

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

TAVUKLARDA NEKROTİK ENTERİTİS
İNFEKSİYONLARINDA BAĞIRSAK MİKROBİYOMU
VE TEDAVİ ALTERNATİFLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZGE YILMAZ ÇAĞIRGAN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kadir Serdar DİKER

AYDIN-2022

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

TAVUKLARDA NEKROTİK ENTERİTİS
İNFEKSİYONLARINDA BAĞIRSAK MİKROBİYOMU
VE TEDAVİ ALTERNATİFLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

ÖZGE YILMAZ ÇAĞIRGAN
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kadir Serdar DİKER

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-190002 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2022

KABUL VE ONAY

TEŞEKKÜR

Çalışma konumun belirlenmesinde ve çalıőmaların yürütülmesinde yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kadir Serdar DİKİER baőta olmak üzere, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Baőkanı Sayın Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ, Sayın Prof. Dr. őükrü KIRKAN, Sayın Prof. Dr. Serap SAVAŐAN, Sayın Doç. Dr. Göksel ERBAŐ, Sayın Doç. Dr. Uęur PARIN ve çalıőmalarım boyunca katkılarını esirgemeyen Arő. Gör. Dr. H. Tuęba YÜKSEL DOLGUN ve Arő. Gör. Yięit SEFEROęLU'na teőekkürlerimi sunarım.

Tez çalıőmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için değerli eőim Dr. A. Anıl ÇAĞIRGAN, abim Ahmet DİKİMEN ve ablam Emine DİKİMEN' e ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tarihçe ve Etiyoloji	2
2.2. Sınıflandırma ve Toksinleri.....	3
2.3. Patobiyoloji ve Epizootiyoloji	7
2.4. Klinik Semptomlar	10
2.5. Patoloji.....	11
2.6. Patogenez.....	12
2.7. Koruma ve Kontrol.....	15
2.8. Teşhis.....	16
2.9. Mikrobiyom	16
2.10. Probiyotik: <i>Bacillus velezensis</i>	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
3.1. Gereç	32
3.1.1. Challenge İçin Kullanılan Cıvıvlar.....	32
3.1.2. Besiyerleri.....	32
3.1.3. Standart Suşlar	32
3.1.4. Challenge Süresince Kullanılan Rasyonlar	33
3.1.5. Mikrobiyom Analizinde Kullanılan Kitler ve Cihaz	35
3.2. Yöntem	35
3.2.1. <i>Clostridium perfringens</i> 'in Hazırlanması	35

3.2.2. Challenge Yapılması	35
3.2.3. Mikrobiyom Analizi	36
3.2.4. Biyoinformatik Analiz.....	38
4. BULGULAR	39
4.1. Klinik Bulgular ve Patolojik Değişiklikler.....	39
4.2. Mikrobiyom Analizi	39
4.2.1. DB Grubu Sekum Mikrobiyomu	39
4.2.2. DS Grubu Sekum Mikrobiyomu	48
4.2.3. NE Grubu Sekum Mikrobiyomu	58
4.2.4. BV Grubu Sekum Mikrobiyomu	66
4.2.5. AB Grubu Sekum Mikrobiyomu	76
4.3. Yeni Nesil Okumaların Değerlendirilmesi	86
4.3.1. Taksonomik Çeşitlilik/ Relative Abundance	86
4.3.3. Gruplar Arası Ortak Taksonlar	109
4.3.4. Venn Diyagramı	113
4.3.5. Alfa Çeşitlilik	114
4.3.6. Beta Çeşitlilik	115
5. TARTIŞMA.....	117
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	123
KAYNAKLAR.....	124
BİLİMSEL ETİK BEYANI	147
ÖZ GEÇMİŞ.....	148

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

- AB** : *Clostridium perfringens*+ Antibiyotik
BV : *Clostridium perfringens*+ *Bacillus velezensis*
CE : Karbonhidrat Esteraz
CFU : Colony Forming Unit
CMM: Cooked Meat Medium
CPA : *Clostridium perfringens* Alfa Toksin
CPB : *Clostridium perfringens* Beta Toksin
CPE : *Clostridium perfringens* Enterotoksin
DB : Deneme Başlangıcı
DNA : Deoksiribonükleik Asit
DS : Deneme Sonrası
ETX : Epsilon Toksin
FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations
FTG : Fluid Thioglycollate medium
GH : Glikozit Hidrolaz
GRAS: Genel Olarak Güvenli
IBD : İnfeksiyöz Bursal Hastalık
IgA : İmmunoglobulin A
ITX : İota Toksin
NCTC: National Collection Of Type Cultures
NE : Nekrotik Enteritis
NGS : Yeni Nesil Dizileme
NSP : Nişasta Olmayan Polisakkarit
ONPG: O-nitrophenyl-beta-D-galactopyranoside
OTU : Taksonomik Bakteri Grubu
PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PL : Polisakkarit Liyaz
RNA : Ribonükleik Asit
rRNA : Ribozomal Ribonükleik Asit

SCFA : Kısa Zincirli Yağ Asitleri

TSA : Tryptic Soy Agar

TSB : Tryptic Soy Broth

WHO : World Health Organisation

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Deneme başlangıcı (DB) grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları43
Şekil 2.	Deneme başlangıcı (DB) grubundaki her bir hayvana cins aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları....47
Şekil 3.	Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.....52
Şekil 4.	Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki her bir hayvana ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları...57
Şekil 5.	<i>C. perfringens</i> verilen NE grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları....61
Şekil 6.	<i>C. perfringens</i> verilen NE grubundaki her bir hayvana ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları...65
Şekil 7.	<i>C. perfringens</i> + <i>B. velezensis</i> verilen BV grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.....70
Şekil 8.	<i>C. perfringens</i> + <i>B. velezensis</i> verilen BV grubundaki her bir hayvana ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.....75
Şekil 9.	<i>C. perfringens</i> + Amoksisilin verilen AB grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.....80
Şekil 10.	<i>C. perfringens</i> + Amoksisilin verilen AB grubundaki her bir hayvana ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.....85
Şekil 11.	Şube düzeyinde gruplar arası karşılaştırma.....88
Şekil 12.	Gruplar arası şube düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması.....89
Şekil 13.	Gruplar arası aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması.....95

Şekil 14.	Gruplar arası aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması (< %1)96
Şekil 15.	Gruplar arası cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması.....106
Şekil 16.	Gruplar arası cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması (< %1)107
Şekil 17.	Taksonomik basamaklara göre gruplar arası takson sayıları.....108
Şekil 18.	Aile düzeyinde Venn Diyagramı.....113
Şekil 19.	Cins düzeyinde Venn Diyagramı.....119
Şekil 20.	Gruplara ait Alpha- diversity skorları.....115
Şekil 21.	Gruplardan elde edilen mikrobiyom analiz sonucunun Bray-Curtis indisine göre benzerliklerinin Principal Coordinat Analizi (PCA-plot).....116

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Toksin üretimine bağlı <i>C. perfringens</i> sınıflandırması.....	5
Tablo 2.	Seçilmiş <i>C. perfringens</i> toksinlerinin gen, lokasyon, biyolojik aktivite ve etkileri.....	7
Tablo 3.	<i>B. velezensis</i> 'in ürettiği sekonder metabolitler ve fonksiyonları.....	29
Tablo 4.	Mısır- soya bazlı diyet ile yüksek oranda balık unu içeren diyet bileşimi ve besin değerleri.....	34
Tablo 5.	16S rRNA geni tam okuma için kullanılan primerler.....	36
Tablo 6.	Deneme başlangıcı (DB) grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.....	40
Tablo 7.	Deneme başlangıcı (DB) grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları.....	44
Tablo 8.	Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.....	49
Tablo 9.	Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları.....	53
Tablo 10.	<i>C. perfringens</i> verilen NE grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.....	59
Tablo 11.	<i>C. perfringens</i> verilen NE grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları.....	62
Tablo 12.	<i>C. perfringens</i> + <i>B. velezensis</i> verilen BV grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.....	67
Tablo 13.	<i>C. perfringens</i> + <i>B. velezensis</i> verilen BV grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları.....	71
Tablo 14.	<i>C. perfringens</i> + Amoksisilin verilen AB grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.....	77
Tablo 15.	<i>C. perfringens</i> + Amoksisilin verilen AB grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.....	81
Tablo 16.	Şube düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları.....	87
Tablo 17.	Şube düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması.....	87

Tablo 18.	Aile düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları.....	91
Tablo 19.	Aile düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması.....	93
Tablo 20.	Cins düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları.....	98
Tablo 21.	Cins düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması.....	102
Tablo 22.	Şube taksonunda gruplar arası farklılıklar.....	109
Tablo 23.	Aile taksonunda gruplar arası farklılıklar.....	109
Tablo 24.	Cins taksonunda gruplar arası farklılıklar.....	111

ÖZET

TAVUKLARDA NEKROTİK ENTERİTİS İNFEKSİYONLARINDA BAĞIRSAK MİKROBİYOMU VE TEDAVİ ALTERNATİFLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Yılmaz Çağırğan Ö. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mikrobiyoloji Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2022.

Amaç: Bu çalışma tavuklarda bağırsak mikrobiyomunun belirlenmesi, Nekrotik Enteritis olgularında *Bacillus velezensis*'in bağırsak mikrobiyomu ve iyileşme üzerindeki etkisinin belirlenerek yapılan bu tedavinin antibiyotik tedavisi ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 16'şar tavuktan oluşan beş farklı grup kullanıldı. İlk grup deneme başlangıcındaki 1 günlük civcivlerden oluşan deneme başlangıcı (DB) grubu, ikinci grup deneme sonuna kadar yetiştirilen deneme sonrası kontrol grubu (DS), üçüncü grup *C. perfringens* verilen grup (NE), dördüncü grup *C. perfringens* + *B. velezensis* verilen grup (BV), beşinci grup ise *C. perfringens* + amoksisilin verilen grup (AB) olarak belirlendi. Deneysel enfeksiyonu takiben tüm gruplara servikal dislokasyon yoluyla ötenazi yapıldı. Alınan sekum içeriğinden 16S rRNA geni sekanslanarak metagenomik analize tabi tutuldu. Elde edilen verilere istatistiksel analiz yapıldı.

Bulgular: Ötenazi sonrası yapılan makroskopik incelemede yalnızca *C. perfringens* verilen NE grubunda bulunan tavukların bağırsaklarında patolojik değişiklikler olduğu görüldü. Bağırsakların şişkin olduğu, mukozasının ise hafif kanamalı olduğu gözlemlendi. Deneme başlangıcı grubu (DB), deneme sonrası kontrol grubu (DS), *C. perfringens* + *B. velezensis* verilen grup (BV) ve *C. perfringens* + amoksisilin verilen grup (AB) için makroskopik bulguya rastlanmadı. Mikrobiyom analizi sonucunda NE grubu mikrobiyom zenginliğinin azaldığı, normal hayvanların mikrobiyomuna en yakın mikrobiyomun BV grubuna ait olduğu, bunu AB grubunun izlediği görüldü.

Sonuç: Bu çalışmada nekrotik enteritisin mikrobiyom üzerindeki olumsuz etkisinin azaltılması için *B. velezensis*'in profilaktik antibiyotik kullanımına alternatif olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: *B. velezensis*, Broyler, Deneysel Enfeksiyon, Mikrobiyom

ABSTRACT

INTESTINAL MICROBIOM IN NECROTIC ENTERITIS INFECTION OF BROILER AND COMPARISON OF TREATMENT ALTERNATIVES

Yılmaz Çağırğan Ö. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Microbiology Program, Doctorate Thesis, Aydın, 2022.

Objective: The aim of this study is to determine the intestinal microbiome of chickens and to compare the effect of *B. velezensis* on intestinal microbiota and healing in cases of Necrotic Enteritis to antibiotic treatment.

Materials and Methods: The study used five different groups of 16 chickens. The first group is the start-of-challenge (DB) group, which consists of 1-day-old chicks; the second group is the post-challenge control group (DS), which is reared until the end of the challenge; the third group is *C. perfringens* (NE) group; the fourth group is *C. perfringens* + *B. velezensis* (BV) group; and the fifth group is *C. perfringens*+ amoxicillin (AB) group. All groups were euthanized by cervical dislocation after the experimental infection. Following extraction, feces samples from the cecum were subjected to 16S rRNA gene-based metagenomic analysis. The collected data was statistically analyzed.

Results: Pathological changes in the intestines of the chickens in the NE group given only *C. perfringens* were observed in the macroscopic examination performed after euthanasia. The intestines were found to be swollen and the mucosa to be slightly bleeding. There were no macroscopic findings in the start-of-challenge (DB), post-challenge control group (DS), *C. perfringens* + *B. velezensis* group (BV), or *C. perfringens* + amoxicillin group (AB). The abundance of the NE group microbiome dropped as a result of microbiome analysis; the microbiome that was closest to the microbiome of normal animals belonged to the BV group, followed by the AB group.

Conclusion: It was concluded in this study that *B. velezensis* could be used instead of prophylactic antibiotics to reduce the negative effects of necrotic enteritis on the microbiome.

Keywords: *B. velezensis*, Broiler, Challenge, Microbiome

1. GİRİŞ

Gastrointestinal sistem sağlığı sindirimi, emilimi, hastalıklara karşı direnci ve immun sistemi etkilemektedir ve enterik hastalıklara predispozisyonu arttırmaktadır (M'sadeq ve diğerleri, 2015). Enterik hastalıklar üretimi düşürmesi, mortaliteyi arttırması, refah düzeyini düşürmesi ve kontamine kanatlı ürünlerinin insanlar tarafından tüketilmesi nedeni ile oldukça önemlidir (Patterson ve Burkholder, 2003; Van Immerseel ve diğerleri, 2004). *C. perfringens* gıda zehirlenmelerinde *Campylobacter* ve *Salmonella*'dan sonra en yüksek oranda izole edilen bakteridir (Van Immerseel ve diğerleri, 2004). Büyüyen kanatlı sektöründe hayvanların enterik sağlığı, üretimin başarısı için zorunludur. Kanatlı hayvan üretiminin temel rolü, yem malzemelerini ete dönüştürmektir. Yapılan herhangi bir değişiklik, sindirim sisteminin mekanik, kimyasal veya biyolojik (enterik bozukluklar) nedenli rahatsızlıkları çoğunlukla düşük performansla seyretmekte, artan ölüm oranları ve artan ilaç kaynaklı mali kayıplar ekonomiye zarar vermektedir (Hafez, 2011; M'sadeq ve diğerleri, 2015). Sebep olduğu ekonomik kaybın dünya çapında 2 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir. Hastalık, ekonomik kayıplara sebep olduğu için dünya çapında önemli bir problem haline gelmiştir (Opengart ve Songer, 2013).

Nekrotik enteritis *Clostridium perfringens*'in sebep olduğu, daha çok genç tavukların hastalığıdır (Opengart ve Songer, 2013). Nekrotik enteritisin üretim kayıpları ve mevcut kontrol önlemleri açısından küresel kanatlı endüstrisine yılda 5- 6 milyon \$ zararı olduğu tahmin edilmektedir (Moorea, 2016; Wade ve Keyburn, 2015). Hastalık kanatlılarda hem infeksiyon hem de intoksikasyon şeklinde seyretmektedir (Opengart, 2008). *C. perfringens* ayrıca insanlarda gıda kaynaklı hastalıklara sebep olmaktadır. Kümeste nekrotik enteritis çıkmasında bakım ve besleme koşullarının önemi büyüktür. Diyette yüksek oranda balık unu bulunması, arpa ve buğday ağırlıklı diyetler ve fermente edilebilir karbonhidrat kaynakları nekrotik enteritis oluşumunu arttırıcı etki yapmaktadır. Yem katkı maddesi olarak antimikrobiyallerin kullanımının kaldırılması nekrotik enteritis oranında artışa sebep olmuştur. Nekrotik enteritisten korumanın en iyi yolu diyet kontrolü ve etkene maruz kalmayı azaltmaktır. Bunun yanında koksidiostatik ilaç kullanımı da diğer bir seçenektir (Opengart ve Songer, 2013).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe ve Etiyoloji

C. perfringens ilk kez Amerikalı bir bilim adamı olan William H. Welch tarafından 1897 yılında Gram (+), anaerob ve sporlu bir bakteri olarak tanımlanmış ve bakterinin yara infeksiyonlarında rol oynadığı belirtilmiştir. William H. Welch, ilk otopsiyi John Hopkins Üniversitesi hastanesinin patoloji laboratuvarında 28 Mayıs 1889 yılında yaptıktan sonra 1892 yılında, ölen bir hastanın otopsi sonucunda, nekrotik yaralarda gaz kabarcıklarını gözlemlemiş ve ölümden sonra gaz oluşumuna neden olan yeni bir bakteri keşfetmiştir. "Bacillus aerogenes capsulatus" adını verdiği bu bakteriyi, arkadaşı Nutall ile birlikte vaka raporu olarak yayınlamışlardır (Lucey ve Hutchins, 2004). Ancak kapsül oluşumuyla ilgili net bilgiye sahip olunamadığından keşfedilen bu bakterinin ismi *Clostridium welchii* olarak değiştirilmiştir. Daha sonra *Bacillus enteritidis sporogenes*, *Bacillus perfringens*, *Bacterium welchii* ve *Clostridium welchii* isimleri kullanılmış ancak en son Latince'de "patlama" anlamına gelen *perfringens* kelimesi kullanılarak '*Clostridium perfringens*' olarak literatürde yerini almıştır (Holt ve diğerleri, 1994; Lucey ve Hutchins, 2004). Tavuk eti tüketen çocuklardan izolasyonu ile birlikte 1943 yılında *C. perfringens* gıda kaynaklı infeksiyon etkeni olarak kabul edilmiştir (Gross ve diğerleri, 1989).

Evcil tavuklarda nekrotik enteritis ise ilk defa 1961 yılında Parish tarafından tanımlanmıştır. Parish nekrotik enteritisi akut ve kronik olarak ayırmıştır (Parish, 1961). Hastalık batı Avustralya (Nairn ve Bamford, 1967), Amerika (Parish, 1961), Fransa (Casewell ve diğerleri, 2003) ve Kanada (Helmboldt ve Bryant, 1971) olmak üzere birçok ülkede bildirilmiştir. Bennets 1930 yılında siyah Orpington pilicindeki bağırsak lezyonlarından *C. welchii* izole ederek nekrotik enteritise ait ilk vaka raporunu yayınlamıştır. Altı gün hastalığı'nın da *C. perfringens*'in bağırsak mukozasına invazyonu ile karakterize bir hastalık olduğu belirtilmiştir (Opengart ve Songer, 2013).

Nekrotik enteritis tavuklarda *C. perfringens*'in sebep olduğu bir hastalıktır. Hastalık ayrıca klostridial enterit, enterotoksemi ve çürük bağırsak olarak da bilinmektedir (Opengart ve Boulianne, 2020). *Clostridium* türleri toprakta, insan ve hayvanların bağırsaklarında

bulunmaktadır. Gram (+), çomak şeklinde, anaerobik ve sporlu bir bakteridir (Akan, 2006). Boyutları 0.2-0.4 µm ile 1.5-2 µm arasında değişmektedir. Mikroskopta düzgün veya hafif eğri çomaklar, tekli, zincir ya da filamentler şeklinde görülmektedir. *C. perfringens* tip IV pili ile hareketlidir ve kapsüllüdür (Akan, 2006, Opengart ve Songer, 2013). pH 5.5'den pH 8.5'a kadar üreyebilmektedir, ancak optimum pH 6-7'dir (McClane, 2001). Sükroz, laktoz, dekstroz ve maltozu fermente ederek gaz oluşumuna sebep olmaktadır. Metil red, Voges- proskauer ve indol testleri negatiftir. Kanlı agarda β hemoliz yapmaktadır. Triple Sugar Iron yatık agarında siyah koloniler oluşturmaktadır (Miah, 2011). TSC agar sodium metabisulphite ve ferric amonium citrat içerdiği için etken bu besiyerinde siyah renkli koloniler oluşturmaktadır (Labbe ve Harmon, 1992). Üreme sıcaklığı 12-50°C aralığında değişmektedir (Adams ve Moss, 1995). Optimum üreme sıcaklığı olan 43-47°C'de *C. perfringens*, 8-10 dakikalık bir generasyon süresi ile son derece hızlı bir şekilde büyümektedir (Bryant ve Stevens, 1997). Ortamda oksijen olduğunda ferrodoksin gibi indirgeyici moleküller üreterek aerotolerant özellik göstermekte ve gelişmeye devam etmektedir (Cato ve diğerleri, 1986; McClane, 2007). *C. perfringens*'in üremesi için çeşitli selektif besiyerleri bulunmaktadır (Byrne ve diğerleri, 2008). Yumurta sarısı içeren besi yerinde tipik yanardöner renk göstermektedir (Miah ve diğerleri 2011). Reinforced Clostridial Agar (RCA) ve Tryptose Sulphite Cycloserine (TSC) Agar *C. perfringens*'in en iyi üreme gösterdiği besiyerleridir (Byrne ve diğerleri, 2008).

C. perfringens yeryüzünde geniş yayılım göstermektedir. *C. perfringens*'in DNA'sı Alplerde bulunan bir mumyanın kalın bağırsağından izole edilmiştir. Bu izolasyon bakterinin 5000 yıldır insanlarda ve doğada var olduğunu göstermektedir (Cano ve diğerleri, 2000).

Nekrotik Enteritis'in etkeni sadece *C. perfringens* tip A ve tip C olarak bilinmekteyken, yeni toksin toplama şemasına göre (Moorea, 2016), NetB toksini üreten *C. perfringens* tip G de, tavukta klostridial enteritisin etkeni olarak kabul edilmiştir (Keyburn ve diğerleri, 2008; Gu ve diğerleri, 2019; Opengart ve Boulianne, 2020).

2.2. Sınıflandırma ve Toksinleri

NE semptomlarının ve lezyonlarının oluşumundan hastalığın etkeni olan *C. perfringens*'in ürettiği enzimler ve toksinler sorumludur. *C. perfringens*'in bağırsak yolunda çoğalması, toksin üretimine yol açmakta, böylece karakteristik nekrotik enteritis lezyonlarını ve klinik enteritis belirtilerini indüklemektedir (Mohiuddin ve diğerleri, 2021).

Clostridium perfringens 20 veya daha fazla ekzotoksin ve hidrolitik enzim üretmektedir. Ancak sınıflandırılması üretilen 6 ekzotoksinin kombinasyonuna dayanmaktadır (Rood ve diğerleri, 2018). *C. perfringens* suşlarının sınıflandırılması için mevcut şema 1960'larda tamamlanmıştır ve bu şemaya göre *C. perfringens* suşları dört tip toksin, alfa-toksin, β -toksin, ϵ -toksin ve iota toksin, belirlenerek toksin tiplerine göre A'dan E'ye kadar sınıflandırılmışlardır (Shojadoost ve diğerleri, 2012; Rood ve diğerleri, 2018).

Son yıllarda yeni toksinlerin keşfedilmesi (β_2 , NetB, TpeL) ile birlikte bu şema güncelliğini yitirmiş ve yeni bir sınıflandırma şemasının oluşturulmasına ihtiyaç duyulmuştur (Shojadoost ve diğerleri, 2012; Keyburn ve diğerleri, 2008; Rood ve diğerleri, 2018). Tipleme sisteminin genişletilmesi, birkaç yıldır yazarların çoğu arasında tartışma konusu olmuştur ve Ağustos 2017'de ABD'de Ann Arbor'da düzenlenen 10. Uluslararası Clostridia Moleküler Biyoloji ve Patogenezis Konferansı'nda sunulmuş ve onaylanmıştır. Genişletilmiş bir tiplendirme şemasının hem teşhis hem de araştırma odaklı laboratuvarlar tarafından daha kolay kabul edileceği ve daha yaygın olarak kullanılacağı düşünüldüğünden tamamen yeni bir şemadan ziyade mevcut toksin bazlı tiplendirme şemasının üzerinde genişleme yapılmasına karar verilmiştir (Rood ve diğerleri, 2018). Yeni sınıflandırma, altı ana toksinin üretimine dayanmaktadır: alfa-toksin, beta-toksin, epsilon-toksin, iota-toksin, enterotoksin ve nekrotik enterit B- toksin (Navarro ve diğerleri, 2018). Toksin üretimine bağlı *C. perfringens* sınıflandırması Tablo 1.'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Toksin üretimine bağlı *C. perfringens* sınıflandırması (Rood ve diğerleri, 2018).

