
mahsum.basak@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-1257-8283

<sup>2</sup>Siirt Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Klinik Bilimler Bölümü, Siirt, Türkiye.  
gulsahakgul@siirt.edu.tr, Orcid ID: 0000-0003-4804-6502



## GİRİŞ

Vücutun en büyük membranı olan periton, peritoneal kavitedeki sıvılar ile ekstrasellüler kompartman arasında yarı geçirgen bir zardır. Bu bariyer kapillar endotel, kapillar bazal membran, interstisyum, mezotel bazal membran ve peritoneal mezotelyumdan meydana gelir ve iki kısımdan oluşur. Visseral periton, peritonun iç organları örten kısmıdır ve parietal periton ise karın duvarını örten kısmıdır. Bu iki tabaka arasındaki alan periton boşluğu olarak isimlendirilir (Alkan, 1999; Samsar ve Akın, 2002). Periton yapraklar parlak, kaygan ve nemlidir. Birincil amaçları organların çalışması sırasında yeterli ıslaklık ve kayganlığı sağlayarak, çalışmalarını kolaylaştırmaktır (Samsar ve Akın, 2002).

Asites, periton boşluğu içinde patolojik bir serbest sıvı birikmesi olayıdır. Asites bir hastalık değil; birçok hastalıkta ortaya çıkabilen ortak bir semptomdur. Asit sıvısı doğası gereği ciddi bir problemdir. Protein ve hücresel içerik bileşimine bağlı olarak transüdat, modifiye transüdat ve eksüdat olarak kategorize edilebilir. Bunlara ek olarak, asites terimi başlıca safra, kan, şilus ve idrardan oluşan sıvı birikimlerini de kapsayacak şekilde genişletilmiştir. (Wright ve ark., 1999; Hall ve ark., 2005).

**Tablo 1.** Asitesin başlıca nedenleri (Tasker ve Gunn-Moore, 2000).

Hidrostatik basınçta artış (aşırı sıvı filtrasyonuna neden olur).
Kolloid ozmotik basınçta azalma (sıvının reabsorpsiyonunda başarısızlıkla sonuçlanır).
Kılcal damarların geçirgenliğinin artması (inflamasyon, erozyon veya travma nedeniyle).
Damar veya organ perforasyonları (travma).
Neoplazi (lenfatik veya venöz drenajın obstruksiyonu yoluyla veya inflamasyon).

## 1. ASİTESLİ HAYVANLARDA MUAYENE

### 1.1. Fiziksel Muayene

Asitesli hayvanlarda fiziksel muayene bulguları asitese neden olan hastalığa ve hastalığın şiddetine göre değişkenlik gösterir. İlk göze çarpan bulgu abdominal gerginlik ve abdominal bölgede şişkinliktir. Palpasyonda karın içinde fluktuan sıvının varlığı hissedilir. Bazen hayvan palpasyona tepki gösterebilir. Anoreksia yaygın olduğundan dehidrasyon bulguları görülebilir

(Turgut, 2000). Asit sıvısının varlığı, diyafram üzerindeki baskı nedeniyle hipoventilasyona ve nefes nefese kalmaya neden olabilir. Büyük hacimli sıvılar, karın içi damarlara yaptığı basınç nedeniyle kalbe venöz dönüşü azaltabilir. Bu da kalp debisinin düşmesine ve periferik perfüzyonun zayıflamasına yol açabilir (Tasker ve Gunn-Moore, 2000).

## 1.2. Laboratuvar Muayene

Asitesli hastalarda mutlaka tam kan testi, serum biyokimyasal profil ve idrar analizi yapılmalıdır. Tam kan sayımında nötrofili, lenfopeni ve anemi gibi spesifik olmayan değişiklikler altta yatan enfeksiyöz veya enflamatuvar süreçleri yansıtabilir (Tasker ve Gunn-Moore, 2000). Asitesli hastaların serum biyokimyasında kalp, karaciğer, böbrek ve pankreas fonksiyonları ile total protein ve albümin konsantrasyonları değerlendirilmelidir. Karaciğer fonksiyon bozukluğunda aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), amonyak ve bilirubin konsantrasyonları artarken albümin (ALB), kolesterol ve glikoz konsantrasyonları azalır. Ayrıca karaciğer fonksiyonları değerlendirilirken koagülasyon profili de incelenmelidir. Safra kaynaklı hastalıklarda gama glutamil transferaz (GGT) ve alkalin fosfataz (ALP) konsantrasyonları da artar (Turgut ve İnce, 2020). Feline infectious peritonitisli (FIP) kedilerde hiperglobulinemi ile ilişkili olarak total protein düzeyinin yükselmesi FIP ile enfekte kedilerin yaklaşık % 40-50 sinde karşılaşılan bir durumdur ve albümin: globülin (A:G) oranı genellikle < 0.45 seyrederek. Ayrıca Serum amiloid A (SAA) artışı FIP için iyi bir belirteçtir (Meli ve ark., 2004; Pedersen, 1995). Böbrek yetmezliklerinde üre, kreatinin, BUN (Kan üre azotu), Fosfor, Kalsiyum ve SDMA (Simetrik Dimetilarginin) konsantrasyonları artarken, total protein azalır (Taşçene ve ark., 2019). Kalp yetmezliklerinde Kardiyak troponin I (cTnI), NT-proBNP ve daha az spesifik olarak CK-MB (kreatin kinaz miyokard bandı) değerleri artar (Özkanlar, 2023). Pankreas kaynaklı hastalıklarda ise amilaz ve lipaz enzimleri artar (Armstrong ve Williams, 2012). İdrar analizi böbrek fonksiyonlarını değerlendirmek açısından iyi bir göstergesidir ve asites durumlarında proteinüri görülebilir (Turgut, 2000).

## 1.3. Radyolojik Muayene

Asites durumunda abdominal sıvı karın boşluğunun radyografik olarak değerlendirilmesini imkânsız hale getirebilir. Radyografik görüntünün netliği abdominal boşluktaki sıvının miktarına göre değişir. Abdominal sıvı radyolojik görüntünün ya silik ve bulanık görünmesine ya da bütün yapıların donuk ve büyümüş görünmesine neden olur. Genellikle iki özellik görülür. Birincisi; radyografinin normale göre silik ve bulanık görülmesi, diğeri ise; bütün yapıların donuk ve büyümüş görülmesidir (Alkan, 1999; Nyland ve Mattoon, 1995).

## 1.4. Ultrasonografik Muayene

Serbest durumdaki abdominal sıvı; karın içerisinde anekoik (siyah) bir görüntü meydana getirir. Bu sıvı idrar kesesinin ön kısmında, mide-karaciğer, diyafram-karaciğer, karaciğer lopları, karın duvarı-dalak arasında izlenebilir (Cruz-Arambulo ve Wrigley, 2003; Nyland ve Mattoon, 1995).

## 2. ABDOMİNOSENTEZ

Asitesin kesinleştiği veya bundan şüphelenildiği durumlarda, analiz için numune almak üzere abdominosentez yapılabilir; bu, asitesin etiyojisi hakkında değerli bilgiler sağlar. Abdominosentez ile numune alınamaması asitesin varlığını ortadan kaldırmaz çünkü pozitif bir sonuç elde etmek için kilogram başına en az 4-5 ml sıvı bulunması gerekir (Tasker ve Gunn-Moore, 2000).