Toksinojenik Gruplar	Majör Toksinler					
	Alfa-CPA (plc/cpa)	Beta-CPB (cpb)	Epsilon-ETX (etx)	Iota-ITX (iap ve ibp)	Enterotoksin-CPE (cpe)	NetB-NetB (netB)
A	+	-	-	-	-	-
B	+	+	+	-	-	-
C	+	+	-	-	+/-	-
D	+	-	+	-	+/-	-
E	+	-	-	+	+/-	-
F	+	-	-	-	+	-
G	+	-	-	-	-	+

*toksin yapısal genlerinin isimleri parantez içinde gösterilmiştir

C. perfringens tip B, D ve E toksinleri kanatlılarda hastalığa sebep olmamaktadır (Van Immerseel ve diğerleri, 2004). *C. perfringens* tip F, *C. perfringens* enterotoksin (CPE) üreten ancak β -toksin, ϵ -toksin veya iota-toksin üretmeyen suşlardan oluşmaktadır. F tipi suşlar, *C. perfringens* aracılı insan gıda zehirlenmesinden ve antibiyotik ilişkili diyareden sorumlu suşları içermektedir. *C. perfringens* tip G, NetB toksini üreten suşlardan oluşmaktadır (Rood ve diğerleri, 2018).

30 yılı aşkın bir süredir, *C. perfringens* α -toksinin kanatlılarda nekrotik enteritise sebep olan en önemli virulens faktörü olduğu düşünülmekteydi (Van Immerseel ve diğerleri, 2004, Van Immerseel ve diğerleri, 2008; Keyburn ve diğerleri, 2008). Anti- α -toksin serumu ile nötralize edilmiş olan *C. perfringens* sıvı kültür uygulanmış tavuklarda ölüm olmaması (Fukata ve diğerleri, 1988), NE'li ve NE'siz tavuk gruplarının her ikisinde de α -toksin bulunmasına rağmen NE'li guplarda α -toksin miktarının daha fazla olması (Hofshagen ve Stenwig, 1992) bu düşünceyi desteklemiştir. Daha önce, bazı araştırmacıların, hayvan modeli çalışmaları temelinde tek başına alfa toksin üreten A tipinin nekrotik enteritis infeksiyonuna neden olabileceğine dair inanışları (Cooper ve Songer, 2010) α -toksin üretimini lezyonların şiddetiyle korelasyon içinde olmadığı görüldüğünde (Keyburn ve diğerleri, 2006) ve alfa toksini olmayan G tipi mutant suş tavukta NE'yi indüklediğinde sorgulanmaya başlanmıştır (Keyburn ve diğerleri, 2008; Li ve diğerleri 2017). NetB, *C. perfringens*'in β toksini ve

Staphylococcus aureus'un α -toksini ile sınırlı amino asit dizi benzerliği gösteren gözenek formu (pore-forming) bir toksin olarak tanımlanmıştır. NetB toksinin nekrotik enteritise sebep olan ilk kesin virulens faktörü olduğu kabul edilmiştir (Keyburn ve diğerleri, 2008; Cooper ve Songer, 2010; Smyth ve Martin, 2010). NE'li tavuklar NetB genini taşımaktadırlar (Keyburn ve diğerleri, 2010). NetB geni, 85 kb'lik bir plazmid üzerinde bulunan 42 kb'lik bir patojenite lokusu (NELoc-1) ile ilişkilidir. Birçok çalışanın nekrotik enteritisi yeniden üretmede yaşadığı zorluk, netB'nin yokluğu, NELoc-1'deki diğer genlerdeki mutasyonlar, düzenleyici genlerdeki mutasyonlardır (Prescotta ve diğerleri, 2016). Ana virülans faktörü NetB'yi kodlayan genin bir konjugatif plazmid üzerinde taşındığının bulunması (Bannam ve diğerleri, 2011; Parreira ve diğerleri, 2012), farklı *C. perfringens* suşları arasında plazmid değişimi olasılığını ortaya çıkarmaktadır. NetB plazmidinin patojenik olmayan bir suşa transferinin onu patojenik bir suşa dönüştürmesi mümkündür. NetB toksinini kodlayan plazmid ayrıca, hastalığın ilerlemesi sırasında *C. perfringens*'in patojenik suşlarının korunmasını ve çoğalmasını potansiyel olarak artıracak proteinleri kodlayan bir dizi başka geni de barındırmaktadır (Moorea, 2016). Kuzey Amerika'da yapılan surveyde NE'li kuşların tamamının NetB genini taşıdığı ancak NE'siz kuşların çok az bir kısmında bu gen olduğu sonucuna varılarak NetB geninin önemi kanıtlanmıştır. Tüm bu çalışmalar NetB'nin NE gelişiminde önemli bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır (M'sadeq ve diğerleri, 2015). Ayrıca, netB mutanı, nekrotik enteritise neden olan bir *C. perfringens* izolatında elde edilen rasyonel olarak ilk zayıflatılmış türdür; bu nedenle önemli bir aşı potansiyeline sahiptir (Keyburn ve diğerleri, 2008).

Yeni toksin tiplene şemasına göre, *C. perfringens* tip G, tavukta klostridial enteritisin ana etkenidir. G tipi suşlar, nekrotik enterit B (NetB) toksini kodlayan netB genine sahiptir ve ayrıca alfa toksini üretmektedir. Ek olarak G tipi, cpb2 (β 2) ve tpeL (Keyburn ve diğerleri, 2008; Gu ve diğerleri, 2019) gibi diğer toksinleri de içerebilmektedir. NetB toksininin TpeL toksini ile birlikte bulunması hastalığın şiddetli olmasına sebep olmaktadır. β 2 toksin domuz, at ve sığır gastro-enteritisi ile ilişkilendirilmiştir (Van Immerseel, 2004). Ayrıca bu toksinin avian *C. perfringens* tip A'da varlığı gösterilmiştir, ancak patogenezdaki rolü kesin olarak bilinmemektedir. β 2 toksin β toksin ile aynı biyolojik aktiviteye sahip olmasına karşın diğer clostridial toksinler ile çok az dizi homolojisi göstermiştir (Van Immerseel, 2004; Bueschel ve diğerleri, 2003). Seçilmiş *C. perfringens* toksinlerinin gen, lokasyon, biyolojik aktivite ve etkileri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2. Seçilmiş *C. perfringens* toksinlerinin gen, lokasyon, biyolojik aktivite ve etkileri (Opengart ve Boulianne, 2020).

Seçilmiş <i>Clostridium perfringens</i> Toksinleri				
Toksin	Gen	Lokalizasyon	Biyolojik Aktivite	Etki
CPA	cpa	Kromozomal	Nekrotizan, hemolitik, düz kas kasılması	Fosfolipaz C/Sfingomiyelinaz
CPB	cpb1	Plazmid	Dermonekroz, Ödem, Enterotoksik	Gözenek oluşturu
CPB2	cpb2	Plazmid	Dermonekroz, Ödem, Enterotoksik	Bilinmiyor
Enterotoksin/CPE	cpe	Kromozomal/Plazmid	Eritem	Gözenek oluşturu
NetB	netB	Plazmid	Enterotoksik	Gözenek oluşturu
TpeL	tpel	Plazmid	Bilinmiyor	Glikozile edici sitotoksin

Predispoze faktörlerin yokluğunda netB toksininin nekrotik enteritise neden olma derecesi hakkında endişeler artmaktadır. Bunun nedeni, netB geninin sağlıklı tavuktan da izole edilmiş olmasıdır (Abildgaard ve diğerleri, 2010). Ancak predispozan faktörlerin rolü, hastalığın şiddetini arttırmada kritiktir ve anlaşılması önemlidir (Li ve diğerleri, 2017). Clostridial bakteriler kullanılarak tek başına nekrotik enteritisin üremesi ve şiddeti, *C. perfringens* tipine, ek toksinlerin varlığına, saf kültürün zenginleştirilmesi protokolüne ve bakteriyel tehdidin yolu, zamanlaması, dozu ve sıklığına bağlıdır (Riddell ve Kong, 1992; Van Immerseel, 2008).

2.3. Patobiyoloji ve Epizootiyoloji

Nekrotik enteritis'e sebep olan *Clostridium* suşlarının kaynağı genellikle yine tavukların kendisidir. *Clostridium* sağlıklı tavukların bağırsaklarına kalıcı veya geçici olarak yerleşebilmektedir (Opengart ve Songer, 2013). Sağlıklı tavukların ince bağırsak içeriğinde 10^2

10^4 CFU/g *C. perfringens* bulunurken 10^7 - 10^9 CFU/g *C. perfringens* hastalığa sebep olmaktadır (Shojadoost ve diğerleri, 2012). Yapılan hastalık bildirimlerinin çoğunluğu 2-6 haftalık broylerlerdedir (Shojadoost ve diğerleri, 2012; M'sadeq ve diğerleri, 2015; Rathnapraba ve diğerleri, 2017). Ancak, 3-6 aylık kafes sisteminde yetiştirilen yumurtacılar ve 12-16 haftalık piliçler ile 7-12 haftalık hindi palazlarında görülmüş ve hastalığın askarit ya da coccidiosis enfestasyonu ile eş zamanlı seyrettiği bildirilmiştir (Ficken ve Wages, 1997; M'sadeq ve diğerleri, 2015; Rathnapraba ve diğerleri, 2017). Hastalık ayrıca hindilerde ve japon bıldırcınlarında görülebilmektedir (Ficken ve Wages, 1997). Nekrotik enteritis ördek, kaz, Laysan albatrosu, kuğu, Amerika bıldırcını gibi çeşitli yaban kuşlarında da bildirilmiştir (M'sadeq ve diğerleri, 2015).

C. perfringens kolonizasyon ve kontaminasyonunun kuluçka döneminde ya da yaşamın erken döneminde çevre kaynaklı meydana geldiği bildirilmiştir (Opengart ve Songer, 2013; M'sadeq ve diğerleri, 2015). *C. perfringens* dışkı, toprak, toz, kontamine yem ve altlık ya da bağırsak içeriğinden izole edilebilmektedir. Daha çok intestinal sistem izolasyonlarının varlığından bahsedilse de çeşitli salgınlarda hastalığın kontamine altlık ve kontamine yem kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Ficken ve Wages, 1997). Etken yumurta kabuklarında, kağıt pedlerde ve kuluçkadaki kepekte bulunmuştur. Kontaminasyon damızlık tavuklarla başlayabilmekte ve kuluçkadan sonra yetiştirme alanına taşınabilmektedir (M'sadeq ve diğerleri, 2015). Kümes hayvanlarının günümüz ve geçmiş nekrotik enteritis salgınları *C. perfringens* ile kontamine yemler ile ilişkilendirilmiştir (Opengart ve Songer, 2013; M'sadeq ve diğerleri, 2015). Bulaşmada vektörler de önemlidir (Opengart ve Songer, 2013). Karga gibi serbest dolaşımli kuşlar yüksek sayıda *C. perfringens* içeren bağırsak içerikleri ile etkeni yabani kuşlara yaymaktadır (M'sadeq ve diğerleri, 2015).

Ancak basit bir infeksiyon hastalığı hızlandırmak için yeterli değildir. *C. perfringens* artışına elverişli bir ortam oluşturmak için predispoze faktörler gereklidir (Pan ve Yu, 2014). Sağlıklı kuşlarda *C. perfringens*'in patojenik olmayan suşlar patojenik suşlardan (netB-pozitif suşlar) çok daha yaygın olarak izole edilmektedir. Patojenik suşların sağlıklı kuşlarda mevcut olup olmadığı, patojenik olmayan suşlardan daha düşük seviyelerde olup olmadığı veya birçok hastalık salgınında hakim olan *C. perfringens*'in yeni ortaya çıkıp çıkmadığı belirsizdir. Ancak patojenik suşlar gastrointestinal sistemde çoğaldığında, NetB toksinindeki artış gastrointestinal sistem epitelinde büyük hasara neden olmaktadır. nekrotik enteritisin insidansını veya şiddetini arttırdığı deneysel olarak kanıtlanmış birçok predispozan faktör (yem partikül boyutu, mevsimsel etkiler, yem kısıtlaması) vardır (Moorea, 2016).

Yüksek lifli altlık Nekrotik enteritis oluşumunda risk oluşturmaktadır (Opengart ve Songer, 2013; M'sadeq ve diğerleri, 2015). Bazı yetiştiriciler 8-10 sürü için aynı altlığı kullanmaktadır. Bazıları ise altlığın yalnızca üst kısmındaki 5- 10 cm yüksekliğindeki bölümünü uzaklaştırmaktadırlar. Her iki uygulama da kümese yeni getirilen civcivlerin Eimeria oocystlerine, koliformlara ve *C. perfringens*'e maruz kalmalarına sebep olmaktadır (Opengart ve Songer, 2013). Coccidiosis *C. perfringens* sayısını arttırmasına ve toksin üretimine sebep olmasıyla NE predispozisyonuna sebep olan en önemli faktörlerden biridir. Eimeria infeksiyonu sırasında bağırsak lümenine sızan protein içeren plazma *C. perfringens* ve toksin üretimi için substrat görevi görmektedir (Shojadoost ve diğerleri, 2012).

Bazı diyet bileşenleri nekrotik enteritis için predispozan faktörlerdir. Diyet bileşenleri, sindirimin fiziksel özelliklerini değiştirebilmekte, *C. perfringens*'in büyümesini artırabilmekte ve gastrointestinal sistemde bulunan mikrobiyotayı değiştirebilmektedir (Moorea, 2016).

Birçok predispozan faktör birden fazla etkiye sahiptir. Yüksek seviyelerde nişasta olmayan polisakkaritlere sahip buğday, çavdar, yulaf, arpa gibi yemler hem bağırsak viskozitesini arttırmakta hem de *C. perfringens* büyümesi için substratlar sağlamaktadır (Annet ve diğerleri, 2002). Eimeria infeksiyonu bağırsak yüzeyinde fiziksel hasara ve bağışıklık değişikliklerine neden olmakta ve mukogenezi uyarmaktadır (Collier ve diğerleri, 2008); diyetle balık unu eklenmesi pH artışına sebep olarak *C. perfringens* büyümesini indüklemekte ve bağırsaklara zarar veren biyojenik aminler ortaya çıkarmaktadır (Barnes ve diğerleri, 2001). Bu değişiklikler bağırsak mikrobiyotaya profilini değiştirebilmektedir (Moorea, 2016). Kuşları nekrotik enteritise yatkın hale getirebilecek fiziksel, çevresel ve yem değişiklikleri ile ilgili farklı çalışmalar da bulunmaktadır (Allaart ve diğerleri, 2013; M'sadeq ve diğerleri, 2015).

Büyüme faktörü olarak antibiyotik kullanımı antibiyotik direnci oluşturması nedeniyle yasaklandıktan sonra kanatlılarda nekrotik enteritisle ilişkilendirilen *C. perfringens*'in insidensinde artış görülmüştür (Van Immerseel ve diğerleri, 2004).

Koksidiyal infeksiyonlar, Marek hastalığı virusu, IBD virusu, tavuk anemi virusu, aşırı kalabalık, amonyak, çevresel stres de hayvanı hastalığa yatkın hale getirmektedir (Moorea, 2016).

NE sıklığı ayrıca yem kısıtlaması, diyet değişikliğinden, yönetim kaynaklı stresten ve iklim değişikliklerinden etkilenmektedir (Olkowski ve diğerleri, 2006; M'sadeq ve diğerleri, 2015; Opengart ve Songer, 2013). İntestinal mukozanın zarar görmesi diğer bir predispozisyon faktörüdür (Ficken ve Wages, 1977). Glisin amino asiti de alfa toksin üretimini uyarmaktadır (Wilkie ve diğerleri, 2005). Yüksek oranda hayvansal orijinli protein içeren diyetler ile çavdar,

buğday ve arpa içeren diyetler nekrotik enteritise predispozisyonu arttırmaktadır (Ficken ve Wages, 1977, Shojadoost ve diğerleri, 2012). Yapılan bir çalışmada *C. perfringens* seviyesinin en yüksek görüldüğü civcivler hayvansal protein içerikli rasyonla (% 40 ham protein/rasyon) beslenenler olurken, en az görüldüğü civcivler bitkisel kaynaklı protein içerikli rasyonla beslenen civcivler olmuştur. Yüksek oranda balık unu içeren rasyonlarla beslenen hayvanlarda *C. perfringens* sayısında ve alfa toksin konsantrasyonunda artış görülmektedir (Shojadoost ve diğerleri, 2012).

Hastalığın hangi mevsimde daha sık görüldüğü ve dağılımı ülkelere göre değişiklik göstermektedir. Hastalık tek değişkenli regresyon analizine göre güneydoğu Norveç'te ekim-mart aylarına göre nisan-eylül aylarında daha sık; Kanada'da daha çok temmuz- ekim aylarında; Amerika'da ise kış aylarında daha sık, sıcak aylarda daha az görülmektedir (M'sadeq ve diğerleri, 2015). Hastalığın oluşmasında yem partiküllerinin büyüklüğü de önemlidir. Çok öğütülmüş olan yemler *C. perfringens*'in daha hızlı çoğalmasına sebep olmaktadır. İnce bağırsaktaki tripsin *C. perfringens* toksinlerini yıkımlamaktadır. Bu nedenle, ısı işlem görmemiş soya fasülyesi bazlı rasyondaki tripsin inhibitörleri nekrotik enteritis kaynaklı lezyonların şiddetini yemdeki soya miktarıyla doğru orantılı olarak arttırmaktadır (Shojadoost ve diğerleri, 2012).

2.4. Klinik Semptomlar

Hastalığın klinik belirtileri çok kısa sürmekte, genellikle depresyonu takip eden ani artışlı ölümler gözlenmektedir (Rathnapraba ve diğerleri, 2017). Hastalığın klinik ve subklinik olmak üzere iki formu vardır (Shojadoost ve diğerleri, 2012). Nekrotik enteritisin klinik formunda tüylerde karışıklık, hareketlerde azalma, depresyon, anoreksi, ishal ve dehidrasyon görülmektedir (Opengart ve Songer, 2013). Klinik belirti gösteren kanatlılar genellikle birkaç saat içerisinde ölmektedirler ve mortalite günde % 1-50 arasında değişmektedir (Shojadoost ve diğerleri, 2012; M'sadeq ve diğerleri, 2015; Opengart ve Boulianne, 2020). Subklinik formda ise performans düşüklüğü vardır ancak ölüm yoktur, ekonomik kayıp klinik forma göre daha fazla olmaktadır (Shojadoost ve diğerleri, 2012). İntestinal mukozanın hasar görmesi sonucunda sindirim, absorpsiyon ve yem dönüşüm oranı azalmaktadır (Ficken ve Wages, 1977; Van Immerseel ve diğerleri, 2004; M'sadeq ve diğerleri, 2015). Islak altlık, yem ve kilo alımındaki azalma bazen hastalığın erken habercisi olabilmektedir (M'sadeq ve diğerleri,

2015). Akut formda kümeste ölümler aniden artmakta ve hayvanlar genelde gözle görülür bir bulgu göstermeden ölmektedirler (Van Immerseel ve diğerleri, 2004; M'sadeq ve diğerleri, 2015; Opengart ve Boulianne, 2020).

2.5. Patoloji

Doğal olarak meydana gelen salgınlardaki büyük lezyonlar genellikle ince bağırsakla, özellikle de jejunum ve ileumla sınırlıdır ancak sekum lezyonları da tanımlanmıştır (Wade ve Keyburn, 2015). Bağırsaklar kolay parçalanır ve şişkin durumdadır (Shojadoost ve diğerleri, 2012; Opengart ve Boulianne, 2020). Mukoza, genellikle “Türk havlusu görünümüne sahip” olarak tanımlanan, bağırsağa sıkı bir şekilde yapışmış sarı ila yeşil psödomembran ile kaplanmaktadır. Kanama görülebilmektedir ancak kanama belirgin bir özellik değildir. Deneysel olarak, duodenum ve jejunumda gri, kalınlaşmış bir mukoza ile karakterize lezyonlar, *C. perfringens*'in hayvanlara verilmesini takiben 3 saat kadar erken bir sürede gözlenebilmektedir. 5 saat sonra, zaman içinde difteritik bir membran oluşumu ile şiddetli fibrinonekrotik enterite ilerleyen bağırsak mukozası nekrozu görülmektedir (Ohtani ve diğerleri, 2002; Wade ve Keyburn, 2015). Ten rengi karaciğerler ve nekrotik odaklar ile karakterize hepatit bildirilmiştir. Hastalığın daha hafif bir formu, infeksiyonun klinik belirtileri olsun veya olmasın, bağırsak mukozal nekrozu, hepatik nekroz ve bozulmuş performans gibi odak alanları ile karakterize edilmiştir (Wade ve Keyburn, 2015).

Mikroskobik olarak geniş villöz nekroz görülmektedir ve hücresel dejenerasyon submukozaya veya muscularis mukozasına ulaşabilmektedir. Koagülasyon nekrozu villöz apislerde sık görülür ve nekrotik ve normal doku arasındaki sınır birleşme yerinde mononükleer hücrelerin birikmesi ile tanımlanmaktadır (Long ve diğerleri, 1974). Enfeksiyöz sürecin başlarında villus uçlarına büyük, Gram (+) çomaklar yerleşmekte (Parnt ve diğerleri, 2017) ve bu etkenler daha sonra nekroz alanları ile ilişkilendirilmektedir. *C. perfringens* dolaşıma ve daha sonra safra kanallarına erişerek kolanjiyohepatit gelişimine neden olabilmektedir (Lovand ve Kaldhusdal, 1999). Mikroskopik olarak incelenen soluk, fokal karaciğer lezyonları (Van Immerseel ve diğerleri, 2004), geniş periportal koagülatif nekrozu veya merkezi olarak yerleştirilmiş Gram (+) çomaklı granülomları ve safra kanalı proliferasyonunu ortaya koymaktadır (Lovand ve Kaldhusdal, 1999).

2.6. Patogenez

İnce bağırsak mukus tabakasının kolonizasyonunun bozulması nekrotik enteritisin gelişimi için predispoze faktörlerdendir. Bağırsak epitel hücreleri tarafından salgılanan (McGuckin ve diğerleri, 2011; Ficko-Blean ve diğerleri, 2012) mukus, çeşitli antimikrobiyal moleküller içeren müsin glikoproteinleri bakımından zengindir ve bağırsak epitel hücrelerinin kolonizasyonuna katkıda bulunarak bakteri kolonizasyonuna engel olmaktadır (Prescott ve diğerleri, 2016). Müsin glikoproteinlerinin üzerinde mikrobiyal adhezinler için çok sayıda potansiyel bağlanma bölgesi vardır ve bunları metabolize edebilen bakteriler için bir enerji kaynağı sunmaktadır (McGuckin ve diğerleri, 2011; Ficko-Blean ve diğerleri, 2012). *C. perfringens* müsin içindeki spesifik O-glikanları parçalama yeteneğine sahiptir (Fujita ve diğerleri, 2011; Ficko-Blean ve diğerleri, 2012). Aynı zamanda nekrotik enteritis izolatları, müsinleri parçalayabilen ek enzimlere sahiptir. Nekrotik enteritis izolatlarının majör patojenite lokusunda (NELoc1) bulunan kitinaz geninin müsinini degrade etme fonksiyonuna sahip olduğu söylenmektedir (Labbe ve Harmon, 1992; Shojadoost ve diğerleri, 2012). Mukus kolonizasyonunun bozulmasında NELoc 2’de bulunan glikozid hidrolazın varlığı da önemlidir (Prescott ve diğerleri, 2016). *C. perfringens* bağırsağın mukozal tabakalarında bulunan muko-oligosakkaritlere yönlendirilmiş 56’dan fazla glikozid- hidrolaz deposuna sahiptir (Shojadoost ve diğerleri, 2012).

Lesitin hidrolizi sonucu diasilgliserol oluşumuyla beraber protein kinaz C aktivasyonu ve ardından araşidonik asit uyarımı şekillenmektedir. Bu uyarım lökotrienler, tromboksan, trombosit aglütinasyon faktör ve prostasiklin gibi yangı mediyatörlerinin sentezini indüklemektedir. Bu mediyatörler kan damarlarında kontraksiyona, trombosit agregasyonuna, akut ölüme yol açan miyokardiyal fonksiyon bozukluğuna sebep olmaktadır (Van Immerseel ve diğerleri, 2004).

C. perfringens intestinal villilerde dejenerasyon ve nekroza, mononükleer hücrelerde infiltrasyona sebep olmaktadır. Karaciğer histopatolojisinde mononükleer hücre infiltrasyonu görülmektedir (Rathnapraba ve diğerleri, 2017).

Bakteriler tarafından üretilen protein toksinlerinin en az %35’i, gözenek oluşturarak hücre zarına zarar veren toksinlerdir (Alouf, 2001). Bu toksinler, hem insan hem de hayvan hücrelerinin fosfolipid membran tabakasını bozan, konakçı sinyal iletim yollarında ve iyon akışında (yani Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺, vb.) değişikliklere neden olan gözenekler oluşturmakta ve sonunda ozmotik hücre lizisine yol açmaktadır. Bu toksinlerin birçoğunun bakteriyel virülansa

katkıda bulunduğu ve insan/ hayvan infeksiyonlarının patogeneğinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Los ve diğerleri, 2013; Popoff, 2014). Alfa toksini, fosfolipidleri hidrolize eden ve membran düzensizliğini destekleyen bir fosfolipaz C sfingomiyelinazdır. Beta toksin ise intestinal mukozada hemorajik nekrozis oluşumunu uyarmaktadır. Tam olarak etki mekanizması bilinmemesine rağmen $\beta 1$ toksin membrana zarar veren toksin olarak kabul edilmektedir (Van Immerseel ve diğerleri, 2004). NetB, LMH (Leghorn male hepatoma) hücre hattında morfolojik değişiklikleri indükleyerek önemli hücre lizisine sebep olmaktadır (Rood ve diğerleri 2016). NetB, bir dizi clostridial ve diğer bakteriyel toksinleri içeren beta- gözenek oluşturuvcu toksin ailesinin bir üyesidir (Yan ve diğerleri, 2013). Hücre zarlarında içeriğin sızmasına neden olan ve hücreyi tahrip eden delikler açmaktadır (Shimizu ve diğerleri, 2002). NetB kanatlı dokularını hızla yok etmekte ve besin maddeleri elde etmektedir. *C. perfringens* hem çok sayıda enzime, hem de çok sayıda amino asit ve şeker taşıyıcı sisteme sahiptir, bunlar sayesinde önce doku yıkımı yoluyla sentezleyemediği besinleri serbest bırakmak için birlikte hareket etmekte ve daha sonra hızlı bir şekilde hücreye alımlarını sağlamaktadır (Prescot ve diğerleri, 2016).

Genomik dizileme, netB taşıyan *C. perfringens* suşlarının, bazı genetik özelliklere sahip olduklarını göstermiştir: (i) NetB taşıyan ve kuşlarda enterik hastalığa neden olan *C. perfringens*'te yaygın olarak bulunan tipte büyük bir tcp-konjugatif plazmid üzerinde bulunan 42 kb büyüklüğünde patojenite lokusu (NELoc1) (ii) kromozomda bulunan 11.2 kb büyüklüğünde küçük bölgesi (NELoc-2) (iii) CPB2 adı verilen bir toksini kodlayan ikinci, farklı, büyük bir tcp-konjugatif plazmid üzerinde bulunan 5.6 kb büyüklüğünde kısa bir bölge (NELoc-3) (Lepp ve diğerleri, 2010; Parreira ve diğerleri, 2012).

Daha ileri genetik çalışmalar, netB taşıyan izolatların, örneğin şeker taşıyıcıları ve demir toplama genleri gibi hastalığa predispozisyon oluşturduğu düşünülen bir dizi başka kromozomal gene sahip olduğunu göstermiştir (Lepp ve diğerleri, 2013).

Bakteriyel algılama, bakterilerin popülasyon yoğunluğuna yanıt verebildiği ve virülans faktörlerinin üretimi de dahil olmak üzere gen ekspresyonunu buna göre ayarlayabildiği bir iletişim sürecidir. *C. perfringens*'in LuxS ve Agr benzeri en az 2 algılama sistemini kodladığı bilinmektedir (Opengart ve Boulianne, 2020).

LuxS virülans ile ilişkilendirilmemişken, Agr-benzeri algılama sisteminin CPA, CPB, CPB2, CPE ve NetB dahil olmak üzere *C. perfringens*'in virülansla ilgili proteinlerinin ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Ohtani ve diğerleri, 2002; Ohtani ve diğerleri, 2009; Yu ve diğerleri, 2017). Agr-benzeri algılama, VirS/VirR

düzenleyici sistemini açarak CPA ve NetB toksin üretimini başlatmaktadır. Daha da önemli olanı, Agr-benzeri algılamanın, kromozomal lokus VR-10B'de yer alan, uyumla ilgili olması muhtemel çeşitli genlerin ekspresyonunu düzenlemedeki rolüdür. Yapışma, bakteriyel bir enfeksiyonun oluşumunda ilk adım olarak kabul edilse de, NE'nin patogenezi daha iyi anlamak için bu yolu araştıran az sayıda araştırmacı bulunmaktadır. Histopatolojik nekrotik enteritis lezyonlarının şiddeti, başlangıçta villus ucunu kaplayan Gram-pozitif çomakların sayısı ile ilişkilidir ve bu, nekrotik enteritis gelişiminde bağırsak mukozasının yapışmasının ve *C. perfringens* tarafından bağlanması rol oynadığını düşündürmüştür (Parent ve diğerleri, 2017). Ağır olarak NE'ye neden olan *C. perfringens* suşlarında bulunan bir kromozomal lokus VR-10B, çoğunun hücre yüzeyi proteinlerini kodladığı tahmin edilen 7 geni kodlamaktadır. Bunlardan biri kolajen adezyon geni olarak tanımlanmıştır (Lepp ve diğerleri, 2013). Daha sonra, sadece patojenik *C. perfringens* suşlarının kollajene yapışma kabiliyetinin, bu genlerden birinin (*cnaA*) varlığı ile ilişkili olduğu değil, aynı zamanda silinmiş bir *cnaA* mutantının artık nekrotik enteritise neden olamayacağı doğrulanmıştır (Wade ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, bu çıkarıma bir suşta virülansı ortadan kaldırırken, diğerinde sadece azaltmıştır. Ayrıca, bazı *cnaA* negatif suşların yine de nekrotik enteritise neden olduğu görülmüştür. Bu son bulgular, nekrotik enteritisin başlangıcının, diğerleri ile ilişkili çoklu *C. perfringens* virülans faktörlerini içeren karmaşık bir dinamik süreç olduğunu göstermektedir (Opengart ve Boulianne, 2020).

Optimal bir bağırsak ortamı yaratmak, *C. perfringens*'in çoğalmasının anahtarıdır, çünkü ince bağırsağı kolonize etmek için yerleşik bir bakteri topluluğuyla da rekabet etmesi gerekmektedir. Örneğin, *C. perfringens* bakteriyosin adı verilen ve yakından ilişkili suşların büyümesini engelleyecek antimikrobiyal peptitler üretebilmektedir. Bu bakteriyosinlerden birinin perfrin olarak adlandırılan bir örneği, nekrotik enteritis ile ilişkili netB pozitif *C. perfringens* suşları tarafından üretilmektedir. Diğer benzer peptitlerin tek bir klostridyal suş tarafından, aynı anda olması gerekmeksizin ve farklı bir inhibitör spektrumla üretilebileceği öne sürülmüştür (Timbermont ve diğerleri, 2014). Bu, bir salgın sırasında neden tek bir patojenik suşun baskın hale geleceğini açıklayabilir (Parent ve diğerleri, 2017).

Yapılan çalışmalar β -glukan ya da arabinoksilan gibi suda çözünebilir, sindirilebilir nişasta olmayan polisakkarit (NSP) leri yüksek miktarda içeren yemlerin bağırsak vizkozitesini arttırarak hastalık oluşumunu indüklediğini göstermektedir (Annet ve diğerleri, 2002; Dahiya ve diğerleri, 2006).

2.7. Koruma ve Kontrol

Civcivler yaklaşık 3-4 haftalıkken immunolojik olarak olgunlaşmakta ve maternal anti-CPA antikorları ise yaklaşık 3 hafta boyunca varlığını sürdürmektedir (Opengart ve Boulianne, 2020). *C. perfringens*'e karşı üretilen maternal antikorlar, etlik piliçlerde nekrotik enteritis insidansını azaltabildiğinden (Heier ve diğerleri, 2001), yumurta tavuklarının bakteriye karşı aşılmasını, yumurtadan çıkan civcivlerin nekrotik enteritise karşı korunmasını sağlayabilmektedir (Lovand ve diğerleri, 2004).

Tavukların *C. perfringens* tip A α -toksoid veya rekombinant NetB toksini içeren aşılarla aşılmasının, *C. perfringens*'in challenge yapılmış kanatlılarda kısmi koruma sağladığı gösterilmiştir (Keyburn ve diğerleri, 2013a, 2013b). Benzer şekilde, α -toksin, NetB ve diğer immünojenik proteinlere karşı bir mukozal IgA yanıtı, aşılınmış tavukları NE'ye karşı kısmen korumuştur (Kulkarni ve diğerleri, 2007; Jiang ve diğerleri, 2009; Fernandes de Costa ve diğerleri, 2013). Kuşların rekombinant CPA toksoidleri ile aşılması, kısmi (Cooper ve diğerleri, 2009) veya tam (Kulkarni ve diğerleri, 2007) koruma sağlamaktadır. Aşılınmış kuşlarda NE insidansı, aşılınmamış kuşlardan önemli ölçüde daha az olduğu belirtilmiştir. CPA eksikliği olan bir mutant ile aşılanmanın da kuşları koruduğu gösterilmiştir (Thompson ve diğerleri, 2006). Tip A aşılarında anti-CPA immunolojik yanıtın daha yüksek olmasına rağmen, tip C toksoid ile aşılanan civcivlerde sublinik nekrotik enteritis ve hepatite karşı daha fazla koruma görülmüştür (Lovland ve diğerleri, 2004). Alfa toksinin C-terminal kısmı ve NetB toksini olmak üzere 2 farklı protein üreten attenüe rekombinant Salmonella aşısı, *C. perfringens* ile mücadele edilen kuşlarda koruyucu bağışıklık sağlamıştır (Jiang ve diğerleri, 2015).

Amerika Birleşik Devletleri'nde damızlık yarkalara, yavruya maternal antikor sağlamak için uygulanan ruhsatlı bir α toksoid nekrotik enteritis aşısı kullanılmaktadır ve saha koşullarında koruma sağladığı gösterilmiştir (Cooper ve diğerleri, 2009). Ancak *C. perfringens*'in toksoidlerine ve immünojenik proteinlerine karşı iyi bir bağışıklık yanıtı için çoklu bağışıklamalar gereklidir ve yumurtadan çıkış gününde tek bir aşılama yeterli değildir (Keyburn ve diğerleri, 2008). *C. perfringens*'in virülans faktörleri (NetB ve kollajen adhezin) ve patogenezi hakkında gelişen bilgilerin gelecekte daha başarılı immunité yöntemlerini sağlayacağı düşünülmektedir (Opengart ve Boulianne, 2020).

Nekrotik enteritis, risk faktörlerine maruz kalma azaltılarak kontrol altına alınabilmekte veya önlenabilmektedir (Opengart ve Boulianne, 2020). Formaldehit ve organik asit

kullanımının, bitki ve hayvan yemi bileşenlerinde klostridial kontaminasyon seviyelerini azalttığı gösterilmiştir (Berkhoff ve diğerleri, 1974). Koksidiyostatik ilaçlar ve antikoksidial aşılarda etlik piliçlerde koksidiyozun önlenmesinde tercih edilen yöntem olmuştur (Williams, 2002). İyonoforların anticlostridial oldukları ortaya çıkmıştır (Allen ve Fetterer, 2002). İyonoforlar, hem koksidiyal bağışıklığın gelişimini desteklemek hem de kontrollü koksidiyal maruziyetin NE'yi indüklemeye potansiyelini sınırlamak için koksidiyal aşılarda kombinasyon halinde kullanılmaktadır (Williams, 2002; Li ve diğerleri, 2004).

Büyümeyi teşvik amacıyla antibiyotiklerinin kullanımının kısıtlanması sonrasında dünyanın bazı bölgelerinde nekrotik enteritis insidansı ve tedavi amaçlı antibiyotiklerin kullanımı artmıştır. Ancak antimikrobiyallerin koruma amaçlı kullanımı azaldıkça, artan nekrotik enteritis riskini azaltmak amacıyla diğer ürünlerin (prebiyotikler, probiyotikler, fitojenik bileşikler vb.) kullanımının değerlendirilmesi artmaktadır (Opengart ve Boulianne, 2020).

2.8. Teşhis

Nekrotik enteritis tanısı tipik makroskobik/ mikroskobik lezyonlardan etkenin izolasyonuna ve identifikasyonuna dayanarak yapılabilir. Nekrotik enteritis saha vakalarında, *C. perfringens*, kanlı agarda 24 saat 37°C'de anaerobik inkübasyon yoluyla bağırsak içeriklerinden, bağırsak duvarı kazıntılarında veya hemorajik lenfoid nodüllerden kolaylıkla izole edilebilmektedir. Ticari olarak temin edilebilen bazı besiyerleri, spesifik tanımlama için diğer testlerle birlikte kullanılmadıkça, seçici yetiştirme ve *C. perfringens* sayımı için yeterli olmayabilir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemi ile de teşhis konabilmektedir (Opengart ve Boulianne, 2020).

2.9. Mikrobiyom

Canlılar her biri farklı işlevleri yerine getirmek için kolektif olarak çalışan mikrop gruplarına sahiptir. Bunlardan en önemlileri sindirim sisteminde bulunanlardır (Amara ve Shibl, 2015).

Broyler endüstrisi 1940'ların sonlarından ve 1950'lerin başlarından itibaren büyümeye başlamıştır. Günümüze gelindiğinde yaklaşık % 400'lük piliç büyüme artışına ulaşılmıştır (Zuidhof ve diğerleri, 2014). Bunun % 85-90'ı büyüme ve yem verimliliği için genetik seçilime ve kalan % 10-15'lik kısım ise iyileştirilmiş bakım ve beslenme ile ilişkilendirilmiştir (Havenstein ve diğerleri, 2003). Büyüme özelliklerindeki tarihsel gelişmelere rağmen, yemden yararlanma, canlı ağırlık ve büyüme hızı için etlik piliç ırkları arasında hâlâ önemli farklılıklar bulunmaktadır (Kogut ve diğerleri, 2017). Ticari bir kanatlı üreticisinin bakış açısına göre, toplam üretim maliyetinin yaklaşık % 70'ini yem oluşturduğundan yem verimliliği düşük olan kanatlılar, karlılığı azaltmaktadır (Aggrey ve diğerleri, 2010). Doğuştan gelen bağışıklık, bağırsak bariyer işlevi ve büyüme gibi hayvan performans özelliklerinin bağlantılı olduğu göz önüne alındığında (Kohl, 2012; Kogut, 2013), yem verimliliğinde farklılık gösteren kanatlıların aynı zamanda bağırsak doğal bağışıklık işlevinde de farklılıklar gösterebileceği varsayılmaktadır (Oakley ve Kogut, 2016).

Bağırsakların en temel işlevi, besinlerin etkili sindirimi ve emilmesidir. Çevre ile sürekli etkileşim içinde olan en geniş yüzey alanına sahip organ olarak, bağırsak, çevresel toksinlere ve potansiyel patojenlere maruz kalmayı azaltan ancak besin emilimine ve atıkları fermente etmeye izin veren etkili bir bariyer işlevi görmektedir (Amara ve Shibl, 2015; Kogut ve diğerleri, 2017). Bağırsak mikroflorası, enerji tasarrufu, K vitamini üretimi ve iyonların emilmesi gibi metabolik fonksiyonlara sahiptir (Amara ve Shibl, 2015). 'Kendi' ile 'kendi olmayan' arasında ayırım yapma, zararlı patojenleri dışlama ve uygun bağışıklık tepkilerini vermeyi bağırsak homeostazı sağlamaktadır (Wilson ve diğerleri, 2018). Bu nedenle, bağırsak homeostazı, potansiyel olarak performansın düşmesine yol açan, bağırsak iltihabı, doğuştan gelen bağışıklık fonksiyonunun azalması veya anormal aktive olması gibi problemlerde bir dengeleyici olarak görev yapmaktadır (Fukata ve diğerleri, 1988; Wilson ve diğerleri, 2018).

Bağırsakların bir diğer önemli fonksiyonel bileşeni de etkili bir bağışıklık sistemidir (Kogut ve diğerleri, 2017). Bağırsak kaynaklı bağışıklık sadece homeostaza bağlı değildir (Wilson ve diğerleri, 2018). Kuş bağırsağının iç yüzeyi goblet hücreleri tarafından üretilen müsin glikoproteininden oluşan jel benzeri bir mukus ile kaplıdır (Deplancke ve Gackins, 2001; Forder ve diğerleri, 2012). Bu müsin tabakası, mikroorganizmaların kolonize olabileceği bir dış gevşek tabakadan ve çoğu bakteriyi iten bir iç kompakt tabakadan oluşmaktadır (Hansson ve Johansson, 2010). Bağırsak mukozal doğal bağışıklık sisteminin bir bileşeni olarak, mukus tabakası bağırsak mikroorganizmalarının bağırsak epiteline girmesini önleyerek enfeksiyona karşı ilk savunma hattı olarak hizmet etmektedir (Brisbin ve diğerleri, 2008).

Bağırsak lümenine immünoglobulin A (IgA) salgılanarak mikroorganizmaların mukoza zarına yapışmasının engellenmesi, enterositler arasındaki paraselüler boşluğu kapatan sıkı epitelyal bağlantılar, geniş bir mikrobiyal organizma yelpazesine karşı etkili olan β -defensinler gibi antimikrobiyal peptitler salgılanması bağırsak kaynaklı bağışıklığın diğer öğeleridir (Wilson ve diğerleri, 2018). Bağırsak patojenler tarafından kolonizasyona karşı sadece ikinci bir bariyer sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda bağışıklık gelişimini ve olgunlaşmayı düzenleyen, konakçı beslenmesi için metabolitler sağlayan bir mikrobiyatanın büyümesini sağlamaktadır. Ayrıca, bağırsak çok sayıda nöron, bağırsak hormonu ve ikincil haberciler içermektedir, bu nedenle vücuttaki en büyük nöroendokrin organ olarak kabul edilmekte ve böylece konak fizyolojik fonksiyonlarını düzenlemektedir (Neuman ve diğerleri, 2015; Kogut ve diğerleri, 2017). Bu nedenle, optimal bağırsak fonksiyonunun (bağırsak sağlığı) korunması, birbirine bağlı üç bileşene bağlıdır: bağışıklık sistemi, beslenme ve mikrobiyata (Kogut ve diğerleri, 2017).

Mikrobiyata terimi bir ekolojik ünitenin veya yerin toplam mikrop popülasyonunu belirtmek için kullanılmaktadır. Mikrobiyom terimi ise genetik yapıları ile tanımlanan popülasyonu belirtmek için kullanılmaktadır (Ye ve diğerleri, 2020).

Hem beslenme durumu hem de bağırsak bağışıklık fonksiyonunun bağırsak mikrobiyatasından etkilendiği bilinmektedir (Hill ve diğerleri, 2009; Oakley ve Kogut, 2016). Tüm hayvanlar, kommensal ve simbiyotik mikrop topluluklarına ev sahipliği yapmaktadır. Bağırsakta, yaklaşık 10^{12} bakteri hücresi olduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle, bağırsak mikrobiyomu, konakçı içinde bir milyondan fazla gen içeren karmaşık bir organ görevi görmektedir (bu sayı tüm tavuk genomundaki sayının yaklaşık 40-50 katıdır) (Kogut ve diğerleri, 2017). Bağırsak mikrobiyomu immun yanıtı düzenleme özelliğine sahip birçok molekülü parçalayarak, düzenleyerek ya da sentezleyerek konağın metabolik kapasitesini desteklemektedir (Ye ve diğerleri, 2020). Mikrobiyom ayrıca bağırsak gelişimini desteklemekte, bağırsak bütünlüğünü arttırmakta, konakçı bağışıklık sisteminin işlevini düzenlemekte, patojenlerin rekabetçi bir şekilde dışlanmasını ve inflamasyonu kontrol ederek bağışıklık homeostazının devamlılığını sağlamaktadır (Kogut ve diğerleri, 2017). Bağırsak mikrobiyomu ve bağırsak sağlığı ile ilgili mevcut verilerin çoğu, bir hastalıkla ilişkilendirilmiş olsa da, bağırsak sağlığının ve normal bağırsak fonksiyonunun korunmasında mikrobiyomun önemine dair açık örnekler bulunmaktadır. Mikropsuz hayvanlarda, hem mukozal hem de sistemik bağışıklık sistemlerinin zayıf bir şekilde geliştiği, ancak bu hayvanlar geleneksel mikrobiyata ile kolonize edilirse normal işleyen bir bağışıklık sisteminin geliştiği görülmüştür. Bu, mikroplar tarafından bağırsak kolonizasyonu ile normal işleyen bir bağışıklık sisteminin

gelişimi arasında açık bir bağlantı olduğunu göstermektedir (Hooper ve diğerleri, 2012). Ayrıca, civcivlere sağlıklı yetişkin tavukların bağırsak içeriğinin verilmesinin ardından Salmonella infeksiyonuna karşı direnç önemli ölçüde artmıştır. Bu, 'rekabetçi dışlama' fenomenine katkıda bulunmuş ve istenmeyen mikrobiyal kolonizasyonu önlemede 'normal' bir bağırsak mikrobiyotasının kritik rolünü vurgulamıştır (Kogut ve diğerleri, 2017).

Kanatlı hayvanların sindirim organları, yumurtadan çıktıktan sonra fizyolojik ve anatomik olarak en hızlı gelişen organlardır. Ekzojen mikroorganizmalarla temas ederek esas olarak anaerobik bakterilerden oluşan karmaşık bir mikrobiyom oluşturmaktadır. Konak büyüdükçe bağırsak mikrobiyomu bağırsakların gelişmesine de katkıda bulunarak değişmeye devam etmektedir (Egorov ve diğerleri, 2019).

Tavuklarda mikrobiyom: büyüme ve gelişme; gastrointestinal sistem villus ve kript morfolojisinin belirlenmesi; yemden yararlanma; luminal vizkozite; rasyondaki polisakkaritlerin rekonstrüksiyonu; yem absorpsiyonu; konak tavuğun refahı (Yeoman ve diğerleri, 2012); detoksifikasyon, patojenlerden korunma ve immun sistem gelişiminin modülasyonunda önemli rol oynamaktadır (Stanley ve diğerleri, 2014). Tavuk bağırsak mikrobiyomu rasyondaki polisakkaritlerin dekonstrüksiyonu için enzimler üretmektedir. Bu enzimler önemlidir çünkü tavuklar glikozit hidrolaz (GH), polisakkarit liyaz (PL) ve karbonhidrat esteraz (CE) enzim genlerinden yoksundurlar ve bu enzimler yemden yararlanma için gereklidir (Yeoman ve diğerleri, 2012).

Diyetteki en kolay sindirilebilir karbonhidratlar, proksimal bağırsakta konakçı tarafından sindirilerek emilmekte, sindirilemez karbonhidratlar ve artık sindirilebilir karbonhidratlar distal bağırsakta yaşayan bakterilere bırakılmaktadır (Pan ve Yu, 2014).