### 2.1. Teknik

Kazara idrar kesesinin delinmesi riskine karşı için idrar kesesi boşaltılmalıdır. Abdominosentez, gerçekleştirilmesi hızlı ve kolay bir prosedürdür. Genellikle ne sedasyona ne de lokal anesteziye ihtiyaç duyulur. Kedi ayakta dururken veya yan yatarken tutulur. Ventral karın traş edilir ve aseptik olarak hazırlanır. 20 ila 22 G iğne, 10 ml'lik bir enjektör takılı olarak, göbeğin hafifçe kaudaline ventral orta hatta yavaşça sokulur ve aspirasyon gerçekleştirilir. Sıvı miktarının az olduğu durumlarda iğnenin abdominal sıvıya yönlendirilmesi için abdominosentez sırasında ultrasonografiden yararlanılabilir (Tasker ve Gunn-Moore, 2000). Abdominosentez sonucu alınan sıvı sitolojik inceleme, total protein tespiti ve hücre sayımı için kullanılacaksa EDTA'lı tüpe, herhangi bir biyokimyasal test için (örn. Kreatin, bilirubin) kullanılacaksa serum biyokimyasal tüpüne alınmalı (Cowell ve ark., 2007).



**Tablo 2.** Kedilerde efüzyonların sınıflandırılması (Tasker ve Gunn-Moore, 2000; Alleman, 2003).

	Total protein	Görünüm	Çekirdekli hücre sayısı	Hücre tipi	Dansite	Spesifik özellikler
Transudat	<2.5 g/dL	Genellikle şeffaf ve renksiz	<1000	Mononükleer	<1 015	Düşük hücre sayısı
Modifiye transudat	2.5–5.0 g/dL	Sarı veya kanlı, bulanık olabilir	1000–8000	Mononükleer	1-015-1-025	Etiyolojiye göre hücre tipi değişebilir
Nonseptik eksudat	>3.0 g/dL	Bulanık	>3000	Nötrofil	>1 025	Nondejenere nötrofil
Septik eksudat	>3.0 g/dL	Bulanık	>3000	Nötrofil	>1 025	Dejenere nötrofil
Hemoraji	>3.0 g/dL	Kırmızı renkte	Değişken	Eritrosit		Makrofajlarda hemosiderin veya eritrofaji
Neoplastik	>2.5 g/dL		Değişken	Neoplastik hücreler		Neoplastik hücreler
Lenf	2.5-6 g/dL	Süt benzeri veya pembemsi opak sıvı	250-200000	Lenfositler Nötrofiller Makrofajlar		
Safra	2.9-5.6 g/dL	Yeşil veya turuncu	Değişken	Nötrofil Makrofaj		Bilirubin içeriği

### 3. BİRİKEN SIVININ NİTELİĞİNE GÖRE ASİTES

#### 3.1. Transudat

Transüdat, düşük protein ve hücre içeriğine sahip efüzyonlardır. Tipik olarak berrak ve renksizdirler, protein konsantrasyonları 2,5 g/dL'den azdır ve mililitre başına 1000'den az çekirdekli hücre içerirler (Meyer ve Franks, 1987). Sitolojik olarak, bu sıvılar çoğunlukla lenfositler, makrofajlar ve mezotelyal hücreler gibi mononükleer hücreler içerir ve daha az sayıda nondejenere nötrofil içerir (Cantwell ve ark., 1983).

Kedilerde transüdatlar (<2,5 g/dL) en sık olarak hipoalbümineminin bir sonucu olan azalmış onkotik basınçtan veya azalmış onkotik basınç ile artmış hidrostatik basınç ile presinüzoidal portal hipertansiyondan kaynaklanır (Alleman, 2003; James ve ark., 2008)

Hipoalbuminemi, kronik açlık veya yetersiz beslenme nedeniyle yetersiz diyet proteini alımından, hepatik albümin sentezinin azalmasından veya protein kayıplı enteropati (malabsorpsiyon, parazitizm veya hemoraji dahil) veya nefropatiden (çoğunlukla glomerüler patoloji veya hemoraji ile ilişkili) kaynaklanabilir (Bohn, 2017).

Birçok durumda, efüzyon proteini refraktometrenin tespit edilebilir aralığının altındadır. Serum-efüzyon albümin gradyanı, transüdatları eksüdaldan ayırt etmenin bir yolu olarak kullanılabilir. Serum-efüzyon gradyanı, serum albümin konsantrasyonu eksi efüzyon albümin konsantrasyonudur. Gradyanın 1,2 veya daha az olması transüdat göstergesi olarak kabul edilir. Transüdat oluşumu için 1,5 g/dL veya daha düşük serum albümin konsantrasyonunun gerekli olduğu belirtilmiştir. Transüdat kaynaklı efüzyonlar ayrıca portal ven hipoplazisi, idiyopatik hepatik fibrozis ile ilişkili prehepatik ve pre-sinüzoidal portal hipertansiyonda da görülür ve terminal intrahepatik portal ven kollarında direnç artışına neden olur (Thrall, 2000).

### 3.2. Modifiye Transüdat

Modifiye transüdatlar nadiren transüdatlar gibi berrak ve renksizdir ve renk etiyojolojiye bağlı olarak ten rengi ve hafif bulanıktan pembeye, opak ve beyaza kadar değişebilir. Protein içeriği 2,5 ila 5,0 g/dL arasında değişir. Çekirdekli hücre sayısı mililitre başına 1000 ila 8000 hücre arasında değişebilir (Cowell ve ark., 1999; Shelly, 2001).

Transütlara benzer şekilde, modifiye transüdat da çekirdekli hücrelerin çoğu makrofajlar, lenfositler veya her ikisinin bir kombinasyonu olan mononükleer hücrelerdir. Mezotel hücreleri ve nondejenere nötrofiller daha küçük bir yüzdeyi oluşturur. Modifiye transüdat bir efüzyonun geçici bir aşaması olabilir ve sıvı vücut boşluğunda yeterince uzun süre kalırsa, protein içeriği ve dejenere olan hücreler nötrofillerin bölgeye kemotaksisine neden olur. Bu da bu sıvıların sınıflandırmasını modifiye transüdatlardan nonseptik eksüdata değiştirir. Bu nedenle, burada modifiye transüdaya neden olarak tanımlanan bazı koşullar, sıvılar uzun süre kalırsa nonseptik eksüda için de geçerli olabilir (Alleman, 2003). Modifiye transüdatlar çoğunlukla artmış hidrostatik basıncın, genellikle de portal hipertansiyonun bir sonucudur (Bunch ve ark., 2001; Hunt ve ark., 1993).

Portal hipertansiyon (PH), portal dolaşımdaki artmış vasküler direncin, artmış portal venöz kan akışının veya her ikisinin sonucudur (Hunt ve ark., 1993). Prehepatik, hepatik veya posthepatik olarak sınıflandırılır. Prehepatik PH, obstrüksiyon veya kompresyon nedeniyle ekstrahepatik portal vende direncin artmasından kaynaklanır ve genellikle transüdatla sonuçlanır. Konjenital veya edinsel hepatik arteriyovenöz fistüller prehepatik PH'ya neden olur çünkü arteriyel kan portal venöz sisteme akar. hepatik PH küçük

portal venler, sinüzoidler veya küçük hepatik venlerdeki artmış dirençten kaynaklanır ve ayrıca sinüzoidal öncesi, sinüzoidal veya sinüzoidal sonrası olarak sınıflandırılır. Posthepatik PH, sağ kalp yetmezliği, perikardiyal hastalık, kitle lezyonları veya pulmoner hipertansiyonun bir sonucu olarak daha büyük hepatik venlerde, kaudal vena kavada veya sağ atriyumda dolaşımın aksamsı ile ilişkilidir (Connally, 2003).

Efüzyonun protein konsantrasyonu PH'nin anatomik konumunu yansıtabilir. Prehepatik ve pre-sinüzoidal PH genellikle düşük proteinli bir efüzyonla sonuçlanır; Post-sinüzoidal ve sinüzoidal intrahepatik PH ve posthepatik PH genellikle yüksek proteinli (>2,5 g/dL) bir efüzyonla sonuçlanır. Ancak, ciddi karaciğer hasarı nedeniyle albümin sentezi azalmışsa, efüzyonlardaki protein içeriği düşük olabilir (James ve ark., 2008; Buob ve ark., 2011).

Kedilerde kardiyojenik efüzyonlar genellikle modifiye transudatla sonuçlanır (Fischer ve ark., 2012). Modifiye transüdanın en yaygın nedenlerinden biri de konjestif kalp yetmezliğidir (Forrester ve ark., 1988). Ayrıca akciğer ateletazisi, diyafragmatik veya peritoneal-perikardiyal herniler, akut organ torsiyonları, kaudal vena kava (abdominal efüzyon) veya hepatik vende (abdominal efüzyon) neoplazi veya travma gibi durumlar da madifiye transudatla sonuçlanan bir asitese neden olabilir (Roudebush ve Burns, 1979; Crowe ve ark., 1984).

### 3.3. Şiloabdomen

Şilöz efüzyonlar, genellikle plevral boşlukta bazen de peritoneal boşlukta şilus (lenf) birikiminden kaynaklanır. Bu durum genellikle artan lenfatik sızıntı veya lenfatik drenajın bozulmasıyla meydana gelir (Fossum ve ark., 1992). Sıvı tipik olarak beyaz ve opak görünümündedir ancak eritrosit içeriyorsa, eritrositler sıvıya pembe bir renk verirler. Şilöz efüzyonların içerdiği hücre sayısı değişkendir (Rizzi ve ark., 2008). Başlangıçta, mevcut hücrelerin neredeyse tamamı küçük, normal görünümlü lenfositlerdir. Ancak zamanla, şilus birikimi enflamatuar bir reaksiyona yol açabilir ve daha fazla nötrofil ve makrofaj görülür. Bazen arka planda veya nötrofil ve makrofajların içinde çok küçük berrak lipid damlacıkları gözlenir ve bunlar Sudan III gibi boyalar ile pozitif boyanır. Refraktometri ile total protein tahmini, sıvının opaklığı nedeniyle genellikle hatalı olarak yüksektir (Thrall, 2020).

Şilöz sıvının trigliserit konsantrasyonu serum veya diğer efüzyon türlerinden daha yüksektir. Trigliserit konsantrasyonları 100 mg/dL'den yüksek olan efüzyonlar neredeyse her zaman şilözdür (Fossum ve ark., 1986).

Şiloperitonyum, veteriner hekimlikte nadiren görülen bir durumdur ve genellikle başka bir hastalık sürecine ikincil olarak ortaya çıkar (Michel ve Pagliona, 1992). Kedilerde tanımlanan şiloperitonyum nedenleri ağırlıklı

olarak neoplastiktir. Ayrıca lenfatik sistem hastalıkları, pankreatit ve nadiren de felin enfeksiyöz peritonitiste (FİP) görülebilir (Savary ve ark., 2001; Thrall, 2020)

Bazı efüzyonlar, sütlü görünüşleri veya efüzyonda ağırlıklı olarak lenfositlerin bulunması nedeniyle bazen psödoşilöz olarak adlandırılır. Ağırlıklı olarak küçük lenfositler içeren şilöz olmayan sıvılar, psödoşilöz efüzyonlar yerine lenfositten zengin efüzyonlar olarak adlandırılmalıdır. Kedilerde lenfositten zengin efüzyonlar genellikle kalp hastalığına bağlıdır, ancak lenfomada da görülebilir (Probo ve ark., 2018).

### 3.4. Eksudat

Eksudatların rengi beyazdan kehribar rengine ve pembeye kadar değişmekle birlikte genellikle bulanıktır. Protein içeriği yüksek (>3 g/dL) ve hücre sayısı tipik olarak mililitrede 3000 hücreden fazladır (Shelly, 2001). Eksüdaların sayısal parametreleri modifiye transüdatlarınkilerle örtüşür; ancak eksüdalarda nötrofil genellikle baskın hücre popülasyonudur ve inflamasyonun varlığına işaret eder. Nötrofillere sıklıkla makrofajlar, lenfositler, eozinofiller ve mezotelyal hücreler dahil olmak üzere değişken sayıda diğer enflamatuar hücreler eşlik eder. Eksüdalar, sıvıda enfeksiyöz ajanların tespit edilip edilmemesine bağlı olarak septik veya nonseptik olarak sınıflandırılır. Nötrofillerin morfolojik görünümü de eksüdanın septik olup olmadığına dair bir fikir verebilir. Nötrofillerdeki spesifik dejeneratif değişiklikler sepsis varlığını düşündürür (Meyer ve Frank, 1987; O'Brien ve Lumsden, 1988; Dempsey ve Ewing, 2010)

İnflamatuar efüzyonlar (eksüdatlar), kapiller geçirgenliği artıran inflammatuar mediatörlere yanıt olarak oluşur. Enflamasyon genellikle bakteriyel enfeksiyonların sonucudur, ancak mantar, maya veya protozoal enfeksiyonlar da inflammatuar efüzyonlar oluşturabilir (Holmberg ve ark., 2006; Nielson ve ark., 2003).

Neoplastik efüzyonlar, enflamasyon veya tümör hücrelerinin sıvı içeriğine karışmasıyla eksüdat olabilir. Aynı şekilde şilüs, safra veya idrar sızıntısının neden olduğu efüzyonlar enflamasyon oluşturarak eksüdat kategorisine girebilir (Alleman, 2003).

Kedi enfeksiyöz peritoniti (FİP), vücut boşluğunda yabancı cisim, pankreatit, steatit, safra veya idrar sızıntısı, neoplazmlar, iç organların torsiyonu (örn. karaciğer, dalak), inflamasyonlu iç organlar veya karın duvarındaki apseler gibi bir dizi klinik durum nonseptik eksudata neden olabilir (King ve Gelens, 1992; Cowel ve ark., 1989; Baker ve ark., 2000).

### 3.5. Üroabdomen

Üriner sistemdeki herhangi bir ruptur sonucu idrarın periton ve/veya retroperitoneal kavitede birikmesi olayına üroabdomen denir. Genellikle idrar kesesi, proksimal üretra, distal üreterler ve böbrek hasarı sonucu oluşur. İdrarın abdominal boşlukta birikmesi şiddetli elektrolit (hiperkalemi, hiponatremi, hiperfosfatemi) ve metabolik (metabolik asidozis, azotemi) değişikliklere neden olur (Aumann ve ark., 1998, Anderson ve ark., 2006, Stafford ve Bartges, 2013). İdrar, dokular için iritan olduğundan peritonitise neden olabilir hatta ruptur öncesinde bir üriner sistem enfeksiyonu bulunması halinde septik peritonitis gelişebilir (Aumann ve ark., 1998).

Üroabdomenin teşhisi için anamnez ve fiziksel muayene bulgularının yanında laboratuvar analizleri ve görüntüleme yöntemlerinden faydalanılır (Anderson ve ark 2006, Stafford ve Bartges 2013). Üroabdomenin en önemli teşhis yöntemlerinden biri üriner sistem organlarının kontrast radyografisidir (Anderson ve ark 2006).

Abdominal effüzyonun üriner sistem kaynaklı olduğunun doğrulanması için kan ve effüzyon sıvısındaki kreatinin ve potasyum konsantrasyonlarının karşılaştırılması gerekir. Eğer abdominal effüzyonda serumdan daha yüksek miktarda kreatinin ve potasyum bulunuyorsa bu durum genellikle üroabdomen olarak ifade edilir (Stafford ve Bartges 2013).

### 3.6. Hemoabdomen

Hemoabdomen peritoneal boşlukta kan birikmesidir ve travmatik ya da travmatik olmayan olarak sınıflandırılabilir. Travmatik hemoabdomen tipik olarak araba çarpması, yüksekten düşme ya da ısırık gibi nedenlerde ilişkilidir ve kanama genellikle karaciğer veya dalak gibi yırtılmış karın içi organlardan kaynaklanır (Mongil ve ark., 1995). Belirtiler ( taşıkardi, soluk mukoza zarlari, hipotansiyon, halsizlik, kollaps) genellikle akut kan kaybı ile ilişkilidir (Pintar ve ark.,2019).