Yapılan bir çalışma, dengeli büyüme için tavuk bağırsak mikrobiyomunun basit şekerler ve peptitlere ihtiyaç duyduğunu belirtmiştir (Lei ve diğerleri, 2012). Birçok bağırsak bakterisi sindirilemeyen diyet polisakkaritlerini, oligosakkaritleri ve disakkaritleri şekere hidrolize etmektedir. Bu şekerler daha sonra bütirat, asetat ve propiyonat gibi kısa zincirli yağ asitlerine (SCFA) dönüşmektedir (Tellez ve diğerleri, 2006; Pan ve Yu, 2014). Bu fermentasyon kanatlı bağırsağının birçok bölümünde görülmesine karşın en çok bakteri bakımından zengin sekumda gerçekleşmektedir (Rehman ve diğerleri, 2007). 1 günlük civcivlerde sekal asetat, bütirat ve propiyonat bulunmazken 15 günlük piliçlerde kısa zincirli yağ asitleri konsantrasyonu artmakta ve stabil kalmaktadır (Van Der Wielen ve diğerleri, 2000). Kısa zincirli yağ asitleri sekumda epitelyum boyunca pasif difüzyon yoluyla emilmekte ve çeşitli metabolik yollara girmektedirler (Pan ve Yu, 2014). Ayrıca, kısa zincirli yağ asitleri bağırsak kan akışını

düzenlemekte, enterosit büyümesini ve çoğalmasını uyarmakta, müsin üretimini düzenlemekte ve bağırsak immünesini etkilemektedir (Tellez ve diğerleri, 2006; Pan ve Yu, 2014). Bağırsak epitel hücreleri için önemli bir enerji kaynağı olan kısa zincirli yağ asitleri (Pan ve Yu, 2014) azot metabolizmasına da katkıda bulunmaktadır. Kuşlarda, bağırsak ve ürogenital yollar, idrarın dışıyla karıştığı kloakada buluşmaktadır. Bazen idrar rektumdaki retrograd peristaltik nedeniyle sekuma gitmektedir (Denbow, 2000). Sekal bakteriler daha sonra ürik asidi, konakçı tarafından emilebilen ve glutamin gibi birkaç amino asidi sentezlemek için kullanılabilen amonyağa katabolize etmektedir (Vispo ve Karasov, 1997). Diyet azotunun bir kısmı bakteriyel hücresel proteinlere dahil edilmektedir. Bu nedenle, bağırsak bakterilerinin kendileri amino asit kaynağı olabilmektedir (Metges, 2000). Bununla birlikte, konakçı bu bakteri proteinlerinin çoğunluğunu dışkı ile kaybetmektedir. Çünkü kuşlardaki bağırsak bakterilerinin çoğu, proteini sindirme ve emme yeteneğine sahip olmayan sekumda bulunmaktadır (Vispo ve Karasov, 1997; Koutsos ve Arias, 2006). Kanatlı hayvanların bağırsak mikrobiyomu, konakçıya vitamin (özellikle B vitaminleri) tedarikçisi olarak da hizmet etmektedir (LeBlanc ve diğerleri, 2013).

Kümes hayvanlarının sindirim sistemini kolonize eden mikrobiyata, yaş, yem bileşimi, antibiyotikler, mikotoksinler ve alınan diğer maddeler gibi faktörlerden etkilenmektedir (Egorov ve diğerleri, 2019). Konakçı genomunun aksine, mikrobiyom diyet, antibiyotikler, patojenlerin neden olduğu infeksiyonlar ve diğer çevresel saldırılarla kolayca değişebilmektedir (Kogur ve diğerleri, 2017).

Kuşların bağırsak mikrobiyomu konakçı ile simbiyotik bir ilişkiye doğru evrimleşmiştir ve sağlıklı kuşlarda besin maddeleri için doğrudan rekabet sınırlıdır. Çünkü sindirilebilir besinlerin çoğu bakteri yoğunluğunun düşük olduğu ince bağırsakta konakçı tarafından emilmekte ve besin maddelerinin bakteriyel kullanımı düşük pH ve kısa tutma süresi nedeniyle bastırılmaktadır (Rehman ve diğerleri, 2007). Ayrıca, bakteriler belirli koşullar altında ince bağırsakta aşırı çoğaldığında, konakçı tarafından normal emilim gerçekleşmeden önce besinler bakteriler tarafından kullanılmaktadır (Fan ve Sellin, 2009).

Kümes hayvanlarının diğer memeli hayvanlara nazaran daha kısa gastrointestinal sisteme sahip olması bağırsak mikrobiyomlarının da farklı olmasına sebep olmaktadır (Pan ve Yu, 2014). Zoonoz hastalıklar, gıda güvenliği, yemden yararlanma ve sağlık, tavuk gastrointerstinal sistem mikrobiyomunun kompozisyon ve fonksiyonuna bağlı olduğu için araştırmacılar bakımından büyük öneme sahiptir (Yeoman ve diğerleri, 2012).

Tavuk gastrointestinal sisteminde bakteri, metanojenik arke, mantar ve viruslar bulunmaktadır. Protistalar daha az sıklıkla bulunmakla birlikte patojen olarak değerlendirilmektedirler (Yeoman ve diğerleri, 2012). Tavukların gastrointestinal sistem

mikrobiyaları besinlerin parçalanmasını sağlayan 900'den fazla bakteri türü içermektedir. Yakın zamana kadar kültüre bağlı yöntemler kanatlı gastrointestinal sisteminde yaşayan bakterilere ilişkin temel görüşleri ortaya koymuştur (Stanley ve diğerleri, 2014). 1974 yılında Salanitro ve ark. 5 haftalık tavukların sekumundan kültür yöntemiyle 325 suş izole etmişlerdir. Bu suşlar tavuk sekumundan kültüre edilebilir mikropların % 81'i olarak rapor edilmiştir (Yeoman ve diğerleri, 2012). Kümes hayvanlarının bağırsak mikroflorasına ilişkin araştırmaların önemli bir kısmı, gerçek mikroorganizma sayısının % 20'sinden daha azını incelemeyi mümkün kılan yapay besiyerlerinde kültüre edilmiş suşların ekilmesiyle gerçekleştirilmiştir (Egorov ve diğerleri, 2019).

Erken ekime bağlı çalışmalarda tavukların ince bağırsağında düşük miktarda laktobasil ($>10^4$ CFU/g) ile clostridia (10^2 – 10^4 /g CFU) ve sekumda yüksek miktarda anaerobik (10^{10} – 10^{11} CFU/g) bakteri olduğunu ortaya çıkarmıştır. Tanımlanan bakteriler arasında Gram (-) koklar, fakültatif anaerobik koklar ve streptokoklar bulunmaktadır. Peptostreptococcus, Propionibacterium, Eubacterium, Bacteroides ve Clostridium sekumdan kültür yoluyla elde edilen başlıca cinslerdir. İnsan bağırsağında Bacteroides ve Bifidobacterium baskın olmasına rağmen tavuk bağırsağında Ruminococcus ve Streptococcus baskın olma eğilimindedir (Patterson ve Burkholder, 2003). Mikrobiyal çeşitlilik ve bolluk en çok 2200'den fazla operasyonel taksonomik üniteye sahip olan sekumdadır. Yaklaşık 3500 genotip olduğu öngörülmektedir (Yeoman ve diğerleri, 2012). Gastrointestinal sistemin kısa olması nedeniyle sindirim hızlı olmaktadır ancak sekumdan geçiş daha yavaştır. Mikrobiyal fermentasyonun gastrointestinal sistemin bu bölümünde aktif olması nedeniyle mikrobiyom analizi için sekum içeriği analizi idealdir (Yeoman ve diğerleri, 2012; Pan ve Yu, 2014). Sekum bakterilerinin %20-60'ı kültüre edilebilmektedir (Barner ve diğerleri, 1972; Salanitro ve diğerleri, 1974). Ancak dışkı gibi çok fazla bakteri içeren bir materyalin içeriği araştırılmaya kalkıldığında üretilmesi gereken çok fazla takson bulunmaktadır. Bu da in vitro ortamda üretilemeyen bakterilerin ve yoğun üreyen bakteriler sebebiyle zayıf üreyenlerin baskılanarak gözden kaçmasına, taksonları üretmek için yapılacak olan zenginleştirme işlemi nedeniyle sayısal değerlendirme yapılamamasına sebep olmaktadır. Ayrıca yapılan bu işlemler çok uzun zaman, emek ve finansman gerektirmektedir (Diker, 2017). Bu nedenle 1990'ların başlarında mikrobiyomun zenginliği ve konvansiyonel kültür yöntemlerinin yetersiz olduğu fark edilmiş ve o zamandan bu yana mikroorganizmaları incelemek için moleküler ve biyolojik yöntemler kullanılarak teşhis genomik bilgilere dayandırılmış ve mikrobiyata daha anlaşılır hale gelmeye başlamıştır (Egorov ve diğerleri, 2019).

Günümüzde mikrobiyal topluluğun çeşitliliği, kompozisyonu ve fonksiyonu hakkında daha detaylı bilgi veren yeni nesil dizileme (NGS) teknolojileri kullanılmaktadır (Yeoman ve diğerleri, 2012; Wei ve diğerleri, 2013). 16s rRNA geninin bakteriyel çeşitlilik için filogenetik bir işaretleyici olarak kullanılması mikrobiyal topluluk dinamiği hakkında önemli bilgiler vermektedir. Sekumda 10^{10} - 10^{11} hücre/g sekum materyali bulunmaktadır ve bu mevcut genetik bilginin % 95'ten fazlasını kodlamaktadır. Taşlık, ince bağırsak ve sekumda en baskın bulunan bakteriler *Firmicutes* bakterileridir (Yeoman ve diğerleri, 2012). *Firmicutes*'ler sekum taksonunun % 50-90'ını oluşturmaktadır (Danzeisen ve diğerleri, 2011). *Firmicutes* oranı diğer gastrointestinal sistem bölümlerinde de % 90'ın üzerindedir. Arkelerin konsantrasyonu 10^5 - 10^7 hücre/ g sekum materyal ile daha az yoğundur ve genetik bilginin % 1-2'sini sağlamaktadır (Yeoman ve diğerleri, 2012).

Kuşlar, diğer hayvanlara kıyasla büyük miktarda enerji kullanmaktadır ve onların sindirim sistemi en zor besin kaynaklarından enerji elde etmek için uyarlanmıştır. Sonuçta gıdaları çok verimli bir şekilde vücut kütlelerine dönüştüren tavuklar ortaya çıkmış ve hayvansal protein kaynağı olarak en verimli tarım hayvanı olmuşlardır. Gastrointestinal sistemde bulunan mikrobiyaya ve biyokimyasal reaksiyonlar yemden enerji ve besin ekstraksiyonu yapmaktadır (Stanley ve diğerleri, 2014). Kanatlı verimliliğinin genetik potansiyelini gerçekleştirmek için, özellikle mikroflora kompozisyonunun düzenlenmesi olmak üzere, sindirim sisteminin yeterli fonksiyonel desteği gereklidir (Egorov ve diğerleri, 2019). Yüksek verim için gastrointestinal sistem mikrobiyaya genetiği iyi olan tavuklar seçilerek sağlık ve verimde kazançlar sağlanabilmektedir (Stanley ve diğerleri, 2014). Bağırsak patojenleri vücuda girdiklerinde, mide Ph'sı, bağırsak sisteminden geçiş, bağırsak mikrobiyatası, epitel ve nukozal bağışıklıktan oluşan çok yönlü bir savunma sistemiyle karşılaşmaktadırlar. İnfeksiyona direnci arttıran dengeli bir bağırsak mikrobiyatası ve bu mikrobiyaya bozulduğunda konak direncinin düşmesi, patojen-konak ilişkisinin anlaşılmasında önemlidir (Patterson ve Burkholder, 2003). Dolayısıyla, gastrointestinal sistem mikrobiyatasının verimlilik ve sağlıktaki rolü yoğun çalışmalara sebep olmaktadır (Stanley ve diğerleri, 2014).

Tavuklarda nekrotik enteritis, *Clostridium perfringens* 'in patojenik suşları ile infeksiyon ve predispozan faktörlerin varlığı sonucu gelişmektedir. Predispoze faktörler, epitel yüzeyine zarar vererek, mukus üretimini indükleyerek veya bağırsak geçiş sürelerini değiştirerek bağırsağın fiziksel özelliklerini doğrudan değiştiren, bağırsak mikrobiyatasını bozan, bağışıklık durumunu değiştiren unsurları içermektedir (Allaart ve diğerler 2013; Moorea, 2016).

Geçmişte, NE'e sebep olan faktörler üzerine yapılan araştırmalar, *C. perfringens*'in düşük seviyeli kolonizasyonunun sağlıklı tavukların bağırsaklarında yaygın olarak meydana geldiği

ve predispoze faktörlerin hastalık üretmek için bu bakterilerin çoğalmasına yol açtığı şeklindeki basit hipotez tarafından yönlendiriliyordu. Daha yakın zamanlarda, *C. perfringens*'in başlıca virülans faktörlerinin artan bir şekilde anlaşılması ve *C. perfringens* suşlarının farklı gruplarını tanımlamak için moleküler tekniklerin uygulanmasıyla birlikte, sağlıklı tavuklarda yaygın olarak bulunan *C. perfringens* izolatlarının genellikle sağlıklı olmadığı, hastalığa neden olma potansiyeline sahip olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle, hastalığın gelişimi, hastalığa neden olan *C. perfringens* izolatlarının kökeni ve diğer *C. perfringens* suşları ve predispozan faktörler ile etkileşimlerin önemi ile ilgili hipotezleri yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir. Gastrointestinal sistemin fiziksel ve immünolojik özelliklerini etkileyen birçok predispozan faktör, yerleşik mikrobiyomu da değiştirebilmektedir (Moorea, 2016).

2.10. Probiyotik: *Bacillus velezensis*

Antibiyotikler, yaşam sürecinde mikroorganizmalar veya flora ve fauna tarafından üretilen, anti-patojenlere veya diğer aktivitelere sahip, esas olarak insan ve hayvanlarda meydana gelen çeşitli bakteriyel infeksiyonlar veya patojenik mikrobiyal infeksiyonların tedavisinde patojenlere direnç oluşturması için kullanılan kimyasal maddelerdir (Ye ve diğerleri, 2018, 2020). 1929'da keşfedilmesinden bu yana, antibiyotikler ölümcül olan birçok insan ve hayvan hastalığının tedavisine katkı sağlamaktadırlar (Barton, 2000; Yang ve diğerleri, 2017). 1930'da penisilinin ilk başarılı uygulamasından bu yana, hayvanlarda hastalıkları önlemek, tedavi etmek ve yem verimliliğini artırmak için antibiyotikler kullanılmıştır (Khalid ve diğerleri, 2021). Yemlere belirli miktarda antibiyotik eklemek, yemden yararlanma oranını, büyümeyi, kümes hayvanlarının gelişimini teşvik etmekte, aynı zamanda ekonomik faydaları da artırarak modern ve yoğunlaştırılmış kümes hayvanı endüstrisinin gelişmesine yol açmaktadır (Diarra ve diğerleri, 2007). Ancak hayvancılığın sürekli gelişmesiyle birlikte antibiyotiklerin kötüye kullanımı sorununun ortaya çıkması hayvanlara, insanlara ve çevreye büyük zararlar vermektedir (Singh ve diğerleri, 2014; Ye ve diğerleri, 2018). Çiftlik hayvanlarında ve kümes hayvanı ürünlerindeki (et, yumurta ve süt gibi) antibiyotik kalıntıları, fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerde bozukluklar gibi anormal reaksiyonlara neden olabilmektedirler (Singh ve diğerleri, 2014). Ayrıca antibiyotiklerin düşük dozlarda, uzun süreli olarak uygulanması, bakterilerde antibiyotik direncine sebep olmaktadır (Gillings ve diğerleri, 2017). Antibiyotiğe dirençli bakterilerle mücadele 21. yüzyılda önemli bir sağlık sorunu haline

gelmiş ve çoğu Avrupa ülkesinde yemlere antibiyotik eklenmesi yasaklanmıştır (Egorov ve diğerleri, 2019; Ye ve diğerleri, 2020). Türkiye’de 21.01.2006 tarihinden itibaren antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklanmıştır (Tuncer, 2007).

Antibiyotiklerin yasaklanmasının hayvan sağlığı ve çiftçilerin çıkarları üzerinde olumsuz etkileri olabileceğinden ve tüketici sağlığı bilincindeki küresel artışı ile birlikte doğal olmayan büyüme destekleyiciler ve katkı maddeleri içermeyen kümes hayvanı ürünlerine artan ilgi antibiyotiklerin yerini alabilecek yem katkı maddeleri arayışına sebep olmuştur (Ferber, 2022; Mingmongkolchai ve Panbangred, 2018; Ye ve diğerleri, 2018; Ramlucken ve diğerleri, 2020c). Aşırı antibiyotik kullanımıyla ilişkili sorunları kontrol etmek için bakteriyosinler, bitki özleri, antibakteriyel aşular, yem içi enzimler ve probiyotikler önerilmiştir (Khalid ve diğerleri, 2021). Şu anda, oligosakkarid preparatları, enzim preparatları, bitki türevleri, prebiyotikler, organik asitler, özellikle antibiyotiklere değerli bir alternatif olabileceği kanıtlanmış olan uçucu yağlar ve probiyotikler antibiyotik ikamesi olarak kullanılmaktadır (Egorov ve diğerleri, 2019; Ramlucken ve diğerleri, 2020c; Ye ve diğerleri,2020).

Probiyotikler, dünya çapında antibiyotik büyütme faktörlerinin (AGP) kullanımdan kaldırılması nedeniyle çiftlik hayvanları ve balıklar için bir büyüme destekleyicisi olarak antibiyotiklere en iyi alternatiflerden biri olarak kabul edilmektedir. Maya, mantar ve birçok *Bacillus* türü gibi çeşitli mikroorganizmalar, yem antibiyotiklerinin yerini alma potansiyeline sahip oldukları için probiyotik olarak işlev gördüğü bilinmektedir (Khalid ve diğerleri, 2021).

Gıdanın doğal bileşenleri ya da fermente gıdalar olarak yüzyıllardır tüketilmekte olan probiyotikler, kümes hayvanları üreticilerinin hayvanları enterik patojenlerden korumak ve hayvan sağlığını iyileştirmek için kullandıkları canlı mikrobiyal yem takviyeleridir (Patterson ve Burkholder, 2003; Pan ve Yu, 2014). Bağırsak mikrobiyolojisine ve probiyotiklerin diyetle kullanımına olan ilgi 1800’lü yılların sonu ve 1900’lü yılların başında gelişmeye başlamıştır. Yunanistan’da ‘Yaşam için’ anlamına gelen probiyotikler (Patterson ve Burkholder, 2003) bir terim olarak ilk defa Lilly ve Stillwell (1965) tarafından “bir mikroorganizmanın salgılanan ve diğerinin büyümesini teşvik eden maddeleri” ni tanımlamak için kullanılmıştır. Artan ilgi Escherich’in 1800’lerin sonunda *Escherichia coli*’yi izole etmesine ve laktik asit bakterilerini beslenmenin faydaları üzerine aktif araştırma yapmasına neden olmuştur (Patterson ve Burkholder, 2003). Metchnikoff 1907’de, yoğurt tüketen Bulgarların uzun ömürlü olduklarını ve yoğurttaki laktik asit bakterilerinin sindirim üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu öne sürmüştür. O zamandan beri yapılan invitro ve invivo çalışmalar intestinal mikrobiyatanın patojenlerin etkilerini engellediğini, bağırsak mikrobiyatasındaki problemlerin enfeksiyona yatkınlığı arttırabileceğini ve diyetle probiyotik eklenmesinin enfeksiyona direnci arttırdığını

göstermiştir (Rolfe, 2000). Probiyotiklerin “bağırsak mikrobiyal dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeler” olduğunu ileri sürülmüştür. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü / Dünya Sağlık Örgütü (FAO / WHO, 2001) uzmanlarının katılımıyla gerçekleştirilmiş toplantıda, Uluslararası Probiyotikler ve Prebiyotikler Bilimsel Birliği tarafından (ISAPP) “Yeterli miktarda uygulandığında, konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar” tanımı onaylanmıştır (Amara ve Shibl, 2015; Khalid ve diğerleri, 2021).

Probiyotikler sindirimin iyileştirilmesi, bağırsak mikroflorasının düzenlenmesi, bağırsak bariyer işlevinin iyileştirilmesi, gastrointestinal hastalıkların önlenmesi ve bağışıklık sisteminin modüle etmesi ile daha sağlıklı bir sindirim sistemini desteklemektedir (Ramlucken ve diğerleri, 2020b). Broilerlerdeki verimlilik, immun sistem ve antioksidasyon üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır (Ye ve diğerleri, 2018). Probiyotiklerin kayda değer antimikrobiyal aktivite gösterdiği yaygın olarak bildirilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, mantar infeksiyonlarının kontrolünde hayati bir rol oynayan probiyotiklerin antifungal özelliklerini de ortaya çıkarmıştır (Shu ve diğerleri, 2018; Vahidinasab ve diğerleri, 2019; Guo ve diğerleri, 2020).

Probiyotiklerin etki şekli kullanılan spesifik probiyotik suşların/türlerin özelliklerine bağlı olarak değişebilmekte, ancak çoğu probiyotik belirtilen şekillerde fayda sağlamaktadır: Rekabet yoluyla patojenik bakterilerin kolonizasyonunu ve çoğalmasını engellemek, bakteriyostatik ve bakteriyosidal maddeler üretmek (Pan ve Ye, 2014), enterotoksinleri nötralize etmek, bağırsak epitel hücre çoğalması ve farklılaşmasında rol alarak konakçı bağışıklığını arttırmak ve homeostazı sağlamak (Pan ve Ye, 2014; Amara ve Shibl, 2015), sindirimi iyileştirmek, antibiyotiklerin zarar verdiği bağırsak mikrobiyotasını yenilemek ve regüle etmek (Amara ve Shibl, 2015; Ramlucken ve diğerleri, 2020b), yiyecekleri femente etmek (Ye ve diğerleri, 2018), bazı durumlarda genetik materyaldeki eksikliği (laktoz fermentasyon eksikliği durumunda olduğu gibi) tamamlamak (Amara ve Shibl, 2015).

Diyet probiyotikleri, oksidatif hasarı iyileştirme yetenekleri nedeniyle kanatlı sağlığı için faydalıdır (Ye ve diğerleri, 2018). Tavuk yemine probiyotiklerin dahil edilmesinin performansı arttırdığı ve yumurta sarısındaki kolesterol konsantrasyonunu azalttığı bildirilmektedir (Sonia ve diğerleri, 2021). Probiyotikler sadece sağlığımızı iyileştirmek ya da patojenik infeksiyonları kontrol etmekle kalmaz, aynı zamanda gerçek hastalık tedavisi ve yönetimine de yardımcı olabilmektedir (Ramlucken ve diğerleri, 2020b).

İdeal bir probiyotik, konak kökenli ve non-patojenik olmalı, işlenme ve depolanmaya dayanmalı, mide asidi ve safraya dayanıklı olmalı, epitel veya mukusa yapışabilmeli,

bağırsaklarda uzun süre kalabilmeli, inhibitör bileşikler üretebilmeli, immun yanıtı modüle etmeli, mikrobiyal aktiviteyi değiştirebilmelidir (Patterson ve Burkholder, 2003).

Bacillus, *E. coli*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, çeşitli maya türleri ve tanımlanmamış karışık kültürler dahil olmak üzere çeşitli mikrobiyal türler probiyotik olarak kullanılmıştır. *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleri en yaygın olarak insanlarda kullanılırken, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Aspergillus* spp. ve *Saccharomyces* maya türleri çiftlik hayvanlarında en yaygın olarak kullanılan mikroorganizmalar olmuştur (Rolfe, 2000; Kalavathy ve diğerleri, 2003; Kabir ve diğerleri, Kabir, 2009). Bununla birlikte, bu probiyotiklerin çoğuyla ilişkili ana dezavantaj, yem üretim aşamaları boyunca ve tavukların gastrointestinal sisteminde zayıf veya sınırlı süre hayatta kalmalarıdır (Ramlucken ve diğerleri, 2020c). Bu olumsuzluklar spor oluşturma yeteneklerinden dolayı uzun süreli depolama için avantaj sağlayan *Bacillus* bazlı probiyotiklere olan ilgiyi artırmış ve hayvan yemlerinde mikrobiyal katkı maddeleri olarak yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır (Rehman ve diğerleri, 2007; Ye ve diğerleri, 2018). *Bacillus*lar ısıya, ultraviyole ışınlarına ve elektromanyetik radyasyona dayanıklıdır (Nam ve diğerleri, 2009). Bu özellikleri yem üretimi sırasındaki hasardan, safra tuzları, düşük pH gibi gastrointestinal sistemdeki olumsuz koşullardan kurtulmalarını sağlamaktadır (Rehman ve diğerleri, 2007; Ye ve diğerleri, 2018; Ramlucken ve diğerleri, 2020b, Khalid ve diğerleri, 2021). *Bacillus*ların geleneksel fermantasyon süreçleriyle üretilmesi de nispeten kolay olduğundan istikrarlı ticari ürünler sağlamak için yüksek maliyet gerektirmemektedir (Nam ve diğerleri, 2009). Ayrıca büyüme hızları, çok çeşitli sindirim enzimlerinin üretimi ve belirli patojenik bakterileri rekabetçi bir şekilde dışlama yetenekleri ile bilinmektedirler. Yapılan bazı çalışmalar gastrointestinal sistemdeki fakültatif koşullar altında dahi probiyotik *Bacillus* spp. sporlarının germinasyonun ve üremesinin başlayabildiğini göstermektedir (Ramlucken ve diğerleri, 2020c). *Bacillus* spp. terminal elektron alıcısı olarak nitrat veya nitriti kullanabilmekte, böylece oksijensiz koşullarda hayatta kalmalarını sağlayan anaerobik solunum kolaylaşmaktadır (Ramlucken ve diğerleri, 2020a). *Bacillus* spp. piliç büyüme oranı ve yem kullanım verimliliğini arttırmakta, bağışıklık sistemini geliştirerek patojenlere karşı koruma sağlamaktadır. Gastrointestinal sistemde kolonize olarak bağırsak villuslarının histomorfolojisini iyileştirmektedir. Bu etkileri, antibiyotik büyütme faktörlerine doğal alternatifler olarak kullanımlarına yönelik araştırmaları desteklemiştir (Ramlucken ve diğerleri, 2020b) ve o zamandan beri bu türün kümes hayvanları için probiyotik özelliklerini araştıran çalışmalarda ciddi bir artış olmuştur (Egorov ve diğerleri, 2019). Ayrıca *Bacillus* cinsi üyelerinin, Gram (-) patojenlere ve ayrıca birçok mantar patojenine karşı büyük aktivite

gösteren sürfaktin, bakteriyosin gibi çeşitli faydalı metabolitler ve inhibitör bileşikler ürettiği bildirilmektedir (Rehman ve diğerleri, 2007).