Spontan veya travmatik olmayan hemoabdomen genellikle, benign veya malign intraabdominal neoplazi, koagülopatiler (Genellikle antikoagülan rodentisit zehirlenmesine bağlı K vitamini eksikliği), gastrik veya duodenal ülserasyon, karaciğer lob torsiyonu ve dalak torsiyonu ile ilişkilidir. Belirtilerin travmatik hemoabdomen ile ilişkili olanlara benzer olması beklenir, ancak ilişkili bir travma yoktur. Kedilerde travmatik olmayan hemoabdomenlerin en yaygın nedeni neoplazilerdir (Brockman ve ark., 2000; Mandell ve Drobats, 1995; Picavet ve ark., 2019).

Tanı, abdominosentez sonrasında yapılan efüzyon sıvısının incelenmesiyle gerçekleştirilir. Efüzyon sıvısı kırmızı renkte, >3.0 g/dL total protein içeriğine sahip ve bol miktarda eritrosit içerir. Travma bulguları hariç

klirik ve hematolojik bulgular genellikle anemi ile ilişkilidir ve tam kan sayımı ile koagülasyon profili değerlendirilmeli.

### **3.7. Biliyer Efüzyon**

Biliyer efüzyonların toplam protein içeriği ve çekirdekli hücre sayısı efüzyonun steril veya septik olmasına bağlı olarak oldukça değişkendir. Efüzyon septik ise nötrofiller baskın olacak ve bakteriler bulunacaktır. Akut steril biliyer efüzyonlarda makrofajlar baskın olabilir. Protein içeriği genellikle 2,5 g/dL'den yüksektir ve 2,9 ila 5,6 g/dL arasında değişebilir. Sıvı genellikle yeşil ila turuncu renktedir. Safra pigmenti, makrofajlar tarafından fagosite edildikten sonra siyah renge dönüşen, altın renginden yeşile, bir granüler pigment olarak görünür. Sıvının bilirubin konsantrasyonu serum bilirubin konsantrasyonundan daha yüksektir (Owens ve ark., 2003).

Safra peritoniti genellikle travmaya bağlı safra kesesi rupturu, kolesistit veya safra kesesi mukoseline bağlı olarak safra yollarından sızıntıya bağlıdır. Steril safra efüzyonu olan hayvanlarda prognoz daha iyidir (Ludwig ve ark., 1997; Jaffey ve ark., 2018).

### **3.8. Neoplastik Efüzyon**

Neoplastik efüzyonlar transüdat veya eksüdat olabilir (Bode-Lesniewksa, 2016). Neoplastik hücreler, özellikle tümör epitelyal (karsinom), lenfoid (lenfoma) veya daha az yaygın olarak mast hücreli tümör veya mezotelyal tümör (mezotelyoma) hücreleri efüzyonda görülebilir ancak genellikle sarkom hücreleri efüzyon sıvısında görülmez (Thrall, 2020).

## KAYNAKÇA

- Alkan, Z. (1999). Yumuşak Dokular, Üriner Sistem; Veteriner Radyoloji, 1. Baskı, Mina Ajans Ltd. Şti. Ulus-Ankara, Bölüm, 5, 260-268.
- Alleman, A. R. (2003). Abdominal, thoracic, and pericardial effusions. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 33(1), 89-118.
- Anderson, R. B., Aronson, L. R., Drobatz, K. J., & Atilla, A. (2006). Prognostic factors for successful outcome following urethral rupture in dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 42(2), 136-146.
- Armstrong, P. J., & Williams, D. A. (2012). Pancreatitis in cats. *Topics in companion animal medicine*, 27(3), 140-147.
- Aumann, M., Worth, L. T., & Drobatz, K. J. (1998). Uroperitoneum in cats: 26 cases (1986-1995). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 34(4), 315-324.
- Baker, R., & Lumsden, J. H. (2000). *Color atlas of cytology of the dog and cat*. Mosby, p. 159-76
- Bode-Lesniewska, B. (2016). Flow cytometry and effusions in lymphoproliferative processes and other hematologic neoplasias. *Acta cytologica*, 60(4), 354-364.
- Bohn, A. A. (2017). Analysis of canine peritoneal fluid analysis. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 47(1), 123-133.
- Brockman, D. J., Mongil, C. M., Aronson, L. R., & Brown, D. C. (2000). A practical approach to hemoperitoneum in the dog and cat. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 30(3), 657-668.
- Bunch, S. E., Johnson, S. E., & Cullen, J. M. (2001). Idiopathic noncirrhotic portal hypertension in dogs: 33 cases (1982-1998). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(3), 392-399.
- Buob, S., Johnston, A. N., & Webster, C. R. L. (2011). Portal hypertension: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Journal of veterinary internal medicine*, 25(2), 169-186.
- Cantwell, H. D., Rebar, A. H., & Allen, A. R. (1983). Pleural effusion in the dog: principles for diagnosis. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 19(2), 227-232.
- Connally, H. E. (2003). Cytology and fluid analysis of the acute abdomen. *Clinical Techniques in small animal Practice*, 18(1), 39-44.

- Cowell, R. L., Tyler, R. D., Meinkoth, J. H., & DeNicola, D. B. (2007). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat-E-book*. Elsevier Health Sciences.
- Cowell, R. L., Tyler, R. D., & Meinkoth, J. H. (1999). Abdominal and thoracic fluid. *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*. Mosby, St. Louis,, 142-158.
- Crowe, D. T., Lorenz, M. D., Hardie, E. M., Kolata, R. J., & George, J. W. (1984). chronic peritoneal effusion due to partial caudal vena-caval obstruction following blunt trauma-diagnosis and successful surgical-treatment. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 20(2), 231-238.
- Cruz-Arámulo, R., & Wrigley, R. (2003). Ultrasonography of the acute abdomen. *Clinical techniques in small animal practice*, 18(1), 20-31.
- Dempsey, S. M., & Ewing, P. J. (2010). A review of the pathophysiology, classification, and analysis of canine and feline cavitory effusions. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 47(1), 1-11.
- Fischer, Y., Sauter-Louis, C., & Hartmann, K. (2012). Diagnostic accuracy of the R ivalta test for feline infectious peritonitis. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(4), 558-567.
- Forrester, S. D. (1988). Pleural effusions: pathophysiology and diagnostic considerations. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 10, S121-S136.
- Fossum, T. W., Hay, W. H., Boothe, H. W., Zack, P. M., Sherding, R. G., & Miller, M. W. (1992). Chylous ascites in three dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200(1), 70-76.
- Fossum, T. W., Jacobs, R. M., & Birchard, S. J. (1986). Evaluation of cholesterol and triglyceride concentrations in differentiating chylous and nonchylous pleural effusions in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 188(1), 49-51.
- Hall, J. E., Simpson, J. W., & Williams, D. A. (2005). *BSAVA manual of canine and feline gastroenterology* (No. Ed. 2). British Small Animal Veterinary Association. pp. 97-102
- Holmberg, T. A., Vernau, W., Melli, A. C., & Conrad, P. A. (2006). Neospora caninum associated with septic peritonitis in an adult dog. *Veterinary clinical pathology*, 35(2), 235-238.
- Hunt, G. B., Malik, R., Chapman, B. L., Lamb, W. A., & Allan, G. S. (1993). Ascites and portal hypertension in three young dogs with