Probiyotiklerin gastrointestinal sistemde canlı kalması ve kolonizasyonu, sindirim enzimlerini üretmesi, hastalığa neden olan patojenleri zayıflatılması ve immunomodülasyonu sağlaması önemlidir (Kabir, 2009). Potansiyel probiyotiğin biyogüvenliğini oluşturmak kritik bir faktördür, bu nedenle genel olarak güvenli (GRAS) statüsüne sahip mikroorganizmalar tercih edilmektedir. Tüm *Bacillus* suşları, tüm probiyotik yeterliliklere eşit olarak sahip olmadığı için, çok işlevli bir ürün oluşturmak için çoklu etkilerin niceliği, kanatlı endüstrisine ticari olarak uygun bir ürün sunmak için kritik öneme sahiptir (Ramlucken ve diğerleri, 2020c).

Bacillus velezensis, antimikrobiyal aktiviteye ve yeni lipopeptitleri sentezleme potansiyeline sahip yeni bakterileri keşfetmeyi amaçlayan geniş bir araştırma programında izole edilmiş yeni bir türdür. Malaga’da (Güney İspanya) Ve’lez nehrinin ağzından izole edilen *B. velezensis* ilk olarak 2005 yılında Ruiz-García ve diğerleri tarafından “15-45 °C ve pH 5-10 arasında yaşayabilen Gram (+) bir bakteri” olarak tanımlanmıştır (Ruiz-García ve diğerleri, 2005). Kendi metabolitlerinde zenginleşebilme yeteneği sayesinde doğada yaygın olarak bulunmakta ve kolayca kültürlenebilmektedir. Yapılan farklı çalışmalarda etken tavuk sekum içeriği, toprak, karides, tıbet sığırı, domuz yavrularının gübresi, kültür balıkçılığı devirdaim sistemleri, sağlıklı orfozun bağırsak yolu, fermente pirinç birası (Apong) ve pamuk atığından izole edilmiştir (Khalid ve diğerleri, 2021). İnsana ve hayvana zararsız yeni bir türdür. Geniş spektrumlu antibakteriyel ve antimikotik aktiviteye sahiptir (Ye ve diğerleri, 2018; Grady ve diğerleri, 2019).

B. velezensis 0.5 x 1.5-3.5 µm boyutlarında Gram (+) çomak şeklindedir. Tek tek, çiftler halinde ya da kısa zincirler şeklinde görülebilmektedir. Elips şeklindeki sporları parasentral veya subterminal yerleşmektedir. Peritrik flagella ile hareketlidirler. TSA besiyerinde kremi beyaz renkte düzensiz kenarlı koloniler halinde ürerken, TSB’de yüzeyde ince bir film ile geri kalan kısımda bulanıklık oluşturarak üremektedir. Konsantrasyonu %12’ye kadar olan NaCl’li ortamda büyüyelebilmektedir. 15-45 °C’de ve 5-10 pH’da yaşayabilmektedir. Nitrat ve fumarat varlığında anaerobik ortamda üreyememektedir. Askülin, amigdalin, L-arabinoz, arbutin, selobiyoz, D-fruktoz, gliserol, D-glukoz, glikojen, inositol, laktoz, maltoz, mannitol, D-mannoz, metil αD-glikozit ve D-rafinozdan gaz üretmeden asit üretmektedir. Nitratı azaltmakta ve L-sisteinden H₂S üretmektedir. Katalaz, oksidaz, Vogues– Proskauer ve ONPG pozitifdir. Kan, nişasta, jelatin ve kazeini hidrolize etmektedirler. İndol, lisin dekarboksilaz, ornitin dekarboksilaz, üreaz, arginin dihidrolaz, triptofan deaminaz, fenilalanin deaminaz negatifdir.

Tween 20, Tween 80, DNA veya tirozini hidrolize edememektedir (Ruiz-García ve diğerleri, 2005).

Bitki hastalıklarını baskılama konusundaki mükemmel yeteneği nedeniyle tarım alanlarında biyolojik kontrol ajanı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Shu ve diğerleri, 2018; Ye ve diğerleri, 2018). Bitkilerde doğal bağışıklığı tetikleyebilen olağanüstü biyosentetik mekanizmaya sahip potansiyel bir rizobakteriyel organizma olarak kabul edilmektedir (Ye ve diğerleri, 2020).

Geçtiğimiz yıllarda *B. velezensis*'in bitki büyümesini teşvik ettiğini öne süren birçok çalışma yapılmıştır. *B. velezensis*'in antibiyotik lipopeptit (surfactin, fengycin ve bacillomycin D), poliketidler (macrolactin, bacillaene ve difficidin ya da oxydifficidin) ve peptit (plantazolicin, amylocyclicin ve bacilycin) dahil olmak üzere antimikrobiyal aktivitelere sahip sekonder metabolitler üretmek için etkileyici bir kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir (Chen ve diğerleri, 2009). *B. velezensis* gibi bazı baskın *Bacillus* suşları, bitki hastalıklarına biyolojik pestisit uygulamasına dahil edilmiş ve yurtdışında külleme, gri küf, kılıf yanıklığı, sklerotinin kontrolü için biyolojik bir mantar ilacı olarak tescil edilmiştir (Nam ve diğerleri, 2009). Önceki çalışmalar, su ürünleri endüstrisinde bir probiyotik olarak *B. velezensis*'in yararlılığını bildirmiştir (Li ve diğerleri, 2019).

Bacillus velezensis, mantarları ve bakterileri inhibe edebildiği ve son zamanlarda potansiyel bir biyokontrol ajanı haline geldiği için giderek daha geniş bir şekilde araştırılmış ve uygulanmıştır (Ye ve diğerleri, 2018, 2020).

Bu bakterinin bağırsak patojenlerinin yapışmasını, çoğalmasını ve virülansını inhibe edebileceği öne sürülmüştür. Bağışıklık sistemini modüle etmek için önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Ye ve diğerleri, 2020).

B. velezensis'in *gyrB* geni ile DNA-DNA hibridizasyonu arasındaki benzerliklerine dayanarak, daha önceki çalışmalarda izole edilmiş olan *Bacillus amyloliquefaciens*'in (Ruiz-García ve diğerleri, 2005) heterotipik eş anlamlısı olduğu öne sürülmüştür. Ancak yakın zamanda yapılan bir çalışmada *B. velezensis*'in *B. amyloliquefaciens*'in heterotipik eş anlamlısı olmadığı bildirilmiştir (Dunlap ve diğerleri, 2016).

Bacillus velezensis'in surfaktin, fengisin, basillibaktin, diffisidin, makrolaktin, basilisin, asetoin gibi ribozomal ve ribozomal olmayan birçok biyoaktif metabolit ile birçok uçucu organik bileşik sentezlediği bildirilmiştir (Rabbee ve diğerleri, 2019). *B. velezensis*'in ürettiği sekonder metabolitler ve fonksiyonları Tablo 3'de yer almaktadır. Ayrıca, *B. velezensis*'in antibiyotikler, enzimler, fitohormonlar, demir şelatörleri, antioksidanlar, büyüme promotörleri

ve antitümör ajanları içeren çeşitli metabolik ara ürünler ürettiği bildirilmiştir (Adeneji ve diğerleri, 2019).

Tablo 3. *B. velezensis*'in ürettiği sekonder metabolitler ve fonksiyonları.

<i>B. velezensis</i> tarafından üretilen sekonder metabolitler	Metabolitlerin fonksiyonu
Diffisidin	Antibakteriyel, Antimikrobiyal
Basilisin	Antibakteriyel
Surfaktin	Antifungal, Antimikrobiyal
Rhizocycin	Antifungal
Makrolaktin	Antibakteriyel, Antimikrobiyal
Basilibaktin	Antimikrobiyal
Fengisin	Antifungal, Antimikrobiyal
Amilosiklin	Antibakteriyel
Bacillomisin D	Antimikrobiyal
Oksidiffisidin	Antimikrobiyal

Patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal özellikler, hayvan yemi ve beslenmesinde probiyotikler için ana seçim kriterleri olarak kabul edilmektedir (Borah ve diğerleri, 2019). Biyoaktif molekül bacilisin ve diffisidin, zararlı alg *Microcystis aeruginosa*'ya karşı yaklaşık %99 öldürme oranı ile güçlü antisianobakteriyel aktiviteye sahiptir ve bu nedenle hedeflenen bir biyokontrol ajanı olarak kullanılabilir (Wu ve diğerleri, 2015). Bu antibakteriyel bileşiklerin üç farklı şekilde etki gösterdiği bildirilmektedir: hücre duvarını bozma, kritik hücre mekanizması DNA ve RNA'yı kontrol etme veya enzim aktivitesini inhibe etme, bakteri hücre duvarının bozulması, pozitif yüklü antimikrobiyal bileşiklerin elektrostatik kuvvetinin etkileşimi ve negatif yüklü bakteri hücre duvarları yoluyla gerçekleşmektedir (Khalid ve diğerleri, 2021). Bu bileşikler, bakteri hücre duvarının bütünlüğünü korumak için gerekli olan enzimleri bloke etmektedir (Zasloff, 2002). Bu bileşiklerin hücre içini hedeflemesi, proteinlerin sentezini engellemekte ve bazı bileşikler, DNA replikasyonunu inhibe ederek bakterileri öldürmektedir (Khalid ve diğerleri, 2021).

Bacillus'un antibiyotik sentezinde yer alan toplam gen sayısı 350 kb'ye ulaşmıştır, ancak mevcut hiçbir suş bunların tümüne sahip değildir ve *Bacillus* spp. genomunun sadece %3-

4'ünün antimikrobiyal bileşikler ürettiği bilinmektedir (Stein, 2005). *B. velezensis*'in karakteristik özelliklerinden biri, güçlü antimikrobiyal aktivitelere sahip sekonder metabolitlerin üretimi için gen kümeleri içerdiğinin tahmin edilmesidir (Palazzini ve diğerleri, 2016).

B. velezensis'in özellikleri, bu türün hayvanların bağırsak mikrobiyotasını etkileyebileceğini düşündürmektedir. Stabilize edilmiş bağırsak mikrobiyotası, hayvanların hastalık direncini ve çevreye uyumunu iyileştirebilse de (Belkahla ve diğerleri, 2005), bağırsak mikrobiyotası sağlıklı hayvanlarda doğrudan değiştirilemez. Bağırsak mikrobiyotasındaki herhangi bir rahatsızlık veya dengesizlik, bağışıklık sisteminin olgunlaşmasını etkileyebilir ve gastrointestinal infeksiyonlara neden olabilir (Quagliariello ve diğerleri, 2018). Bir çalışma, kanal yayın balığına beslenen *B. velezensis* AP193'ün bağırsak mikrobiyotasını stabilize edebileceğini ve havuz suyu kalitesini iyileştirebileceğini göstererek, balıklar için probiyotik olarak kullanım potansiyelini ortaya koydu (Thurlow ve diğerleri, 2019). Benzer şekilde, Li ve diğerleri (2019), *B. velezensis* BV-7 uygulamasının, yararlı mikropların sayısını artırarak ve patojenlerin sayısını azaltarak farelerin bağırsak mikrobiyotasını iyileştirdiğini bildirmiştir. Özellikle, *B. velezensis* sporları balıkta toksisiteye ve zarara neden olmaz ve Haç balığının bağırsağında kalabilir, bu da farklı *Bacillus* suşlarının lümeneye başarılı bir şekilde ulaşabileceğini ve Haç balığının bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olarak çoğalabileceğini düşündürür (Zang ve diğerleri, 2019).

B. velezensis yeni bir tür olarak kabul edilse de, yukarıda bahsedilen *B. velezensis* kullanılarak yapılan balık denemelerine dayanarak, bu suşun hayvanlar için güvenli olduğu ileri sürülmüştür. Bununla birlikte, probiyotik suşun güvenliğini belirlemek için hayvan modellerine güvenilebilir, ancak türler arasındaki tepki oldukça değişken olduğundan (Zuntar ve diğerleri, 2020), *B. velezensis*'in probiyotik olarak farklı hayvan türleri için kullanımını genelleştirilememektedir. *B. velezensis*'in güvenliğinin daha iyi değerlendirilmesi için, suşların farklı içsel özellikleri için bazı in vitro testler yapılabilir. Probiyotik suş seçim kriterlerine göre suş, konakçı hücreleri etkilememelidir (Khalid ve diğerleri, 2021). Araştırmacılar, probiyotik suşun güvenliğini değerlendirmek için patojenite, metabolik aktivite ve içsel özelliklerin gözetiminin yararlı olduğu konusunda hemfikirdir (Anadon ve diğerleri, 2021). Her probiyotik suşun riskini değerlendirmek için büyük harcamalar ve çabalar gereklidir. Bu sorunu önlemek için probiyotik suşların etkinliği ve güvenliği hakkında ilgili bilgiler gereklidir. Bununla birlikte, bu suşun güvenliğini doğrulamak için farklı hayvan türleri için daha fazla deneme yapılması gerekmektedir (Khalid ve diğerleri, 2021).

B. velezensis, biyoteknoloji uygulamalarına ilişkin sayısız çalışmaya rağmen, henüz ticari olarak kapsamlı bir şekilde uygulanmamıştır veya bu uygulamalar endüstriyel amaçlı sentetik tarım, çevre ve tıbbi amaçlı ürünlerin kullanımına olan bağımlılığı azaltmamıştır (Adeniji ve diğerleri, 2019). Antibiyotik yerine hayvan yemlerine uygulanan bir probiyotik olarak *B. velezensis* hakkında çok az araştırma bulunmaktadır. Moleküler araştırma teknolojisinin gelişmesiyle birlikte *B. velezensis*'in gen işlevi daha iyi anlaşılacak ve bu da uygulamanın yapılabilirliğini arttırabilecektir (Ye ve diğerleri, 2018, 2020).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Challenge İçin Kullanılan Cıvcivler

Bu çalışma Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Etik Kurulu'nun 25/07/2018 tarih ve 71705440-170-2228 sayılı izni ile uygun görülmüştür.

Çalışmada benzer vücut ağırlıklarına (~45 g) sahip günlük cıvcivler kullanıldı. Çalışma için onaltı tavuktan oluşan beş farklı grup, toplam 80 adet cıvciv kullanıldı. İlk grup deneme başlangıcındaki 1 günlük cıvcivlerden oluşan deneme başlangıcı (DB) grubu, ikinci grup deneme sonuna kadar yetiştirilen deneme sonrası kontrol grubu (DS), üçüncü grup *C. perfringens* verilen grup (NE), dördüncü grup *C.perfringens*+ *B. velezensis* verilen grup (BV), beşinci grup ise *C. perfringens* + amoksisilin verilen grup (AB) olarak belirlendi.

3.1.2. Besiyerleri

C. perfringens'in izolasyonu için Tryptose Sulfite Cyclocerine (TSC) Agar kullanıldı. Hayvanlara verilecek kültürü elde etmek için Sheep Blood Agar, Fluid Thioglycollate (FTG) Medium ve Cooked Meat Medium (CMM) kullanıldı.

3.1.3. Standart Suşlar

Challenge için kültür elde etmek üzere *C. perfringens* NCTC 8239 suşu kullanıldı.

Kullanılan *B. velezensis* suşu Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür koleksiyonundan temin edildi.

3.1.4. Challenge Süresince Kullanılan Rasyonlar

Civcivler 1-13. günler kadar mısır-soya bazlı bir diyet ile beslendi. 14. Günden itibaren ise kontrol grubu hariç tüm gruplar % 30 oranında balık unu içeren yem ile beslenmeye devam edildi. Diyet içerikleri ve besin değerleri Tablo 4.'de verilmiştir.

Tablo 4. Mısır- soya bazlı diyet ile yüksek oranda balık unu içeren diyet bileşimi ve besin değerleri

İçindekiler (g/kg)	Mısır- Soya Bazlı Diyet	Yüksek Oranda Balık Unu İçeren Diyet
Mısır	51.64	53.8
Soya (% 44.2 ham protein)	39.6	7.44
Balık Unu(% 62.8 ham protein)	0.0	30.0
Kolza yağı	4.3	4.3
Dikalsiyum fosfat	1.85	1.85
Kireç taşı	1.3	1.3
D, L-Metiyonin	0.2	0.2
Tuz	0.4	0.4
Kolin	0.18	0.18
Vitamin Premiksi*	0.03	0.03
Mineral Premiksi**	0.5	0.5
Besin Değerleri		
Ham protein	21.17	25.98
Metabolize edilebilir enerji (MJ / kg)	14.16	14.31
Metiyonin	0.49	0.95
Lizin	1.03	1.6
Treonin	0.77	0.95
Kalsiyum	1.07	2.11
Toplam fosfor	0.71	1.35

Vitamin Premiksi* 1 kg için değerler: A vitamini, 50.000 IU; D3 vitamini, 10.000 IU; E vitamini, 25 IU; K3 vitamini, 35 mg; B3 vitamini, 25 mg; B2 vitamini, 16 mg; B6 vitamini, 6 mg; B1 vitamini, 2 mg; B12 vitamini, 0.03 mg; nikotinik, 25 mg; folik asit, 0.5 mg.

Mineral Premiksi** 1 kg için değerler: Mn (manganez sülfat), 60.00 mg; Çinko (çinko sülfat), 40.00 mg; Cu (bakır sülfat), 8.00 mg; Fe (demir sülfat), 80.00 mg; Se (sodyum selenit), 0.15 mg; I (potasyum iyodat), 0.35 mg.

3.1.5. Mikrobiyom Analizinde Kullanılan Kitler ve Cihaz

Yeni nesil dizileme MinION (Oxford Nanopore Technologies) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Kit olarak PCR Product Purification kiti, SQK-LSK108 kodlu kütüphane hazırlık kiti, NEBNext End Repair/dA-tailing Module (New England Biolabs) kiti, Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter) kiti kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. *Clostridium perfringens*'in Hazırlanması

C. perfringens suşu kanlı agara ekilerek anerobik koşullar altında, 37°C'de 18 saat inkübe edildi. 1- 2 koloni seçildi ve 10 ml olarak hazırlanan Cooked Meat Medium (CMM)'a aktarılarak aynı koşullar altında 12 saat inkübe edildi. Ardından bu kültür ortamı 100 ml olarak hazırlanan thioglycollate broth (FTG)'a geçilerek daha önce olduğu gibi inkübe edildi. Hazırlanan FTG kültürü 1: 10 oranında olacak şekilde CMM'ye ekimleri yapıldı ve yine aynı koşullarda inkübe edildi. Elde edilen 100 ml kıymalı CMM 1 litre FTG ile karıştırılarak 15 saat inkübe edildikten sonra $\sim 2-5 \times 10^8$ CFU/ml bakteri elde edildi. Finalde oluşturulan kültür challenge için kullanıldı.

3.2.2. Challenge Yapılması

Civcivler 1 günlükten itibaren 13. güne kadar mısır-soya bazlı bir diyet ile beslendi. 14. günden itibaren ise kontrol grubu hariç tüm gruplar %30 oranında balık unu içeren yem ile beslenmeye devam edildi. Yem içerikleri ve besin değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Bu süre içerisinde tavukların önünde sürekli olarak su bulunduruldu ve altlık olarak talaş altlıklar kullanıldı. 21- 25. Günler arasında *C. perfringens* (NE), *C. perfringens*+ *B. velezensis* (BV) ve *C. perfringens* + amoksisilin (AB) gruplarına yem ile birlikte günde 2 defa daha önceden hazırlanmış olan *C. perfringens* kültürü (1,25 FTG- 1,5 yem (v/w)) verildi. 26- 30 günler

arasında AB grubuna içme suyunda seyreltilmiş 20 mg/ kg dozunda amoksisilin günde bir kez oral yolla verildi. BV grubunda ise *B.velezensis*'in (10^{11} spor/g sukroz dolgulu) liyofilize formu kullanıldı. Liyofilize toz 10^8 spor dozunda DW içinde taze olarak sulandırılarak her hayvana günde iki kez oral yolla verildi. Yapılan *B. velezensis* ve antibiyotik uygulamalarından sonra 32. gün kontrol grubu dahil tüm gruplara servikal dislokasyon yoluyla ötenazi yapıldı. Moleküler analizlerini yapmak üzere tavukların sekum içeriği alınarak -20°C 'de donduruldu.

3.2.3. Mikrobiyom Analizi

16S rRNA hedefli metagenomik analiz için daha önce tanımlanmış iş akışları kullanıldı (Cusco ve diğerleri, 2018). Amplikon kütüphanelerinin oluşturulması için kullanılan primer çifti ile 16S rRNA geninin V1-V9 bölgesini kapsayan yaklaşık 1400 bp'lik bir bölgesi hedeflendi (Zeng ve diğerleri, 2013; Klindworth ve diğerleri, 2013). Hedef spesifik primer çiftlerinin 5' ucuna, oluşturulan kütüphanenin Oxford Nanopore Technologies Nanopore barkod DNA dizileri eklendi. 16S rRNA'ya özgü hedef spesifik primer-konnektör sekansları ileri primer için TTTCTGTTGGTGCTGATATTGC- AGRGTTTGATYHTGGCTCAG -3' ve geri primer için 5'- ACTGCCTGTCGCTCTATCTTC - TACCTTGTTAYGACTT -3' şeklindedir. İlk PCR Proof Reading DNA Polymerase 2x Reaction Mix ve her bir primerden 200 nm kullanılarak uygulandı. PCR cihazında şu ısıl döngü programı izlendi: 95°C 'de 3 dakika; 25 döngü 95°C 'de 30 saniye, 55°C 'de 30 saniye ve 72°C 'de 90 saniye; 72°C 'de 5 dakika. PCR ürünü agaroz jelde yürütülerek boyutu (~ 1450 bp) doğrulandı ve PCR Product Purification Kit kullanılarak saflaştırıldı.

Tablo 5. 16S rRNA geni tam okuma için kullanılan primerler.

Oligo name	ONT Universal Tag	Sequence 5'to 3'	Amplicon
16S- 27F	TTTCTGTTGGTGCTGATATTGC	AGRGTTTGATYHTGGCTCAG	16S
16S- 1492R	ACTGCCTGTCGCTCTATCTTC	TACCTTGTTAYGACTT	16S

Amplikon kütüphanesi hazırlanması için Ligasyon dizileme kiti 1D (SQK-LSK108; Oxford Nanopore Technologies) kullanıldı ve amplikon kütüphanesi MinIONTM (Oxford Nanopore Technologies) cihazına yüklendi. Cihaza 1–1,5 μg DNA içeriğine sahip 45 μl barkodlanmış DNA karışımı ve pozitif kontrol olarak 5 μl lamda faj DNA'sı yüklendi. DNA uç

tamiri ve dA eklenmesi için NEBNext End Repair/dA-tailing Module (New England Biolabs) kiti kullanıldı. Saflaştırma için Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter) kiti kullanıldı.

Adaptör ligasyonu aşaması için toplam 0,2 pmol uçları hazırlanmış DNA 50 µl Blunt/TA ligase master mix (New England Biolabs) karışımının içerisine eklendi ve 20 µl adaptör karışımı eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakıldı. DNA kütüphanesinin elde edilmesi için son saflaştırma işlemi Adapter Bead Binding buffer (SQK-LSK108 kiti içinde bulunmaktadır) ve 0.5X Agencourt AMPure XP beads (Beckman Coulter) kitleri kullanılarak tamamlandı.

Dizileme karışımı (14 µl DNA kütüphanesi), Loading beads (25,5 µl) ve Running Buffer karışımı (35.5 µl) ile karıştırıldı. Kullanılacak R9.4 akış hücresi priming yapılarak yüklemeye hazır hale getirildi ve hazırlanan dizileme karışımı akış hücresinin örnek yükleme kısmına aktarıldı.

MinION™ kontrol yazılımı, MinKNOW™ versiyon 0.46.1.9 (R9.4) kullanılarak 48 saatlik (R9.4) bir dizileme protokolü gerçekleştirildi. Okuma verileri, 1.2.2 rev 1.5 iş akışı ve Metrichor™ agent (versiyon 0.16.37960) yazılımı tarafından baz alınarak elde edildi.

Dizileme bittikten sonra, fast5 formatında elde edilen sonuçlar guppy v3.1,5 yazılımı kullanılarak fastq formatına çevrildi (base-calling ve de-multiplexing). Barkod ve adaptör sekansları Porechop v0.2.3 yazılımı kullanılarak temizlendi, ayrıca dizilerin her iki ucundan 45 baz silinerek evrensel primer ve etiketler de silindi. Dizilerin temizlenmesinin ardından 1350-1550 bp uzunluğunda ki okumalar filtrelenmiş ve geriye kalan okumalar analizden çıkarıldı.

Temizlenmiş okumalar mothur v.1.39.5 platformu kullanılarak özelleştirilmiş iş akışı ile analize tabi tutuldu. Sekanslar kimerik yapılardan arındırıldı, hizlandı, benzerlik matrisi ile aralarındaki mesafeler ölçülerek %99 dan daha fazla benzerlik gösteren okumalar kümelenerek OTU'lar oluşturuldu. Oluşturulan OTU'lar RDP 16S rRNA veri tabanına göre karşılaştırılarak taksonomik anotasyonları gerçekleştirildi ve aynı cins olarak tespit edilen OTU'lar ilişkilendirilerek istatistiksel sonuçlar elde edildi. OTU'ların eşleştiği organizmalara, bunların kantitatif değerlerine ve örnekler ait metadata verilerine göre grafikler Minitab ve R programları kullanılarak alfa-çeşitlilik, beta- çeşitlilik ve principal component analizi (principal coordinat analizi) yapıldı.

3.2.4. Biyoinformatik Analiz

Gruplardan (DB, DS, NE, BV, AB) toplanan sekum içeriklerine ait bakteri topluluklarının benzerlikleri ‘vegan’ R paketinden elde edilen Bray-Curtis distance matrisi üzerinde uygulanan Principal Coordinat Analizi (PCA) ile değerlendirildi. İlk iki ana bileşen, PC1 ve PC2, 2 boyutlu olarak görselleştirildi. Görselleştirmeler, R’nin ‘factoextra’ ve ‘ggplot2’ paketleri kullanılarak uygulandı.

Verilere ait relative abundance (%) grafikleri Excel 2013 (Microsoft Office, USA) ile oluşturuldu. Verilerin istatistiksel analizleri SPSS version 22.0 istatistik programı (IBM Corp., USA) ile gerçekleştirildi. Şube, aile ve cins değerleri açısından gruplar arasındaki farklılıklar Kruskal-Wallis testi ve bağımsız örneklem tek yönlü varyans analizi (one- way ANOVA) ile ortaya kondu. Ortaya çıkan farklılıkların anlamlılık düzeyleri post- hoc Tukey testi ile analiz edildi. Analizlerde anlamlılık düzeyi $p < 0.01$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular ve Patolojik Değişiklikler

Deneme sırasında hiçbir grupta klinik belirti ve ölüm görülmedi. Deneme sonunda yapılan ötenazi sonrasında nekropsi yapıldı. Yapılan makroskobik incelemede yalnızca *C. perfringens* verilen NE grubunda bulunan tavukların bağırsaklarında patolojik değişiklikler olduğu görüldü. Bağırsakların şişkin olduğu, mukozasının ise hafif kanamalı olduğu gözlemlendi. Deneme başlangıcı grubu (DB), deneme sonrası kontrol grubu (DS), *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen grup (BV) ve *C. perfringens*+ amoksisilin verilen grup (AB) ta makroskobik bulguya rastlanmadı.

4.2. Mikrobiyom Analizi

16S rRNA geninin V1-V9 bölgelerinden elde edilen okuma sayısı Deneme başlangıcı (DB) grubunda 33517- 35437, deneme sonrası kontrol (DS) grubunda 28945-38920, *C. perfringens* verilen NE grubunda 13998- 15518, *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen BV grubunda 41781- 49590, *C. perfringens*+ amoksisilin verilen AB grubunda 37469- 44506 arasında değişmektedir.

4.2.1. DB Grubu Sekum Mikrobiyomu

Deneme başlangıcı (DB) grubunda sekal içerikten tespit edilen en baskın şube *Firmicutes* (%56,21) olarak belirlendi, bunu *Bacteroidetes* (%27,38), *Proteobacteria* (%15,20), *Fusobacteria* (%0,9), *Actinobacteria* (%0,31) izledi. *Synergistetes* ve *Tenericutes* şubesine ait bakteriye rastlanmadı.

DB grubunu oluşturan 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları Tablo 6'da gösterilmiştir.

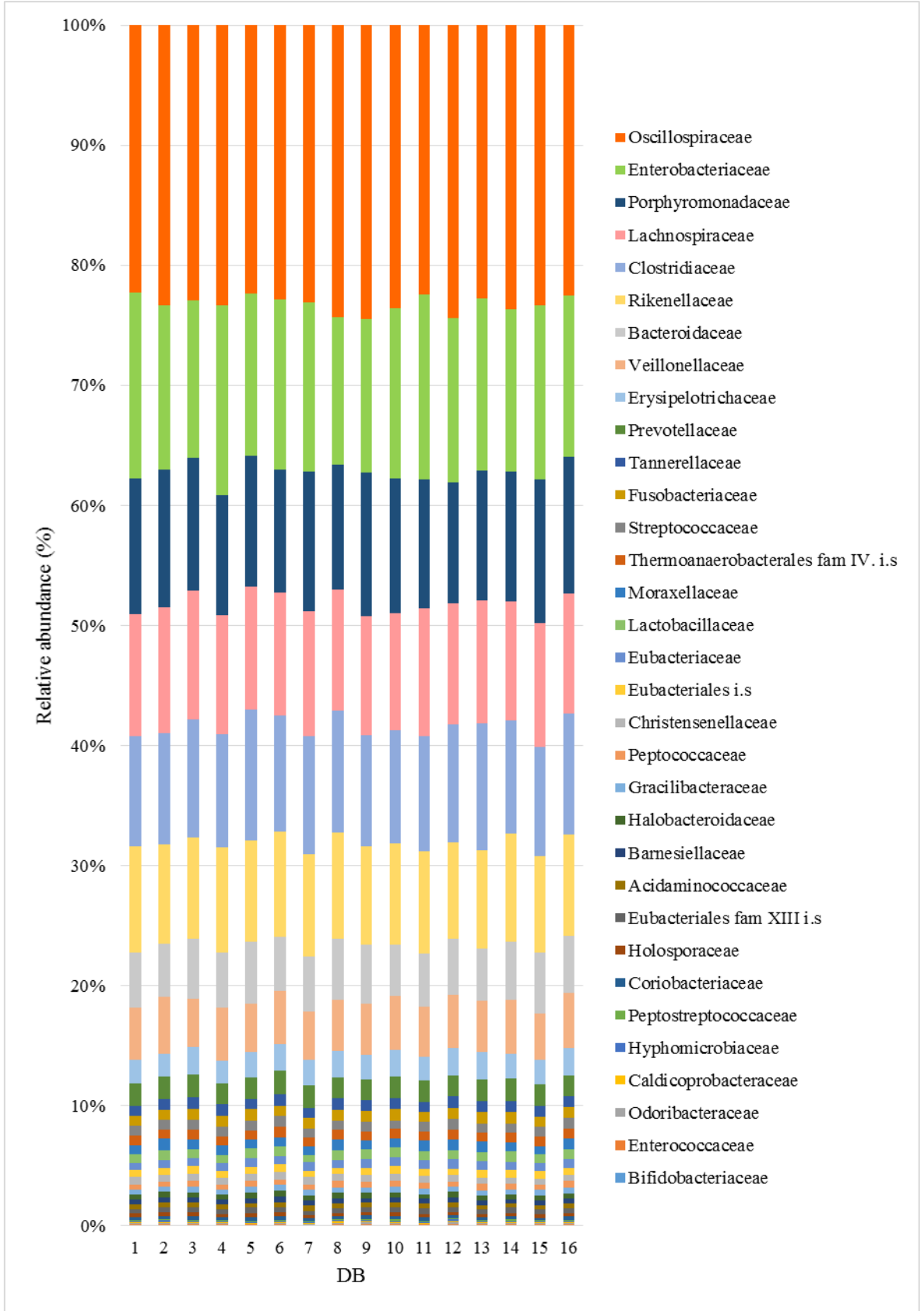
Tablo 6. Deneme başlangıcı (DB) grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.

Aile	DB1	DB2	DB3	DB4	DB5	DB6	DB7	DB8	DB9	DB10	DB11	DB12	DB13	DB14	DB15	DB16
<i>Oscillospiraceae</i>	7889	7926	7809	8248	7643	7768	8167	8469	8486	8173	7844	8370	7932	8101	8130	7554
<i>Enterobacteriaceae</i>	5477	4628	4447	5579	4646	4831	4979	4261	4431	4898	5376	4717	5007	4633	5057	4484
<i>Porphyromonadaceae</i>	4009	3894	3777	3552	3728	3486	4125	3610	4157	3872	3741	3439	3776	3686	4182	3821
<i>Lachnospiraceae</i>	3600	3545	3637	3497	3497	3502	3680	3514	3428	3383	3716	3474	3577	3411	3597	3368
<i>Clostridiaceae</i>	3258	3150	3361	3331	3729	3272	3463	3515	3195	3271	3350	3363	3668	3204	3171	3360
<i>Rikenellaceae</i>	3138	2814	2855	3093	2882	2997	3024	3080	2838	2917	2981	2762	2878	3104	2817	2843
<i>Bacteroidaceae</i>	1634	1501	1706	1639	1773	1534	1631	1763	1707	1474	1554	1595	1509	1636	1753	1592
<i>Veillonellaceae</i>	1543	1590	1365	1567	1392	1492	1393	1491	1469	1564	1450	1526	1490	1565	1357	1534
<i>Erysipelotrichaceae</i>	693	666	793	656	715	766	767	779	727	758	702	772	795	701	715	777
<i>Prevotellaceae</i>	663	628	627	617	609	656	657	593	604	631	619	597	625	640	630	562
<i>Tannerellaceae</i>	299	310	327	343	285	342	286	321	294	302	281	344	319	304	315	307
<i>Fusobacteriaceae</i>	291	281	320	304	339	299	338	317	310	323	298	307	333	326	280	313
<i>Streptococcaceae</i>	291	276	281	283	274	285	262	268	288	243	286	300	254	269	278	288
<i>Thermoanaerobacterales fam IV. i.s</i>	278	252	283	282	266	301	264	270	260	285	261	298	275	281	290	279
<i>Moraxellaceae</i>	268	311	283	280	248	251	243	314	265	260	308	298	305	244	235	312
<i>LactoBacillaceae</i>	246	300	231	223	276	287	222	307	287	265	254	260	244	305	238	259
<i>Eubacteriaceae</i>	218	221	228	251	271	233	250	215	236	270	252	266	259	226	235	241
<i>Eubacteriales i.s fam</i>	205	185	236	202	193	220	180	181	208	216	217	191	228	238	223	196
<i>Christensenellaceae</i>	214	192	199	188	179	218	216	205	192	204	186	180	194	171	178	182
<i>Peptococcaceae</i>	142	144	153	146	177	149	165	173	167	181	169	151	180	159	157	187
<i>Gracilibacteraceae</i>	149	141	163	150	165	170	160	154	157	152	172	151	148	137	164	156
<i>HaloBacteroidaceae</i>	159	166	140	149	170	165	153	163	155	143	141	158	137	135	148	152
<i>Barnesiellaceae</i>	130	127	147	145	137	155	150	153	123	146	140	138	141	119	133	128
<i>Acidaminococcaceae</i>	148	154	150	128	130	143	147	149	153	144	133	131	115	124	126	137
<i>Eubacteriales fam XIII i.s</i>	122	144	127	145	155	147	123	132	142	146	159	139	140	141	124	126
<i>Holosporaceae</i>	106	100	119	91	125	107	98	87	84	118	111	99	93	106	113	102
<i>Coriobacteriaceae</i>	94	89	93	85	91	99	71	80	97	84	96	73	88	83	73	87
<i>PeptoStreptococcaceae</i>	37	33	32	29	31	27	40	36	25	45	30	47	41	39	35	26
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	37	44	37	32	25	42	30	36	43	31	29	40	23	38	26	40
<i>Caldicoprobacteraceae</i>	31	38	32	41	25	27	30	36	35	31	29	38	23	32	26	23
<i>Odoribacteraceae</i>	28	25	18	24	21	27	22	33	35	31	15	39	37	29	24	34

Tablo 6. Deneme başlangıcı (DB) grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları (Devam).

Aile	DB1	DB2	DB3	DB4	DB5	DB6	DB7	DB8	DB9	DB10	DB11	DB12	DB13	DB14	DB15	DB16
<i>Enterococcaceae</i>	24	22	29	38	27	26	18	36	31	25	20	37	34	17	30	28
<i>Bifidobacteriaceae</i>	16	22	25	15	14	26	11	24	28	22	20	27	12	29	21	19
Toplam okuma sayısı	35437	33919	34030	35353	34238	34050	35365	34765	34657	34608	34940	34327	34880	34233	34881	33517

Aile düzeyinde incelendiğinde, sekum içeriklerine %23,42 ile *Oscillospiraceae* ve %14,11 ile *Enterobacteriaceae* hakimdi, bunu *Porphyromonadaceae* (%11,09), *Lachnospiraceae* (%10,28), *Clostridiaceae* (%9,78), *Rikenellaceae* (%8,57), *Bacteroidaceae* (%4,74), *Veillonellaceae* (%4,33), *Erysipelotrichaceae* (%2,15), *Prevotellaceae* (%1,81), izledi. Oranı %1'in altında olan 22 adet aile tespit edildi. Grubun her bir hayvanına ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif değişimleri incelendiğinde 16 hayvanın aile oranlarının birbirine benzer olduğu görüldü (Şekil 1).



Şekil 1. Deneme başlangıcı (DB) grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

DB grubunu oluşturan 16'şar tavuğa ait cins düzeyindeki veriler Tablo 7.'de gösterilmiştir.

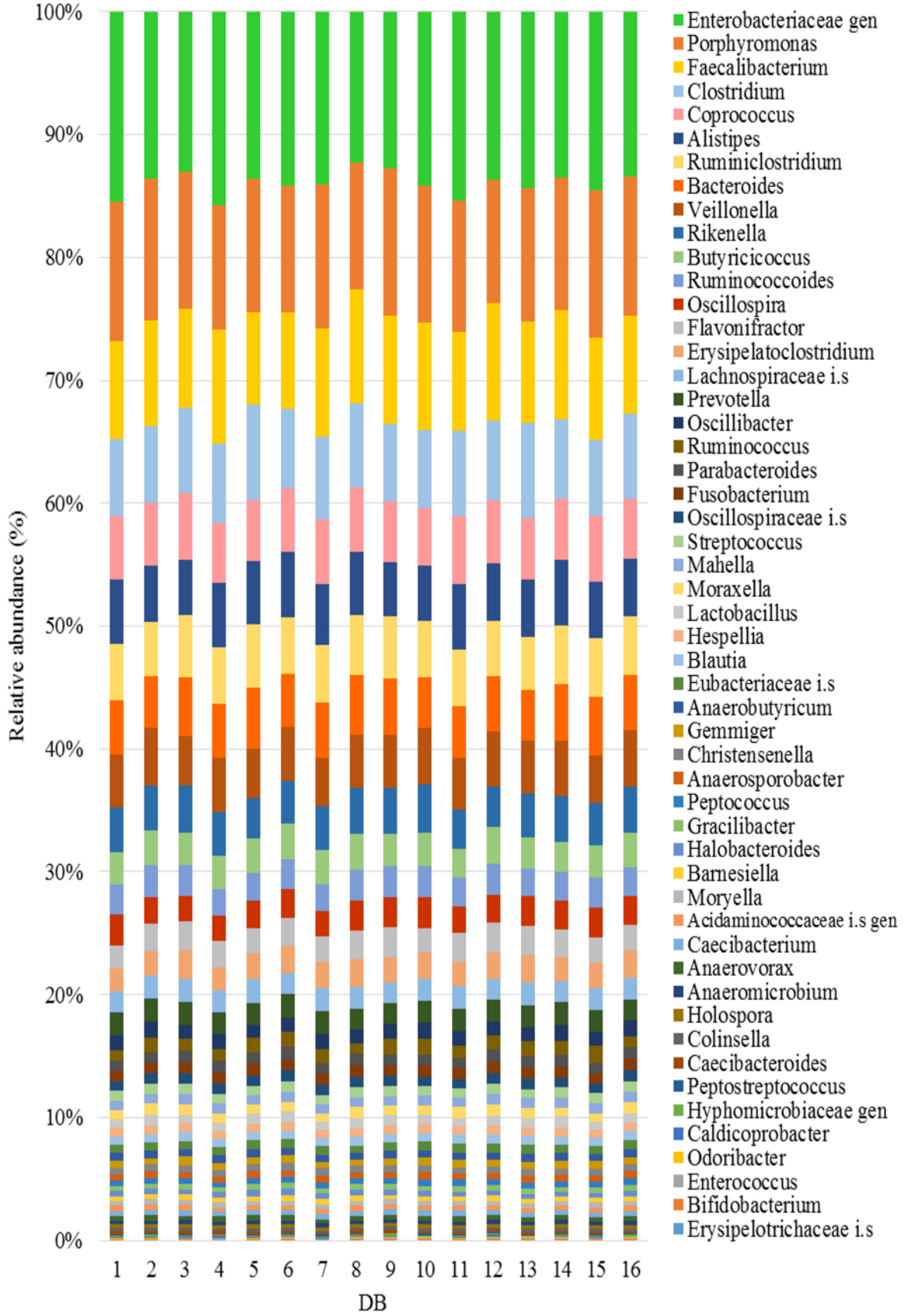
Tablo 7. Deneme başlangıcı (DB) grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları.

Cins	DB1	DB2	DB3	DB4	DB5	DB6	DB7	DB8	DB9	DB10	DB11	DB12	DB13	DB14	DB15	DB16
Enterobacteriaceae gen	5477	4628	4447	5579	4646	4831	4979	4261	4431	4898	5376	4717	5007	4633	5057	4484
Porphyromonas	4009	3894	3777	3552	3728	3486	4125	3610	4157	3872	3741	3439	3776	3686	4182	3821
Faecalibacterium	2832	2925	2743	3300	2556	2689	3128	3202	3030	3006	2812	3265	2903	3028	2933	2671
Clostridium	2221	2096	2376	2271	2671	2201	2372	2394	2185	2214	2430	2229	2686	2233	2159	2327
Coprococcus	1840	1746	1841	1745	1707	1768	1867	1824	1715	1624	1904	1747	1746	1686	1840	1614
Alistipes	1844	1566	1530	1845	1762	1808	1744	1776	1539	1554	1864	1612	1634	1847	1604	1578
Ruminiclostridium	1632	1485	1718	1605	1763	1551	1679	1705	1736	1592	1620	1562	1499	1611	1659	1584
Bacteroides	1556	1431	1631	1566	1687	1477	1572	1686	1618	1422	1484	1541	1452	1569	1671	1532
Veillonella	1543	1590	1365	1567	1392	1492	1393	1491	1469	1564	1450	1526	1490	1565	1357	1534
Rikenella	1294	1248	1325	1248	1120	1189	1280	1304	1299	1363	1117	1150	1244	1257	1213	1265
Butyricoccus	919	950	887	953	963	977	982	1015	906	964	820	1024	885	855	916	921
Ruminococcoides	876	869	838	777	784	838	758	879	899	863	831	870	776	795	845	779
Oscillospira	875	732	715	741	766	789	722	851	842	870	749	763	859	797	846	807
Flavonifractor	668	772	806	752	698	787	748	829	829	685	803	830	803	762	715	683
Erysipelatoclostridium	682	658	786	650	706	750	762	769	713	748	689	761	783	686	708	766
Lachnospiraceae i.s	583	652	638	643	660	589	654	610	585	613	680	573	671	587	634	586
Prevotella	663	628	627	617	609	656	657	593	604	631	619	597	625	640	630	562
Oscillibacter	428	435	389	450	378	400	438	394	416	446	411	398	385	449	386	435
Ruminococcus	306	412	319	320	419	407	393	299	441	450	358	390	429	379	472	291
Parabacteroides	299	310	327	343	285	342	286	321	294	302	281	344	319	304	315	307
Fusobacterium	291	281	320	304	339	299	338	317	310	323	298	307	333	326	280	313
Oscillospiraceae i.s	272	296	281	303	279	307	301	310	293	261	260	292	278	280	274	304
Streptococcus	291	276	281	283	274	285	262	268	288	243	286	300	254	269	278	288
Mahella	278	252	283	282	266	301	264	270	260	285	261	298	275	281	290	279
Moraxella	268	311	283	280	248	251	243	314	265	260	308	298	305	244	235	312
Lactobacillus	246	300	231	223	276	287	222	307	287	265	254	260	244	305	238	259
Hespellia	258	238	251	232	226	260	224	227	243	256	228	253	254	260	225	238
Blautia	235	241	258	220	230	229	259	248	231	224	250	262	255	239	238	253
Eubacteriaceae i.s	218	221	228	251	271	233	250	215	236	270	252	266	259	226	235	241
Anaerobutyricum	225	198	207	219	223	212	200	175	227	210	206	197	206	205	193	216
Gemmiger	205	185	236	202	193	220	180	181	208	216	217	191	228	238	223	196

Tablo 7. Deneme başlangıcı (DB) grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları (Devam).