- non-fibrosing liver disease. *Journal of Small Animal Practice*, 34(9), 428-433.
- Jaffey, J. A., Graham, A., VanEerde, E., Hostnik, E., Alvarez, W., Arango, J., Jacobs, C., & DeClue, A. E. (2018). Gallbladder mucocele: variables associated with outcome and the utility of ultrasonography to identify gallbladder rupture in 219 dogs (2007–2016). *Journal of veterinary internal medicine*, 32(1), 195-200.
- James, F. E., Knowles, G. W., Mansfield, C. S., & Robertson, I. D. (2008). Ascites due to pre-sinusoidal portal hypertension in dogs: a retrospective analysis of 17 cases. *Australian veterinary journal*, 86(5), 180-186.
- King, L. G., & Gelens, H. C. (1992). Ascites. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 14(8), 1063-1075.
- Ludwig, L. L., McLoughlin, M. A., Graves, T. K., & Crisp, M. S. (1997). Surgical treatment of bile peritonitis in 24 dogs and 2 cats: a retrospective study (1987–1994). *Veterinary surgery*, 26(2), 90-98.
- Mandell, D. C., & Drobatz, K. (1995). Feline Hemoperitoneum 16 Cases (1986-1993). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 5(2), 93-97.
- Meli, M., Kipar, A., Müller, C., Jenal, K., Gönczi, E., Borel, N., ... & Lutz, H. (2004). High viral loads despite absence of clinical and pathological findings in cats experimentally infected with feline coronavirus (FCoV) type I and in naturally FCoV-infected cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6(2), 69-81.
- Meyer, D. J., & Franks, P. T. (1987). Effusion: classification and cytologic examination. *The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian*, 9:123–9.
- Michel, P., & Pagliano, G. (1992). Le chyloperitoine aigu. *Journal de Chirurgie*. 129:544–9.
- Mongil, C. M., Drobatz, K. J., & Hendricks, J. C. (1995). Traumatic hemoperitoneum in 28 cases: a retrospective review. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 31(3), 217-222.
- Nielsen, C., Olver, C. S., Schutten, M. M., & Twedt, D. C. (2003). Diagnostic peritoneal lavage for identification of blastomycosis in a dog with peritoneal involvement. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(11), 1623-1627.

- Nyland, T. G., & Mattoon, J. S. (1995). *Veterinary diagnostic ultrasound*. WB Saunders.
- O'Brien, P. J., & Lumsden, J. H. (1988, May). The cytologic examination of body cavity fluids. In *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (small Animal)* (Vol. 3, No. 2, pp. 140-156).
- Owens, S. D., Gossett, R., McElhaney, M. R., Christopher, M. M., & Shelly, S. M. (2003). Three cases of canine bile peritonitis with mucinous material in abdominal fluid as the prominent cytologic finding. *Veterinary clinical pathology*, 32(3), 114-120.
- Özkanlar, Y. (2023). Kedi ve Köpeklerde Dolaşım Sistemi Hastalıkları.
- Pedersen, N. C. (1995). An overview of feline enteric coronavirus and infectious peritonitis virus infections. *Feline Practice*, 23, 7-20.
- Picavet, P., Vidal, P. A., Bolen, G., Gommeren, K., & Noël, S. (2019, July). Liver lobe torsion in a cat presented with a hemoabdomen. In *28th ECVS Annual Meeting Scientific Meeting*.
- Pintar, J., Breitschwerdt, E. B., Hardie, E. M., & Spaulding, K. A. (2003). Acute nontraumatic hemoabdomen in the dog: a retrospective analysis of 39 cases (1987–2001). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 39(6), 518-522.
- Probo, M., Valenti, V., Venco, L., Paltrinieri, S., Lavergne, E., Trumel, C., & Bertazzolo, W. (2018). Pleural lymphocyte-rich transudates in cats. *Journal of feline medicine and surgery*, 20(8), 767-771.
- Rizzi, T. E., Cowell, R. L., Tyler, R. D., & Meinkoth, J. H. (2008). Effusions: abdominal, thoracic, and pericardial. *Cowell, Rl; Tyler, Rd; Meinkoth, Jh; Dencicola, Db Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, 3, 235-255.
- Roudebush, P., & Burns, J. (1979). Pleural effusion as a sequela to traumatic diaphragmatic hernias: a review of four cases. *Journal*. 15:699–706.
- Samsar, E.; Akın, F. (2002). Özel Cerrahi, Özkan Matbaacılık, Ankara.

- Savary, K. C., Sellon, R. K., & Law, J. M. (2001). Chylous abdominal effusion in a cat with feline infectious peritonitis. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 37(1), 35-40.
- Shelly, S. M. (2001). Body cavity fluid. In. Raskin, RE, Meyer, OJ, editors. Atlas of canine and feline cytology. Philadelphia.
- Stafford, J. R., & Bartges, J. W. (2013). A clinical review of pathophysiology, diagnosis, and treatment of uroabdomen in the dog and cat. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 23(2), 216-229.
- Taşcene, N., Kaya, Y. & Sel, T. (2019). Simetrik Dimetilarjinin (SDMA): Yeni Bir Böbrek Biyobelirteci. *Avrasya Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(4), 179-181.
- Tasker, S., & Gunn-Moore, D. (2000). Differential diagnosis of ascites in cats. *In Practice*, 22(8), 472-479.
- Thrall, M. A. (2020). Abdominal and Thoracic Fluid Analysis in Dogs and Cats. *Veterinary Cytology*, 695-712.
- Turgut, K. (2000). Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. 1. Baskı, Bahçıvanlar, Konya
- Turgut, K., & İnce, M. E. (2020). Kedi ve Köpeklerde Karaciğer Hastalıklarının Tanısında Laboratuvar Bulgularının Değerlendirilmesi. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 11(1).
- Wright, K. N., Gompf, R. E., & DeNovo Jr, R. C. (1999). Peritoneal effusion in cats: 65 cases (1981-1997). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214(3), 375-381.

## BÖLÜM 12

### İNTESTİNAL SİSTEMİN EN SIK GÖRÜLEN PARAZİTLERİNDEN *GIARDIA İNTESTINALİS*

Bilim Uzmanı Leyla GÜNDÜZ<sup>1</sup>

DOI: <https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10408102>

<sup>1</sup>Siirt Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Siirt, Türkiye, lylgndz\_55@hotmail.com, Orcid ID: 0000-0002-5916-5737



## 1. GİRİŞ

Bağırsak parazitleri, insanlarda sıklıkla rastlanılan en önemli halk sağlığı sorunlarından biri haline gelmiştir. Kozmopolit bir yayılışa sahip olan bu parazitlerin özellikle gelişmemiş ülkelerde sıklık oranının gittikçe arttığı bildirilmiştir (Unat ve ark., 1995; Merdivenci, 1981, Özcel ve ark., 2007a).Toplumların yaşam şartları, sosyo-ekonomik ve kültürel durumu, hijyen şartları, iklim koşulları, çevresel faktörler, yaşam alanlarında fiziksel alt yapı, eğitim düzeyi, yaş, immünite ve beslenme şekli intestinal parazitlerin yayılışına etki eden önemli faktörler arasındadır. Hastalık döngüsünde asemptomatik olup fakat dışkılarıyla bu parazitleri yayan insanların rolü çok etkilidir (Altıntaş, 1996; Özcel ve ark., 2007a).Bağırsak parazitlerinde etkenin sayısı,türü,bağışıklık durumu,enfeksiyon süresi, beslenme durumu, çevre şartları ve etkilenmiş olduğu bölgeye göre çeşitli patolojik düzensizliklere ve bozulmalara neden olurlar . İntestinal parazit enfeksiyonlarında hastalarda daha çok ishal, karın ağrısı, iştahsızlık, mide bulantısı, kusma, öksürük,anal bölgede kaşıntı,dışerde gıcırdama gibi semptomlar kendini gösterirken asemptomatik seyrettiği durumlarda görülebilmektedir(Saygı, 2009; Özcel ve ark., 2007a).

### 1.2. TAKSONOMİ

*Giardia intestinalis* parazit türünün sınıflandırılması şu şekildedir (Budak ve Budak, 2002; Kuman ve Altıntaş, 1996; Özcel ve ark., 2007a);

Şube: Protozoa

Altşube: Sarcocystidophora

Üst sınıf: Mastigophora

Sınıf: Zoomastigophora

Takım: Diplomonadida

Aile: Hexamitidae

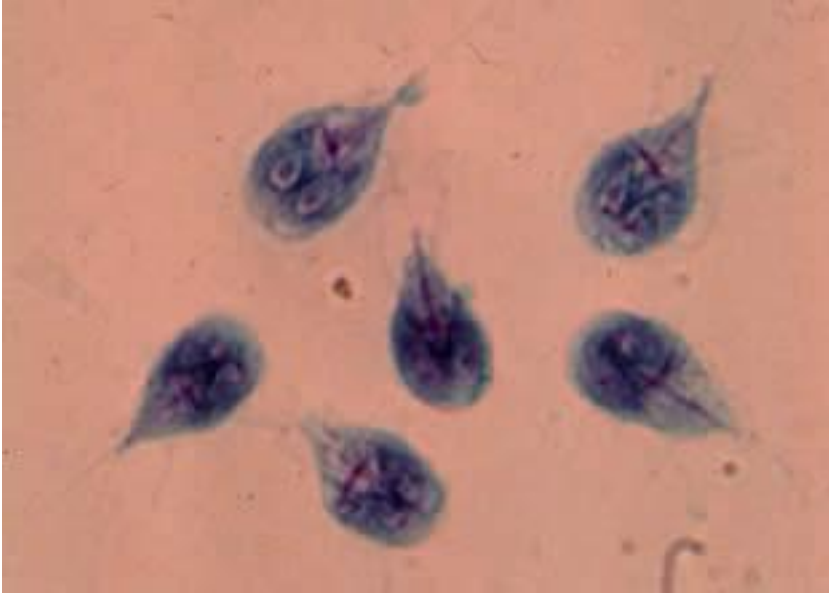
Cins: *Giardia*

Tür: *Giardia intestinalis*

### 1.3. *GIARDIA INTESTINALIS* VE PARAZİTLİĞİ

#### MORFOLOJİ VE EVRİM:

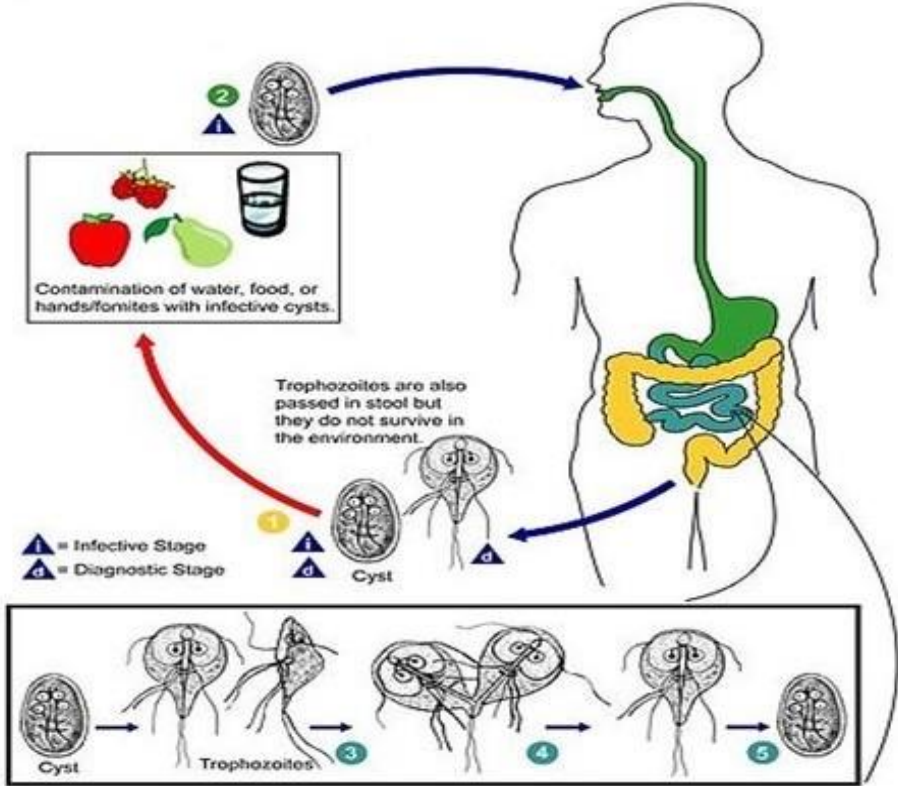
Bu parazitin evriminde iki farklı form görülmektedir. Bunlar kist ve trofozoit formlarıdır. Kist formu konaklar arası bulaşmada önem arz etmektedir. Bu form 9-20 µm boyunda, 6-9 µm enindedir. Sitoplazması ince granüllü ve vakuolsüz olup içinde kamçı, orta cisim ve organellerin kalıntıları ayrıca 2-4 çekirdek bulunmaktadır. Trofozoit form vejetatif form olup hareketli, beslenen, büyüyen, çoğalan ve primer hastalık tablosu oluşturan formdur. Bu form da boy 9-21 µm, en 5-15 µm ve 2-4 µm kalınlığında; uzunlamasına ortadan ikiye bölünmüş armut şekline benzemektedir. Dorsali konveks, ventrali konkav, ayrıca vücut yapısı basıktır. Ön tarafından yuvarlak ve geniş, arkaya doğru gittikçe daralan ve arka uçta sivri olarak sonlanan bir yapısı vardır. Sitoplazmasında koful bulunmaz. Ventral bölgesinin 2/3 ön kısmını büyl ölçüde emici bir disk kaplar. Emici diskin arka tarafında iki oval çekirdek, dört çift kamçı ve orta cisimler bulunur (Özcel ve ark., 2007a; Özcel, 2003; Markell ve ark., 1992; Saygı, 2009).



Şekil 1. *Giardia intestinalis* trofozoit şekli (Anonim 1,2023)

Konak zinciri insan-insan olarak devam ederken, bazen de bu zincire farklı olarak kedi, köpek, sığır, koyun, kunduz gibi hayvanlar da dahil olabilir (Özcel ve ark., 2007a; Saygı, 2009). İnsanlara bu parazit, kistleri bulunduran yiyeceklerin yenmesi, suların içilmesi ya da kistlerle kontamine olmuş ellerin ağza götürülmesi ile bulaşmaktadır. Ağız yoluyla alınan kistlerin uğradığı ilk yer midedir. Midede bulunan mide öz suyu, enzimler ve pankreatik sıvıların

etkisiyle kist duodenumda parçalanır (Özcel, 1997; Özcel ve ark., 2007a, Feely ve ark., 1991).



Şekil 2. *Giardia intestinalis*'in hayat döngüsü (Anonim 2, 2023).

Kist duvarının parçalanması ile sitoplazma serbest kalır ve bundan dört çekirdekli trofozoiti oluşur. Trofozoit, boyuna aseksüel olarak ikiye bölünerek çoğalır. Trofozoitlerin yerleştiği yerler genellikle duodenum, jejunum ve ileumdur. Bununla birlikte safra kesesi ve safra yolları epitel yüzeyinde de yerleşebilirler. Bağırsağın peristaltik hareketiyle epitelden ayrılan trofozoitler dışkı ile dışarı atılır. İnce bağırsakta safra tuzları aracılığıyla trofozoitler kist formuna dönüşür. Kamçıları kısılır ve bunu durumu takiben hareketleri giderek azalır. Bu değişimlere sitoplazmanın yoğunlaşması ve kalın hyalin kist duvarının oluşması eşlik eder. Daha sonra iki çekirdekli trofozoitten iki çekirdekli kist, bu kistlerden de dört çekirdekli olan kistler oluşur (Özcel ve ark., 2007'a; Saygı, 2009; Feely ve ark., 1984).