Cins	DB1	DB2	DB3	DB4	DB5	DB6	DB7	DB8	DB9	DB10	DB11	DB12	DB13	DB14	DB15	DB16
Christensenella	214	192	199	188	179	218	216	205	192	204	186	180	194	171	178	182
Anaerosporebacter	171	184	158	163	185	175	189	154	143	188	167	179	174	176	181	179
Peptococcus	142	144	153	146	177	149	165	173	167	181	169	151	180	159	157	187
Gracilibacter	149	141	163	150	165	170	160	154	157	152	172	151	148	137	164	156
Halobacteroides	159	166	140	149	170	165	153	163	155	143	141	158	137	135	148	152
Barnesiella	130	127	147	145	137	155	150	153	123	146	140	138	141	119	133	128
Moryella	150	139	134	140	135	128	149	146	141	122	131	139	136	132	147	143
Acidaminococcaceae i.s gen	148	154	150	128	130	143	147	149	153	144	133	131	115	124	126	137
Caecibacterium	138	147	150	135	131	141	138	130	143	146	150	124	135	126	139	139
Anaerovorax	122	144	127	145	155	147	123	132	142	146	159	139	140	141	124	126
Anaeromicrobium	118	104	98	107	95	94	109	106	104	93	100	110	97	116	96	112
Holospora	106	100	119	91	125	107	98	87	84	118	111	99	93	106	113	102
Colinsella	94	89	93	85	91	99	71	80	97	84	96	73	88	83	73	87
Caecibacteroides	78	70	75	73	86	57	59	77	89	52	70	54	57	67	82	60
Peptostreptococcus	37	33	32	29	31	27	40	36	25	45	30	47	41	39	35	26
Hyphomicrobiaceae gen	37	44	37	32	25	42	30	36	43	31	29	40	23	38	26	40
Caldicoprobacter	31	38	32	41	25	27	30	36	35	31	29	38	23	32	26	23
Odoribacter	28	25	18	24	21	27	22	33	35	31	15	39	37	29	24	34
Enterococcus	24	22	29	38	27	26	18	36	31	25	20	37	34	17	30	28
Bifidobacterium	16	22	25	15	14	26	11	24	28	22	20	27	12	29	21	19
Erysipelotrichaceae i.s	11	8	7	6	9	16	5	10	14	10	13	11	12	15	7	11
Toplam okuma sayısı	35437	33919	34030	35353	34238	34050	35365	34765	34657	34608	34940	34327	34880	34233	34881	33517

Cins düzeyinde, *Enterobacteriaceae* gen (%14), *Porphyromonas* (%11), *Faecalibacterium* (%8,5) sekal içerikte en çok bulunan cinsler olarak tespit edildi, bunu *Clostridium* (%6,7), *Coprococcus* (%5,1), *Alistipes* (%4,9), *Ruminiclostridium* (%4,7), *Bacteroides* (%4,5), *Veillonella* (%4,3), *Rikenella* (%3,6), *Butyrivicoccus* (%2,7), *Ruminococcoides* (%2,4), *Oscillospira* (%2,3), *Flavonifractor* (%2,2), *Erysipelatoclostridium* (%2,1), *Lachnospiraceae* incertae sedis ve *Prevotella* (%1,8), *Oscillibacter* (%1,2), *Ruminococcus* (%1,1) izledi. Sekum içeriğinde %1 oranının altında bulunan 32 cins olduğu tespit edildi. Grubun her bir hayvanına ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları incelendiğinde 16 hayvanın cins oranlarının birbirine yakın olduğu görüldü (Şekil 2).



Şekil 2. Deneme başlangıcı (DB) grubundaki her bir hayvana ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

4.2.2. DS Grubu Sekum Mikrobiyomu

Firmicutes (%72,64) sekumdaki en baskın şube olarak belirlendi, bunu *Bacteroidetes* (%22,41), *Proteobacteria* (%4,04), *Actinobacteria* (%0,48), *Synergistetes* (%0,38), *Fusobacteria* (%0,05) izledi. *Tenericutes* şubesine ait bakteriye rastlanmadı.

DS grubunu oluşturan 16'şar tavuğa ait aile düzeyindeki veriler Tablo 8'de gösterilmiştir.

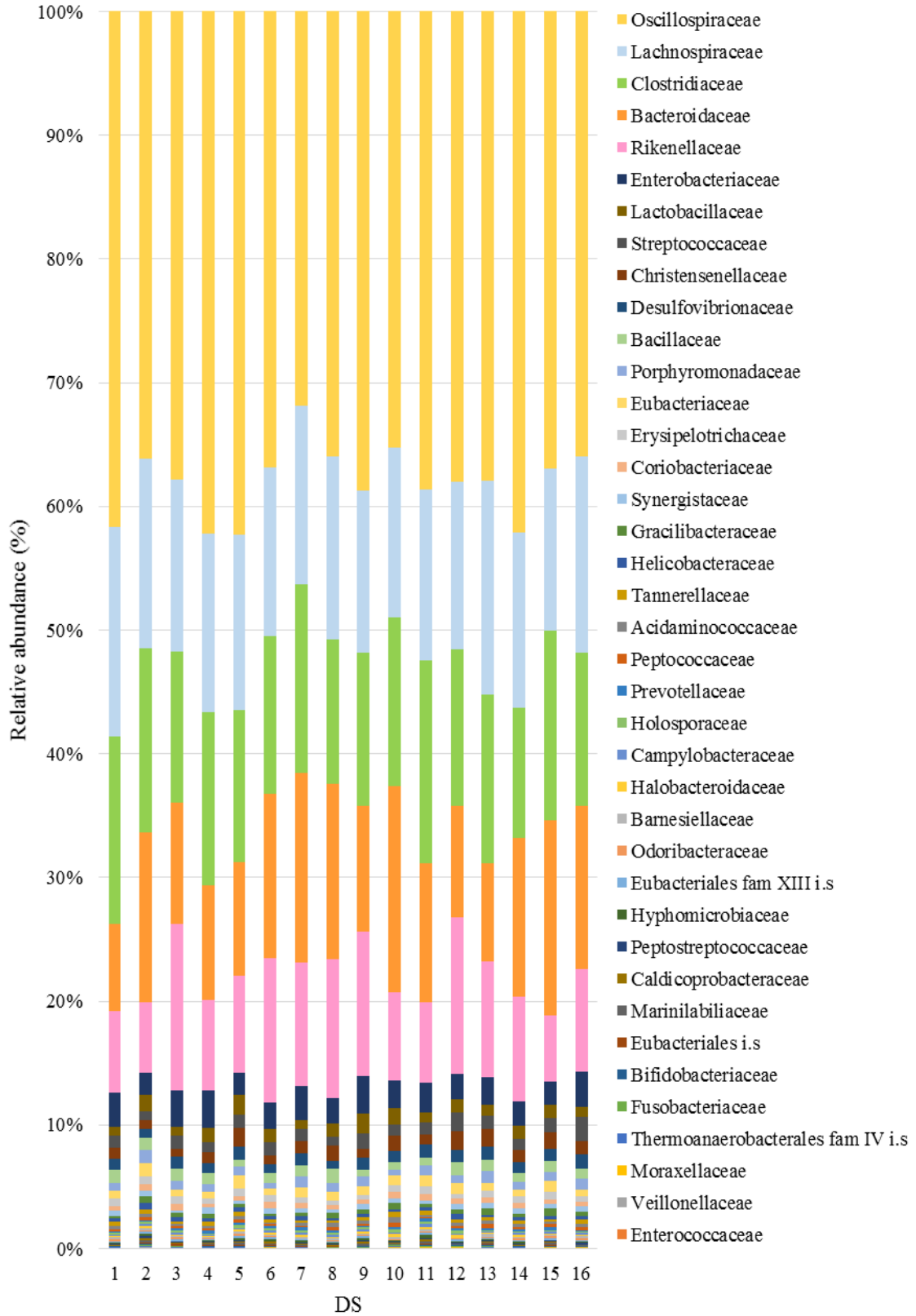
Tablo 8. Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.

Aile	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6	DS7	DS8	DS9	DS10	DS11	DS12	DS13	DS14	DS15	DS16
<i>Oscillospiraceae</i>	14414	11346	14139	14581	14123	14358	11262	12714	13890	11741	13216	13342	10978	15477	11857	13479
<i>Lachnospiraceae</i>	5861	4791	5223	4998	4712	5307	5100	5228	4714	4562	4752	4752	5016	5198	4217	5949
<i>Clostridiaceae</i>	5226	4668	4565	4849	4116	4941	5372	4139	4426	4539	5614	4469	3927	3881	4894	4668
<i>Bacteroidaceae</i>	2448	4308	3665	3182	3067	5173	5420	5022	3644	5569	3826	3140	2300	4696	5084	4923
<i>Rikenellaceae</i>	2273	1791	5039	2528	2612	4554	3545	3949	4193	2372	2246	4463	2720	3122	1713	3108
<i>Enterobacteriaceae</i>	981	562	1085	1048	609	832	957	749	1080	726	798	700	627	735	598	1082
<i>LactoBacillaceae</i>	228	413	279	412	528	396	261	380	593	446	271	399	281	385	339	302
<i>Streptococcaceae</i>	333	226	374	267	339	423	337	229	430	305	348	519	301	319	359	745
<i>Christensenellaceae</i>	308	229	249	318	529	299	359	447	263	407	291	523	406	377	449	382
<i>Desulfovibrionaceae</i>	333	226	374	267	339	255	337	229	340	305	348	359	301	312	304	426
<i>Bacillaceae</i>	356	315	349	319	194	306	314	394	198	209	223	362	259	259	281	312
<i>Porphyromonadaceae</i>	220	335	261	208	242	171	314	274	289	148	283	226	306	236	250	340
<i>Eubacteriaceae</i>	223	316	219	191	328	222	300	229	247	253	289	308	181	189	264	191
<i>Erysipelotrichaceae</i>	194	213	240	152	233	222	129	147	143	173	211	138	137	210	216	182
<i>Coriobacteriaceae</i>	124	173	187	93	96	201	168	112	125	195	174	152	146	170	113	116
<i>Synergistaceae</i>	152	137	79	182	91	156	123	109	151	123	105	148	123	149	113	173
<i>Gracilibacteraceae</i>	82	162	127	124	113	88	114	167	123	169	85	148	137	106	193	121
<i>Helicobacteraceae</i>	82	162	127	92	113	106	114	48	123	72	85	148	65	106	81	121
<i>Tannerellaceae</i>	136	118	55	143	100	82	74	62	89	142	130	99	64	77	70	131
<i>Acidaminococcaceae</i>	72	79	92	56	104	54	77	112	99	130	59	73	85	93	66	106
<i>Peptococcaceae</i>	70	79	71	56	95	54	51	112	40	130	47	73	102	93	84	106
<i>Prevotellaceae</i>	46	33	66	80	63	62	67	53	49	67	88	75	49	40	67	30
<i>Holosporaceae</i>	40	58	44	29	65	70	64	67	69	77	68	80	23	58	29	37
<i>Campylobacteraceae</i>	43	60	61	39	32	77	79	66	39	36	69	36	49	69	56	47
<i>HaloBacteroidaceae</i>	40	58	44	29	65	70	64	37	69	77	68	80	20	58	29	48
<i>Barnesiellaceae</i>	60	53	51	22	70	28	49	63	29	59	63	22	65	40	46	74
<i>Odoribacteraceae</i>	60	25	56	50	62	45	20	36	34	28	36	32	42	62	41	46
<i>Eubacteriales fam XIII i.s</i>	19	58	61	25	48	70	28	23	62	26	68	55	20	15	70	23
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	40	58	8	25	65	70	64	23	69	9	68	18	20	58	9	48
<i>PeptoStreptococcaceae</i>	24	49	19	49	32	18	25	40	43	41	28	31	38	52	26	58
<i>Caldicoprobacteraceae</i>	19	58	31	25	37	70	28	23	69	26	68	18	20	15	9	23

Tablo 8. Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları (Devam)

Aile	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6	DS7	DS8	DS9	DS10	DS11	DS12	DS13	DS14	DS15	DS16
<i>Marinilabiliaceae</i>	10	58	20	25	48	26	28	15	62	17	68	24	20	12	70	13
<i>Eubacteriales i.s fam</i>	13	39	40	38	42	26	21	9	9	25	31	8	19	6	25	17
<i>Bifidobacteriaceae</i>	15	23	28	17	13	27	0	15	15	0	24	21	38	32	23	12
<i>Fusobacteriaceae</i>	14	27	25	19	15	12	16	18	20	29	28	24	27	8	10	6
<i>Thermoanaerobacterales fam IV i.s</i>	7	18	19	15	15	10	19	6	5	20	16	20	14	13	7	21
<i>Moraxellaceae</i>	11	13	10	0	6	15	20	5	12	18	16	13	0	11	12	12
<i>Veillonellaceae</i>	9	11	17	12	12	9	0	11	0	11	7	20	9	12	6	17
<i>Enterococcaceae</i>	7	22	0	5	0	15	7	7	12	14	15	0	10	0	12	5
Toplam okuma sayısı	34593	31370	37399	34570	33373	38920	35327	35369	35867	33296	34230	35118	28945	36751	32092	37500

Aile düzeyinde incelendiğinde, sekum içeriklerine % 38,54 ile *Oscillospiraceae* hakimdi, bunu *Lachnospiraceae* (%14,68), *Clostridiaceae* (%13,57), *Rikenellaceae* (%9,17), *Bacteroidaceae* (%11,96), *Enterobacteriaceae* (%2,4), *Lactobacillaceae* (%1,08) ve *Christensenellaceae* (%1,06) izledi. Oranı %1'in altında olan 30 adet aile tespit edildi. Grubun her bir hayvanına ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları incelendiğinde 16 hayvanın oranlarının birbirine benzer olduğu görüldü (Şekil 3).



Şekil 3. Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

DS grubunu oluşturan 16'şar tavuğa ait cins düzeyindeki veriler Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları.

Cins	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6	DS7	DS8	DS9	DS10	DS11	DS12	DS13	DS14	DS15	DS16
Faecalibacterium	9083	6440	7831	8522	9171	7324	6279	6661	8277	6021	7253	8451	6133	10307	6008	7527
Bacteroides	2183	4122	3442	2983	2812	4930	5218	4846	3503	5321	3548	2901	2012	4497	4815	4643
Ruminiclostridium	3576	2539	3870	3483	2636	4180	2949	3969	3423	3791	3661	2753	2554	2568	3586	3662
Clostridium	3130	2536	2053	2782	2568	2745	3442	2111	2914	3305	3187	2765	2168	2078	3492	2548
Lachnoclostridium	3097	2665	2364	2669	2019	3040	2289	2856	2480	2143	2578	2239	2374	2630	2005	3215
Clostridiaceae i.s	2014	2106	2438	2000	1459	2134	1884	1998	1461	1180	2339	1634	1696	1778	1350	2081
Alistipes	943	298	2600	1242	1134	3100	1085	2429	2818	1237	971	1850	1350	1657	600	1567
Coprococcus	1512	1133	1471	1274	1467	1218	1413	1212	1080	1433	1027	1598	1541	1308	1120	1537
Rikenella	1157	236	2328	988	1344	1272	2340	1200	1231	975	1007	2310	1115	1344	1006	1256
Ruminococcus	533	833	923	988	810	1101	602	562	724	563	640	841	994	1164	865	913
Enterobacteriaceae gen	955	545	1085	1046	609	812	957	747	1080	691	798	680	627	712	598	1082
Butyrivibrio	522	284	554	423	578	449	665	473	500	310	511	269	497	641	376	564
Streptococcus	556	354	294	421	535	410	365	371	415	589	339	491	687	279	305	741
Moryella	352	466	241	447	298	308	391	538	399	282	210	331	418	463	286	538
Lactobacillus	226	413	276	412	508	396	259	380	582	446	262	397	281	384	339	295
Christensenella	308	228	249	312	529	297	357	447	257	407	282	523	393	377	445	375
Oscillibacter	231	477	296	376	412	382	258	506	401	374	491	218	264	433	254	291
Acetanaerobacterium	228	254	286	470	372	512	443	166	336	292	404	363	156	183	305	318
Flavonifractor	272	347	333	222	230	400	285	318	225	250	363	302	301	354	298	236
Bacillus	351	305	348	315	183	299	314	394	191	209	221	362	256	259	257	312
Bilophila	274	186	295	234	302	200	251	187	298	244	313	271	231	268	255	367
Porphyromonas	217	335	261	208	230	171	314	274	289	141	283	226	306	235	250	340
<i>Bacteroidaceae</i> i.s	250	159	197	180	232	198	175	151	134	226	273	225	272	185	252	267
Rikenellaceae i.s	168	257	111	298	134	172	120	312	144	157	266	301	247	121	107	285
Erysipelotrichaceae i.s	194	213	240	148	233	218	129	138	143	171	211	132	137	209	216	180
Eubacteriaceae i.s	95	163	149	116	174	133	185	153	103	142	127	188	101	125	140	130
Roseburia	98	199	175	139	83	136	186	193	133	93	99	190	70	107	148	95
Oscillospira	159	107	141	70	83	146	123	161	84	156	142	113	170	144	172	128

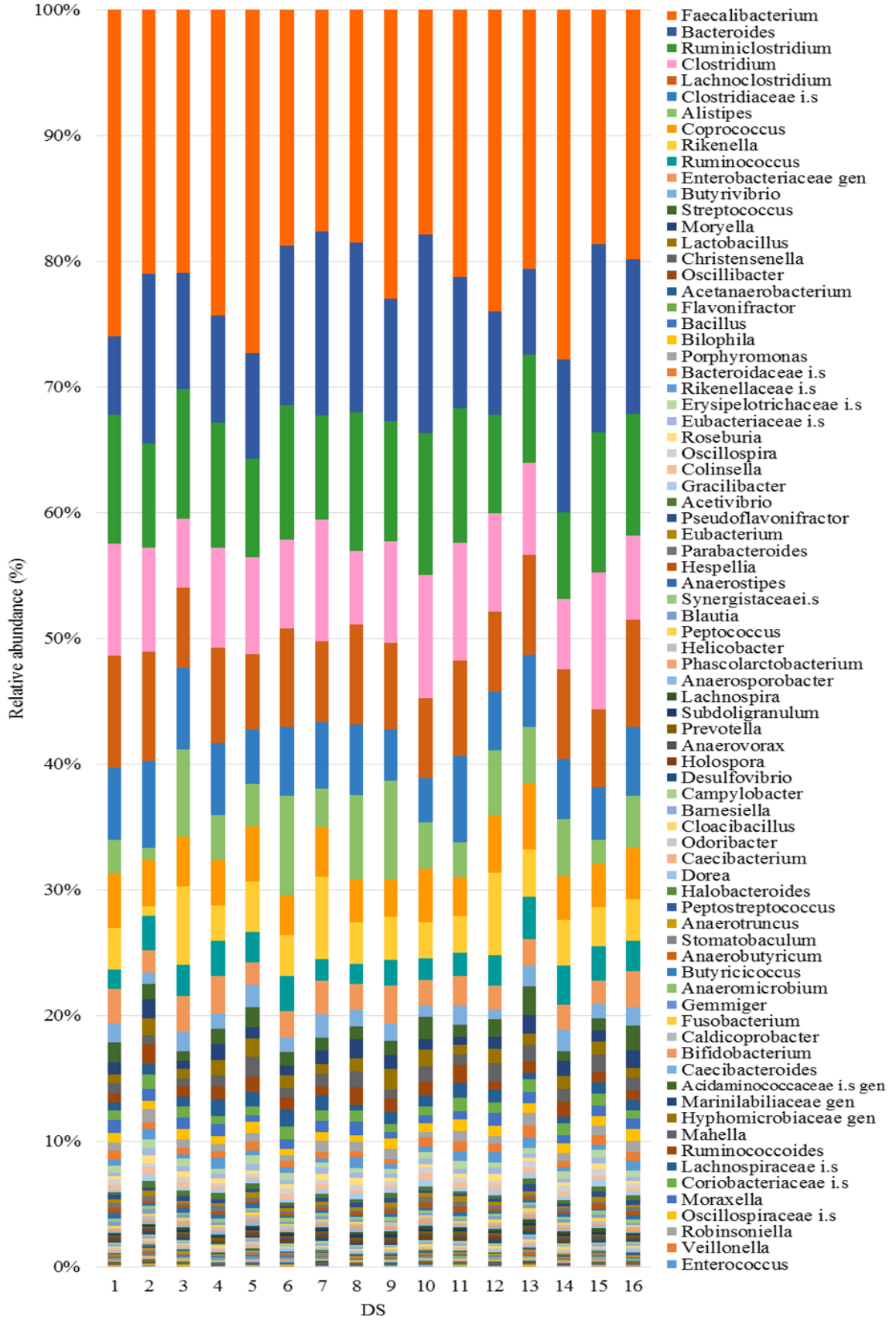
Tablo 9. Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları (Devam)

Cins	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6	DS7	DS8	DS9	DS10	DS11	DS12	DS13	DS14	DS15	DS16
Colinsella	118	160	168	87	62	194	146	100	98	186	145	140	113	160	90	97
Gracilibacter	77	156	84	124	113	80	114	163	123	165	85	148	128	100	187	121
Acetivibrio	73	159	166	163	136	104	120	78	147	124	66	107	146	96	123	144
Pseudoflavonifractor	115	83	157	119	100	87	103	149	129	62	70	80	152	96	143	147
Eubacterium	124	143	63	75	138	89	108	76	137	111	155	120	78	64	123	60
Parabacteroides	136	115	55	143	88	82	74	62	84	142	130	91	64	77	65	128
Hespellia	131	63	89	87	69	65	81	78	106	145	140	61	75	76	118	120
Anaerostipes	149	41	139	118	131	47	66	59	98	79	121	65	53	90	49	119
<i>Synergistaceae</i> i.s	96	95	55	118	64	123	87	72	106	63	76	71	60	85	93	112
Blautia	101	112	87	55	32	73	91	61	37	57	50	78	78	83	77	48
Peptococcus	68	58	67	69	94	62	42	74	35	45	40	95	98	84	80	65
Helicobacter	43	81	66	88	83	94	71	42	96	63	50	53	59	58	79	46
Phascolarctobacterium	46	60	79	30	88	44	51	100	92	109	39	58	63	85	41	87
Anaerosporebacter	51	44	73	86	109	54	70	87	49	57	40	78	50	37	80	43
Lachnospira	46	32	75	41	44	56	48	68	92	84	57	50	91	64	86	58
Subdoligranulum	30	43	64	54	75	68	49	85	86	63	66	58	47	81	59	32
Prevotella	39	33	65	80	56	62	64	53	43	67	83	75	45	40	61	30
Anaerovorax	69	48	55	38	45	35	71	34	57	50	75	51	76	66	68	58
Holospora	32	56	44	25	65	69	64	67	63	77	66	80	23	58	29	37
Desulfovibrio	59	40	79	27	31	55	81	42	42	57	35	87	69	44	48	52
Campylobacter	38	57	58	37	32	73	79	65	39	36	66	36	44	69	56	47
Barnesiella	60	53	44	20	70	28	49	63	26	59	56	22	65	33	46	74
Cloacibacillus	48	37	22	59	25	33	36	35	45	58	29	75	63	62	20	57
Odoribacter	58	25	48	50	56	45	19	23	30	28	35	32	42	62	41	46
Caecibacterium	46	56	59	40	43	27	26	20	33	51	39	23	57	52	24	28
Dorea	31	24	39	21	45	42	53	51	50	19	18	46	30	22	30	55
Halobacteroides	25	38	47	21	39	31	50	30	46	37	23	29	19	48	32	45
Peptostreptococcus	24	48	19	49	32	16	25	40	37	41	28	24	38	47	26	58

Tablo 9. Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları (Devam)

Cins	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6	DS7	DS8	DS9	DS10	DS11	DS12	DS13	DS14	DS15	DS16
Anaerotruncus	23	37	46	22	52	25	32	43	36	19	18	35	42	32	17	49
Stomatobaculum	23	52	40	15	58	36	54	30	25	27	26	22	34	16	26	12
Anaerobutyricum	30	46	26	12	20	48	29	15	11	35	28	14	52	49	42	23
Butyricococcus	24	19	45	46	40	44	25	22	31	34	38	26	18	13	9	14
Anaeromicrobium	39	7	21	16	34	18	20	8	12	15	45	44	30	10	43	22
Gemmiger	10	39	30	38	37	26	21	7	9	25	27	8	16	6	20	17
Fusobacterium	14	27	25	19	11	12	22	18	20	24	28	23	21	8	10	6
Caldicoprobacter	14	6	30	19	25	27	11	26	21	22	16	15	7	12	19	18
Bifidobacterium	15	18	28	13	13	23	0	15	12	0	23	21	36	32	23	12
Caecibacteroides	10	21	25	19	23	35	27	5	7	20	5	12	16	14	9	8
Acidaminococcaceae i.s gen	18	17	7	14	16	10	25	12	6	21	20	15	15	8	23	13
Marinilabiliaceae gen	9	8	19	13	22	16	18	6	17	5	11	20	12	7	14	11
Hyphomicrobiaceae gen	10	20	6	24	8	18	9	21	19	5	11	15	17	7	6	12
Mahella	7	17	19	15	12	10	15	6	5	17	16	13	14	13	5	21
Ruminococcoides	22	18	9	11	4	8	12	7	17	13	15	13	9	5	10	19
<i>Lachnospiraceae</i> i.s	9	19	12	10	5	6	17	13	12	18	9	8	7	11	13	7
Coriobacteriaceae i.s	5	13	17	6	8	7	11	12	16	9	10	12	19	10	6	15
Moraxella	11	13	9	0	6	15	19	5	12	18	14	13	0	7	11	12
<i>Oscillospiraceae</i> i.s	11	8	12	3	15	16	7	9	4	13	6	5	10	14	14	13
Robinsoniella	15	14	10	5	9	10	12	5	8	7	8	11	7	6	16	17
Veillonella	8	11	17	8	12	7	0	11	0	10	7	16	9	10	5	17
Enterococcus	5	22	0	3	0	13	7	7	10	14	14	0	9	0	9	5
Toplam okuma sayısı	34593	31370	37399	34570	33373	38920	35327	35369	35867	33296	34230	35118	28945	36751	32092	37500

Cins düzeyinde incelendiğinde *Faecalibacterium* (%21,94) sekal içerikte en çok bulunan cins olarak tespit edildi, bunu *Bacteroides* (%11,18), *Ruminiclostridium* (%9,62), *Clostridium* (%7,93), *Lachnoclostridium* (%7,36), *Clostridiaceae incertae sedis* (%5,35), *Alistipes* (%4,5), *Rikenella* (%4), *Coprococcus* (%3,86), *Ruminococcus* ve *Enterobacteriaceae* gen (%2,36), *Butyrivibrio* (%1,38), *Streptococcus* (1,29), *Lactobacillus* (%1,06), *Christensenella* (%1,05), *Oscillibacter* (%1,02) izledi. Sekum içeriğinde %1 oranının altında bulunan 61 cins olduğu tespit edildi. Grubun her bir hayvanına ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları incelendiğinde 16 hayvanın oranlarının birbirine yakın olduğu görüldü (Şekil 4).