## EPİDEMİYOLOJİSİ:

*Giardia intestinalis*, insanlarda en sık rastlanılan ve patojenitesi yüksek olan intestinal protozoonlardan biridir. Ana kaynak ,bu paraziti vücutlarında barındıran insanlardır. Bunu barındıran insanların dışkılarıyla parazitlerin kist/trofozoit formları dışarı atılmış olur. Dışkı ile dışarı atılan günlük kist sayısı çok fazla sayıda olabilmektedir. Trofozoitler dış ortam koşullarına çok dayanıklı değildir, fakat kistler canlılığını uzun bir süreye kadar koruyabilmektedirler. İçilen sularının normal değerlerde ilaçlanması (klorlanması) kistler için öldürücü bir özellik taşımaz (Saygı, 2009). Özellikle gelişme çağındaki çocuklarda sık rastlanılan bu enfeksiyon, ishal ve bağırsakta emilim bozukluğu nedeniyle gelişme geriliğine yol açabilir. Türkiye’de yapılan bazı çalışmalarda bu parazitin %0,8 -54,8 arasında değişen oranlarda görüldüğü bildirilmiştir (Roxström ve ark., 2006; Karadam, 2014).

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında yapılan bir çalışma sonucunda, başvuran kişilerin verileri değerlendirildiğinde, 85.707 kişiden bir kısmının (%4,2’sinin) intestinal parazitler açısından pozitif olduğu bildirilmiştir. Çalışmada en çok rastlanan tür *Giardia intestinalis* (%40) türü olmuştur (Gülmez ve ark., 2013).

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarında yapılan bir çalışmada ise *Giardia intestinalis* %3,63 nicelikte saptanmıştır (Alver ve ark., 2005). Aynı Üniversitede farklı tarihlerde yürütülen bir başka çalışmada 5624 olgunun yüksek bir oranda (%10,25’inde) bir veya daha fazla parazit türü belirlendiği bildirilmiştir. Çalışmada parazite rastlanılan hastaların %34,48’inde *Giardia İntestinalis* varlığı tespit edildiği belirtilmiştir (Alver ve ark., 2011).

## İMMÜNİTE:

*G. intestinalis*’e karşı direnç kişiden kişiye farklılık gösterebilir. Bu direnç farklılığının da en önemli etken yaştır. Daha çok ilkökul dönemindeki çocuklar, bu parazitoza karşı daha duyarlıdır. Sonraki dönemde ise bu duyarlılık giderek azalmakla beraber, yetişkinlerin ve daha yaşlı kişilerin dışkılarında *G. intestinalis* trofozoit veya kistleri görülebilir. Buluş çağı sonrasında duyarlılığın giderek azalması, çocuklukta geçirilmiş olan giyardiyoza karşı bireyde koruyucu bir bağışıklık gelişmesi ile açıklanabilir. Giyardiya hastalarında kanda antikorlar oluşur; bağırsakta ise önce IgM, sonra IgA ve IgG artış gösterir. Erişkinlerde bu parazitoz enfeksiyonu daha çabuk geçirilir ve hasta kendi kendine iyileşebilir (Özcel ve ark., 2007b; Saygı, 2009, Unat ve ark., 1995; Özcel ve ark., 2007a).

## **PATOJENİTESİ VE KLİNİK BELİRTİLERİ:**

Patojenitede, parazitin konaktaki sayısı önem arz eder. Parazitin yaşam döngüsüne bakıldığında sindirim yoluyla alınan kistler sonrasında duodenuma açılır ve kistlerden oluşan trofozoitler burda çoğalmaya başlar. Bu parazit, emici diskinin varlığı sayesinde burdaki epitel hücrelerinin yüzey kısmına tutunarak yaşar. İnce bağırsağın ilk kısmı ve duodenum da çok miktarda rastlanılabilir. Hücrelerin yıkımına neden değil, fakat tahrip etme özelliğinden dolayı çok mukus salgılanması ve yağ emiliminde bozulmaya sebep olur. Buna bağlı olarak yağda eriyen vitaminlerin eksikliğine de hastada görülebilir. Bazen belirti görülmeyebilir. Klinik belirtiler daha çok çocuklarda kendini gösterir (Unat ve ark., 1995; Saygı, 2009 Özcel ve ark., 2007'a). Hastalığın kuluçka süresi 1 hafta ila 2 hafta kadar olan bir süreçtir. Epitel hücreleri üzerine yerleşmiş olan parazitler yağda eriyebilen vitaminlerden özellikle A vitamini, ayrıca glikoz, laktoz, folik asit ve B12 vitamini emilimini engellemektedir. Semptomlu giyardiyozda özellikle ıveğen başlangıçlı kramp, ishal, şişkinlik, iştahsızlık en belirgin septomlardandır. Dışkı daha sonrasında kötü kokulu ve yağlı bir hal alır. Akut semptomlar genellikle 5 gün ila 7 gün arası devam eder. Semptomlar özellikle safra kesesi ya da peptik ülser hastalıklarını taklit edebilir. Bu hastaların tedavi edilmeme durumunda büyük çoğunluğunda kronikleşip yıllarca devam edebilir. Bu tür hastalarda aşırı halsizlik, yorgunluk, yemekle artan karın ağrısı ve epigastrik gibi rahatsızlıklar görülür. Gelişme çağındaki çocukların daha çok etkilendiği, çölyak, kronikleşmiş ishal hastalığına benzeyen bir malabsorbsiyon tablosuna benzer şekilde ağır seyrederek büyüme ve gelişme de gerilik görülebilmektedir (Özcel ve Üner, 1997; Unat ve ark., 1995; Özcel ve ark., 2007a).

### **TANI:**

Giyardiyozda laboratuvar bulguları çok önemli bir yere sahiptir. Dışkı örneğindeki yağ damlacıkları, yağlı dışkılama varlığında düşük oranda serum karoten düzeyi ve bazı kişilerde serum folat düzeylerinde oldukça düşüş, hasta da eğer ki protein kaybettiren enteropati düşük serum protein düzeyi, immün yetmezliği konu olduğunda ise önemli ölçüde düşük antikor değerleri sayılabilir. Tanı yöntemleri üç ana grupta incelenebilir (Özcel ve ark., 2007a).

### **1. ETİYOLOJİK YÖNTEMLER:**

Işık mikroskobu ile direkt dışkı bakısı (nativ-Lugol) laboratuvar ortamında tanı konmasının en basit yoludur. Sıvı görünümündeki bir dışkı örneğinde özellikle, uygun bir şekilde incelendiğinde hareket halindeki trofozoitlere rastlamak mümkündür. Nativ yöntemde hastadan alınan dışkı örneği, alındıktan sonraki bir saat içerisinde incelenmelidir. Dışkının çeşitli yerlerinden alınan az miktardaki alınan

numune lam üzerine konular daha sonra üzerine bir damla fizyolojik serum eklenerek karıştırılıp homojen hale getirilir ve bir lamel kapatılarak X400 büyütme ile incelenir. Bu yöntem sayesinde hareket halindeki kistler ve trofozoitler görülebilir. Lugolle bu yönteme bakıldığında fizyolojik serum (tuzlu su) yerine Lugol eriyiği kullanılır ve trofozoitlerde hareket gözlenmez, tipik armut görünümünde ve iki çekirdekli halde görülür. Sitoplazma ile bağı koparmış olan sitoplazma içindeki fibrillerle kist duvarı, kist formları kolaylıkla tanınır fakat çekirdekleri zorlukla görülür. Nativ-Lugol yöntemi, kolaylığı ve çok alet gerekmeden hazırlanması nedeni ile sık kullanılsa da yanlış negatif sonuçlara da götürebilir. Şüpheli kişilerde kist şekilleri her zaman görülmeyebilir. Tanıyı kesinleştirmek için farklı günlerde olmak üzere birden fazla dışkı örneği alınarak alternatif yöntemlerle değerlendirmek çok daha sağlıklı olacaktır. Hastanın şikayetleri giardiosisi şüphe ettiriyorsa dışkı örneğinin incelenmesine ısrarla devam edilmelidir. Çoklaştırma yönteminin amacı dışkıdaki kistlerin, çöktürülerek (formol-etil asetat ile sedimantasyon) ya da yüzdürülerek (çinko sülfat ya da doymuş tuzlu su ile flotasyon) bir araya toplanmasını sağlamak ve tanı şansını arttırmaktır. Serolojik yöntemlerde gerekli olan antijenler kültür yöntemleri ile elde edilir; biyokimyasal, genetik aynı zamanda immünolojik araştırmalarda kullanılmak için, *Giardia* suşları hastalanan kişilerin dışkılarından saf olarak izole edilir. Giyardiyoza prepatent süresi 14 gün olup, bu süre 1,5 aya kadar uzayabilir. Parazitli kişilerin 2/3'sinde belirtiler, dışkıda parazitlerin görülmesinden bir hafta önce başlar. Bir dışkı incelemesinde enfekte kişilerin ancak %50'si saptanır, çünkü kistlerin dışkıyla çıkarılması zaman zaman kesilir. Bu gibi durumlarda ağızdan jejunum biyopsisi ya da enterotestle daha iyi sonuç alınır (Özcel ve ark., 2007a; Saygı, 2009; Unat ve ark., 1995; Satoskar ve ark., 2009).

Tanıda *G. intestinalis* ile *Chilomastix mesnili*, *Retortamonas intestinalis*, *Enteromonas hominis* ve *Trichomonas hominis* gibi kamçılılar karıştırılmamalıdır (Özcel ve ark., 2007a Unat ve ark., 1995).

## **2. İNDİREKT YÖNTEMLER:**

Kullanılan indirekt tanı yöntemleri ile hastanın kanında *Giardia*'ya karşı oluşmuş antikorlar ya da dışkıda *G. intestinalis*'e ait antijenler ortaya koyulabilir. Bu yöntemlerin spesifitesinin %90'dan fazla olduğu bazı araştırmalarla ortaya konmuştur. Giardiosisin tanısında Western Blot, ELISA gibi immunolojik ve serolojik yöntemler kullanılmaktadır (Özcel ve Altıntaş, 1997; Özcel ve ark., 2007a).

## **3. AYIRICI TANI:**

Okul çağındaki özellikle kreşlerdeki çocukların sürekli bir temas halinde olması, homoseksüellik veya temiz olmayan suların içilmesi

durumunda giyardiyazın düşünölebileceği bildirilmiştir (Smith ve Wolfe, 1980). *G. intestinalis*'in, sindirim sistemindeki apatojen kamçılılar ile karıştırılmaması gerekir. Bu nedenle diğer kamçılıların morfolojik özellikleri çok iyi bilinmelidir (Yaşarol, 1984).

#### **4. MOLEKÜLER TANI:**

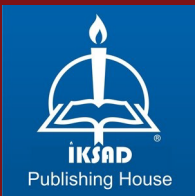
Moleküler tanı yöntemleri (DNA bazlı) kullanılarak *G. intestinalis*'in hem teşhisi hem de suşlarının saptanması mümkündür (Özcel ve ark., 2007a).

**TEDAVİSİ VE KORUNMA YOLLARI:** Tedavide en çok kullanılan ilaç grubu 5-nitroimidazol (metronidazol, tinidazol, ornidazol, seknidazol) türevleridir. Kinakrin, benzimidazol türevleri (albendazol) ve nitrofuranlar (furazolidon) daha sık; nitazoksanid daha az ise paramomisin kullanılır (Akısü ve Korkmaz, 2005; Özcel ve ark., 2007a). Parazit fekal-oral yolla bulaştığından, besin kontaminasyonunu engellemek, çiğ olarak yenen besinleri iyi bir şekilde temizlenmesi, içme sularının kanalizasyonun karışmasını önlemek büyük önem teşkil etmektedir. Ayrıca kişisel hijyen korunmada çok etkili ve önemlidir (Özcel ve ark., 2007'a).

## KAYNAKLAR

- Altıntaş K. Tıbbi parazitoloji. Ankara: MN Medikal Nobel; 2002
- Alver O, Özakin C, Yılmaz E, Akçağlar S, Töre O. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesinde farklı yıllarda bağırsak parazit dağılımlarının belirlenmesi. Türkiye Parazitol Derg. 2005; 29(3):193-9.
- Alver O, Oral B, Töre O. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesine 2005-2008 yılları arasında başvuran kişilerde saptanan bağırsak parazitlerinin dağılımı. Türkiye Parazitol Derg. 2011; 35:194-8.
- Akisü Ç, Korkmaz M. Tıbbi parazitolojide tedavi. İzmir-Bornova: META Basım; 2005.
- Anonim 1 2023 Erişim adresi: <https://docplayer.biz.tr/41958409-Giardiosis-giardia-intestinalis-giardia-duodenalis-giardia-lambliia.html> [Erişim tarihi: 19 Eylül 2023]
- Anonim 2 2023. Erişim adresi: <https://www.cdc.gov/dpdx/giardiasis/index.html> [Erişim Tarihi 19 Eylül 2023].
- Budak S, Budak A. Hayvanlarda isimlendirme kuralları ve parazitolojide kullanımı. Türkiye Parazitol Derg. 2002; 26:1-11.
- Feely DE Erlandsen SL, Chase DG. Structure of the trophozoite and cyst. Erlandsen SL, Meyer EA, editors. *Giardia* and giardiasis. Boston: Springer; 1984, pp. 3-31.
- Feely DE Gardner MD, Hardin EL. Excystation of *Giardia muris* induced by a phosphate-bicarbonate medium: localization of acid phosphatase. J Parasitol. 1991;77(3):441-8.
- Gülmez D, Sarıbaş Z, Akyön Y, Ergüven S. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Laboratuvarı 2003-2012 yılları sonuçları: 10 yıllık değerlendirme. Türkiye Parazitol Derg. 2013; 37:97-101.
- Karadam SY. Dışkıda *Giardia intestinalis* tanısında üç yöntemin (mikroskopik inceleme, direkt floresan antikor testi, immunokromatografik yöntem) karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi [Doktora Tezi]. Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi; 2014.
- Merdivenci A. Medikal protozooloji. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları; 1981.
- Özcel MA, Altıntaş N. Parazit hastalıklarında tanı. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 1997.

- Özcel MA. İmmün yetmezlikte önemi artan parazit hastalıkları. Bornova-İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 1995.
- Özcel MA, Özbel Y, Ak M. Özcel'in tıbbi parazit hastalıkları. İzmir: Meta Basım; 2007'a.
- Özcel MA, Üner A. Giardiosis. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 1997.
- Roxström-Lindquist K, Palm D, Reiner D, Ringqvist E, Svard SG. *Giardia* immunity—an update. Trends Parasitol. 2006;22(1):26-31.
- Saygı G. Temel Tıbbi Parazitoloji. İzmir: Dizgi Baskı Es-Form Ltd.; 2009.
- Satoskar AR, Simon G, Hotez PJ, Tsuji M. Medical parasitology. USA: Landes Bioscience; 2009.
- Kuman HA, Altıntaş N. Protozoon hastalıkları. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi; 1996
- Markell EK, Voge M, John DT. Medical parasitology. 7th Edition. Philadelphia: WB Saunders Company;1992.
- Yaşarol Ş. Medikal Parazitoloji. İzmir: Ege Üniv. Matbaası; 1984.



**ISBN: 978-625-367-513-4**