Şekil 4. Deneme sonrası (DS) kontrol grubundaki her bir hayvana ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

4.2.3. NE Grubu Sekum Mikrobiyomu

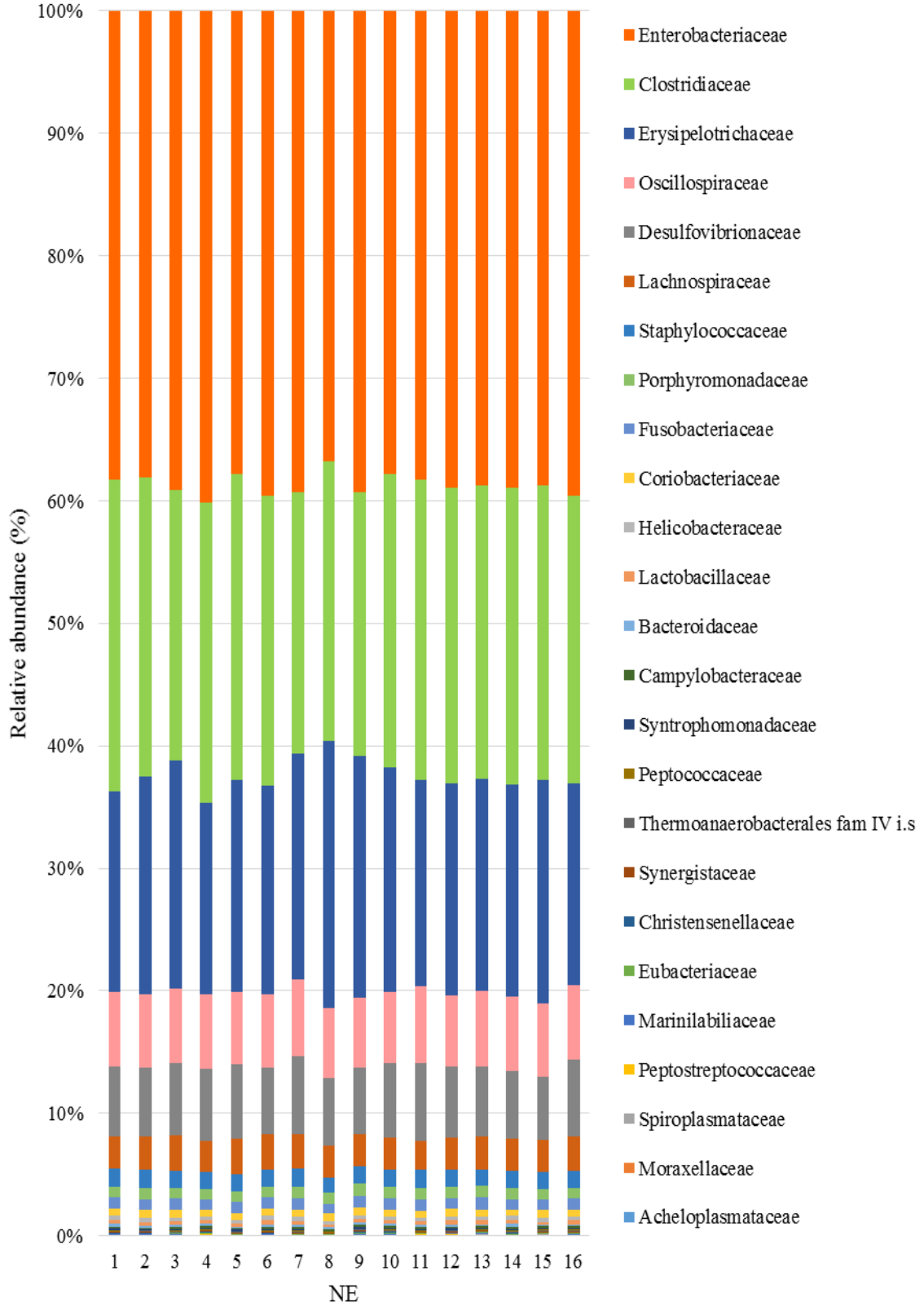
C. perfringens verilen NE grubunun sekal içeriğindeki en baskın şubeler *Firmicutes* (% 52,30) ve *Proteobacteria* (%44,98) olarak belirlendi. Bunu, *Bacteroidetes* (%1,13), *Fusobacteria* (%0,90), *Actinobacteria* (%0,60), *Synergistetes* (%0,06) ve *Tenericutes* (%0,03) takip etti.

NE grubunu oluşturan 16'şar tavuğa ait aile düzeyindeki veriler Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. *C. perfringens* verilen NE grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.

Aile	NE1	NE2	NE3	NE4	NE5	NE6	NE7	NE8	NE9	NE10	NE11	NE12	NE13	NE14	NE15	NE16
<i>Enterobacteriaceae</i>	5639	5589	5479	5872	5644	5721	5677	5711	5822	5633	5567	5746	5669	5747	5763	5789
<i>Clostridiaceae</i>	3741	3581	3092	3576	3731	3420	3093	3546	3181	3571	3564	3573	3496	3579	3579	3446
<i>Erysipelotrichaceae</i>	2402	2609	2604	2292	2589	2462	2661	3376	2927	2736	2456	2557	2530	2552	2729	2404
<i>Oscillospiraceae</i>	902	875	855	883	871	867	905	885	850	867	906	865	904	901	882	897
<i>Desulfovibrionaceae</i>	842	825	817	861	918	795	915	863	798	904	928	858	834	807	767	915
<i>Lachnospiraceae</i>	386	406	405	377	431	414	414	401	397	395	348	385	398	384	399	408
<i>Staphylococcaceae</i>	215	218	196	199	207	201	214	195	209	211	212	200	194	209	203	211
<i>Porphyromonadaceae</i>	131	130	121	124	134	126	128	139	143	138	131	147	133	139	127	126
<i>Fusobacteriaceae</i>	132	130	137	120	134	127	142	123	144	140	139	122	143	124	131	129
<i>Coriobacteriaceae</i>	86	92	87	91	83	93	84	89	95	84	87	93	88	78	89	92
<i>Helicobacteraceae</i>	54	50	40	38	35	45	48	47	41	44	42	37	43	46	56	39
<i>LactoBacillaceae</i>	46	45	40	44	42	53	41	39	43	36	42	54	46	50	35	49
<i>Bacteroidaceae</i>	31	25	30	30	21	33	27	26	26	25	26	28	27	31	15	21
<i>Campylobacteraceae</i>	23	18	20	17	16	22	28	19	35	34	22	25	21	27	23	26
<i>Syntrophomonadaceae</i>	17	13	17	14	19	11	16	13	16	13	12	18	15	13	17	11
<i>Peptococcaceae</i>	14	6	10	15	13	16	17	5	11	11	12	10	9	17	14	19
<i>Thermoanaerobacteriales fam IV. i.s</i>	7	13	11	8	14	9	12	6	16	11	9	5	7	13	15	8
<i>Synergistaceae</i>	11	6	0	11	8	13	8	9	11	8	7	12	7	9	8	13
<i>Christensenellaceae</i>	9	13	9	11	0	6	0	5	8	6	9	10	9	11	5	7
<i>Eubacteriaceae</i>	6	4	9	11	8	7	9	7	13	11	3	1	8	5	6	9
<i>Marinilabiliaceae</i>	7	6	9	4	6	4	7	8	11	14	8	9	10	0	5	9
<i>PeptoStreptococcaceae</i>	6	9	10	12	0	9	5	0	7	6	14	8	9	11	4	7
<i>Spiroplasmataceae</i>	0	5	0	0	7	3	1	0	5	0	0	8	4	2	13	0
<i>Moraxellaceae</i>	7	0	0	5	0	2	0	3	0	8	0	5	11	0	2	4
<i>Acheloplasmataceae</i>	2	1	0	5	1	0	0	3	2	0	5	0	1	2	1	0
Toplam okuma sayısı	14716	14669	13998	14620	14932	14459	14452	15518	14811	14906	14549	14776	14616	14757	14888	14639

Aile düzeyinde ise, *Enterobacteriaceae* (%38,70)'nın sekumdaki en baskın aile olduğu görüldü. Bunu *Clostridiaceae* (%23,70), *Erysipelotrichaceae* (%17,80), *Oscillospiraceae* (%6), *Desulfovibrionaceae* (%5,8), *Lachnospiraceae* (%2,70), *Staphylococcaceae* (%1,40) izledi. Oranı %1'in altında olan 19 adet aile tespit edildi. Grubun her bir hayvanına ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları incelendiğinde 16 hayvanın oranlarının birbirine benzer olduğu görüldü (Şekil 5).



Şekil 5. *C. perfringens* verilen NE grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

NE grubunu oluşturan 16'şar tavuğa ait cins düzeyindeki veriler Tablo 11.'de gösterilmiştir.

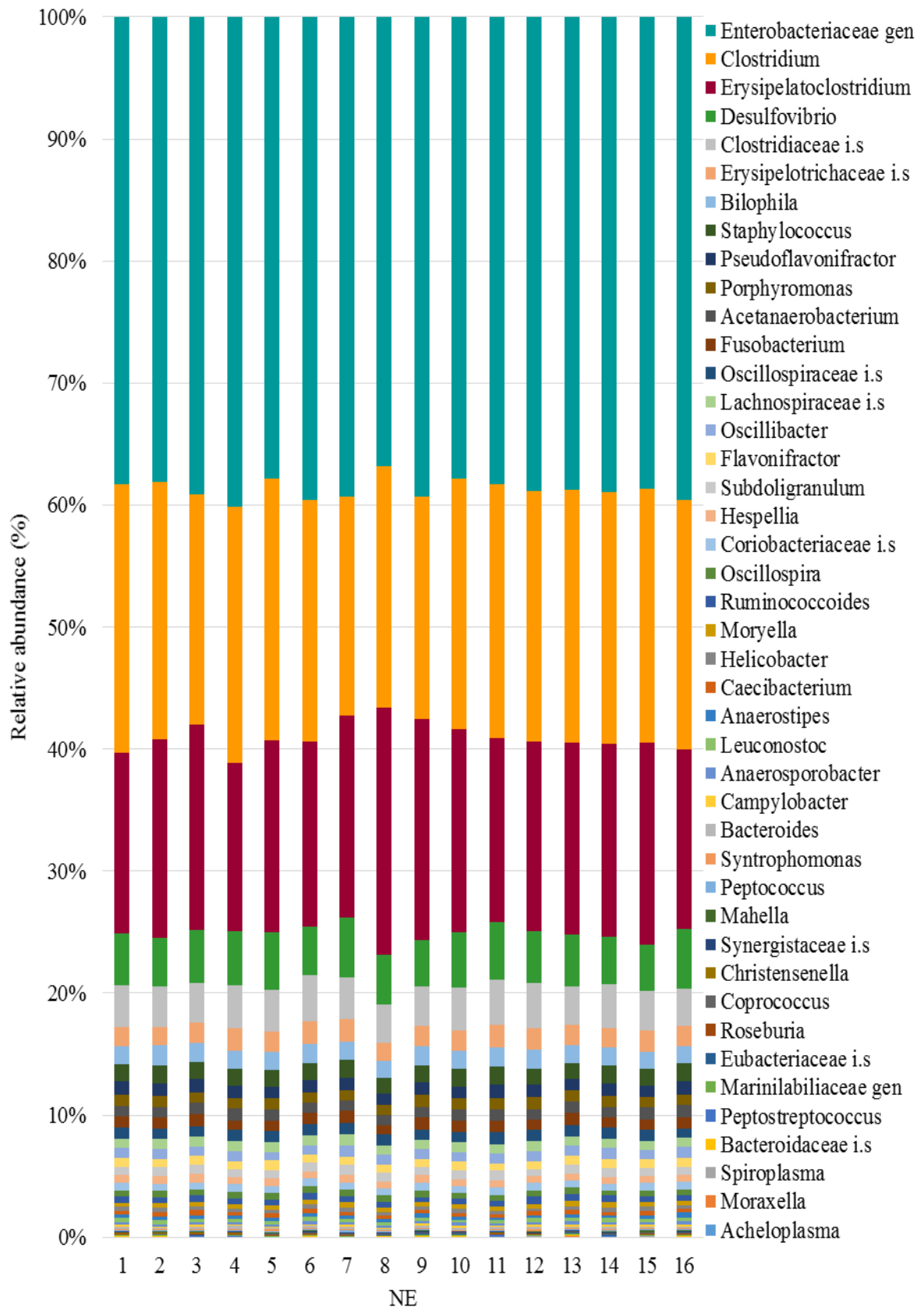
Tablo 11. *C. perfringens* verilen NE grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları.

Cins	NE1	NE2	NE3	NE4	NE5	NE6	NE7	NE8	NE9	NE10	NE11	NE12	NE13	NE14	NE15	NE16
Enterobacteriaceae gen	5639	5589	5479	5872	5644	5721	5677	5711	5822	5633	5567	5746	5669	5747	5763	5789
Clostridium	3238	3096	2638	3065	3212	2870	2601	3067	2698	3054	3037	3024	3029	3049	3097	2994
Erysipelatoclostridium	2176	2380	2361	2021	2344	2187	2387	3145	2680	2486	2184	2295	2294	2324	2462	2160
Desulfovibrio	628	587	599	650	701	569	711	638	563	681	695	629	616	581	562	708
Clostridiaceae i.s	503	485	454	511	519	550	492	479	483	517	527	549	467	530	482	452
Erysipelotrichaceae i.s	226	229	243	271	245	275	274	231	247	250	272	262	236	228	267	244
Bilophila	214	238	218	211	217	226	204	225	235	223	233	229	218	226	205	207
Staphylococcus	215	218	196	199	207	201	214	195	209	211	212	200	194	209	203	211
Pseudoflavonifractor	162	150	144	151	145	140	146	139	148	137	161	147	132	155	136	160
Porphyromonas	131	130	121	124	134	126	128	139	143	138	131	147	133	139	127	126
Acetanaerobacterium	122	129	135	143	133	121	124	119	128	140	139	126	140	122	146	150
Fusobacterium	132	130	137	120	134	127	142	123	144	140	139	122	143	124	131	129
Oscillospiraceae i.s	137	126	122	129	130	136	138	143	125	129	146	131	139	138	128	120
Lachnospiraceae i.s	119	117	115	119	130	117	129	116	115	122	111	129	113	110	112	108
Oscillibacter	123	131	101	121	99	113	127	119	124	104	117	119	112	126	117	129
Flavonifractor	101	93	99	102	117	96	103	113	99	109	85	92	118	115	101	104
Subdoligranulum	104	102	111	87	96	99	121	104	93	111	118	86	106	102	108	99
Hespellia	95	92	94	86	103	87	90	93	98	85	81	80	76	88	79	84
Coriobacteriaceae i.s	86	92	87	91	83	93	84	89	95	84	87	93	88	78	89	92
Oscillospira	74	78	65	81	74	80	78	75	73	66	78	81	72	62	67	72
Ruminococcoides	79	66	78	69	77	82	68	73	60	71	62	83	85	81	79	63
Moryella	47	56	53	59	54	58	66	62	60	62	52	56	69	70	56	61
Helicobacter	54	50	40	38	35	45	48	47	41	44	42	37	43	46	56	39
Caecibacterium	40	51	53	38	55	52	39	41	36	42	35	44	48	43	47	41
Anaerostipes	42	53	41	36	44	46	47	45	53	42	30	40	43	33	51	59
Leuconostoc	46	45	40	44	42	53	41	39	43	36	42	54	46	50	35	49

Tablo 11. *C. perfringens* verilen NE grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları (Devam)

Cins	NE1	NE2	NE3	NE4	NE5	NE6	NE7	NE8	NE9	NE10	NE11	NE12	NE13	NE14	NE15	NE16
Anaerospobacter	29	27	32	31	28	34	22	26	25	33	24	27	37	27	33	35
Campylobacter	23	18	20	17	16	22	28	19	35	34	22	25	21	27	23	26
Bacteroides	28	19	27	30	19	24	27	19	22	19	21	28	16	25	15	13
Syntrophomonas	17	13	17	14	19	11	16	13	16	13	12	18	15	13	17	11
Peptococcus	14	6	10	15	13	16	17	5	11		12	10	9	17	14	19
Mahella	7	13	11	8	14	9	12	6	16	11	9	5	7	13	15	8
<i>Synergistaceae</i> i.s	11	6	0	11	8	13	8	9	11	8	7	12	7	9	8	13
Christensenella	9	13	9	11	0	6	0	5	8	6	9	10	9	11	5	7
Coprococcus	5	8	10	3	9	8	11	9	4	6	12	1	8	2	12	9
Roseburia	9	2	7	5	8	12	10	9	6	3	3	8	4	11	9	11
Eubacteriaceae i.s	6	4	9	11	8	7	9	7	13	11	3	1	8	5	6	9
Marinilabiliaceae gen	7	6	9	4	6	4	7	8	11	14	8	9	10	0	5	9
Peptostreptococcus	6	9	10	12	0	9	5	0	7	6	14	8	9	11	4	7
<i>Bacteroidaceae</i> i.s	3	6	3	0	2	9	0	7	4	6	5	0	11	6	0	8
Spiroplasma	0	5	0	0	7	3	1	0	5	0	0	8	4	2	13	0
Moraxella	7	0	0	5	0	2	0	3	0	8	0	5	11	0	2	4
Acheloplasma	2	1	0	5	1	0	0	3	2	0	5	0	1	2	1	0
Toplam okuma sayısı	14716	14669	13998	14620	14932	14459	14452	15518	14811	14906	14549	14776	14616	14757	14888	14639

Cins düzeyinde incelenen sekum içeriğinde en baskın 3 cins Enterobacteriaceae gen (%38,7), Clostridium (%20,3), Erysipelatoclostridium (%16,1) olarak belirlendi. Desulfovibrio (%4,3), Clostridiaceae incertae sedis (%3,4), Erysipelotrichaceae incertae sedis (%1,7), Bilophila (%1,5), Staphylococcus (%1,4), Pseudoflavonifractor (%1) sekal içerikte %1 ve üzerinde oranlarda bulunan diğer cinslerdir. İncelenen sekum içeriğinde %1 oranının altında bulunan 34 cins olduğu tespit edildi. Grubun her bir hayvanına ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları incelendiğinde 16 hayvanın oranlarının birbirine benzer olduğu görüldü (Şekil 6).



Şekil 6. *C. perfringens* verilen NE grubundaki her bir hayvana ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

4.2.4. BV Grubu Sekum Mikrobiyomu

Firmicutes (%71,48) sekumdaki en baskın şube olarak tespit edildi, bunu *Bacteroidetes* (%20,37), *Proteobacteria* (%5,07), *Synergistetes* (%1,53), *Actinobacteria* (%1,48), *Fusobacteria* (%0,08) izledi. *Tenericutes* şubesine ait bakteriye rastlanmadı.

BV grubunu oluşturan 16'şar tavuğa ait aile düzeyindeki veriler Tablo 12'de gösterilmiştir.

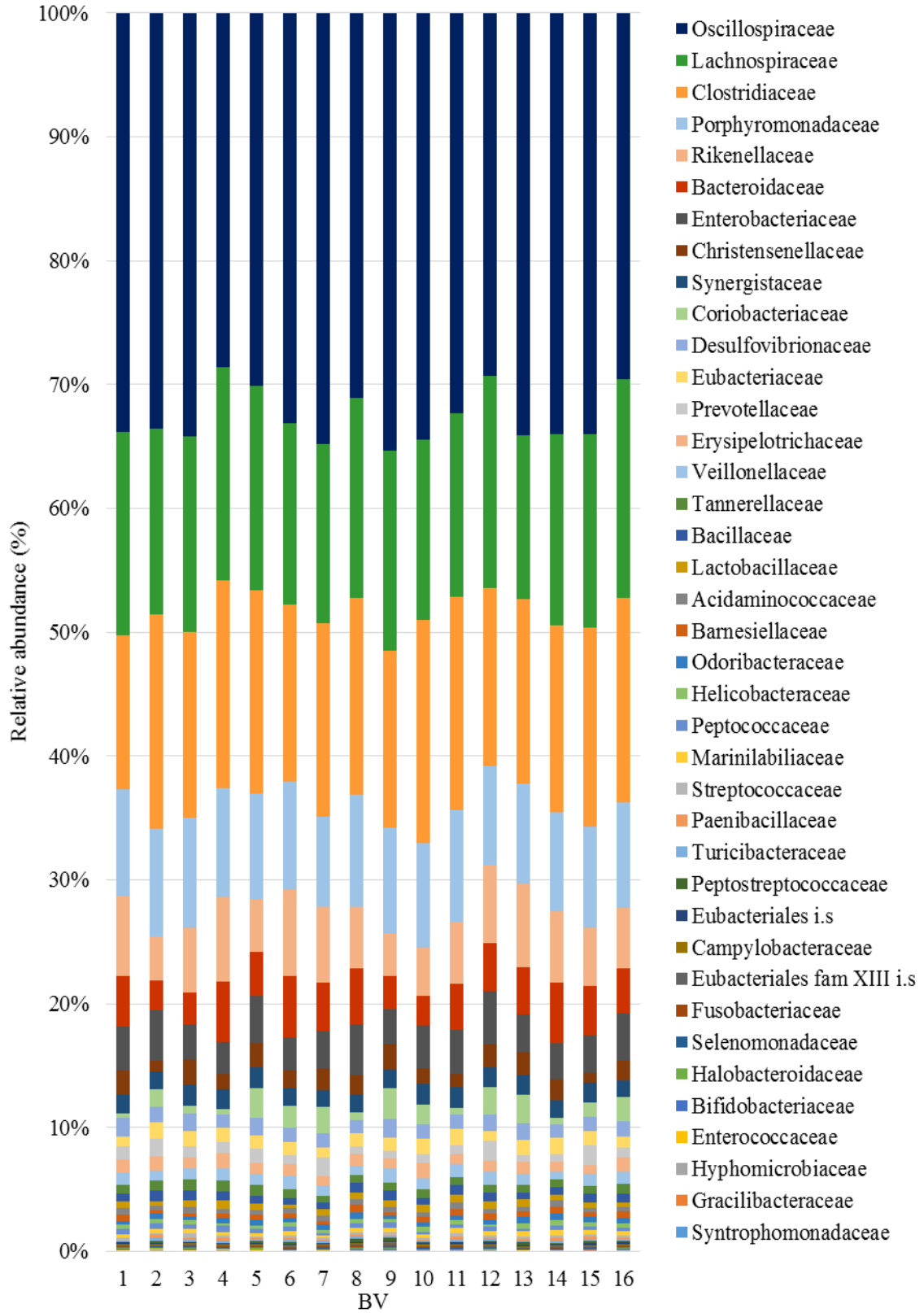
Tablo 12. *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen BV grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.

Aile	BV1	BV2	BV3	BV4	BV5	BV6	BV7	BV8	BV9	BV10	BV11	BV12	BV13	BV14	BV15	BV16
<i>Oscillospiraceae</i>	15696	14938	14301	12216	13713	15705	17262	13048	15903	16182	14326	13548	15977	16401	16233	13606
<i>Lachnospiraceae</i>	7619	6685	6584	7359	7494	6916	7178	6772	7301	6851	6570	7899	6157	7425	7432	8136
<i>Clostridiaceae</i>	5795	7680	6288	7178	7459	6797	7739	6677	6428	8427	7593	6638	6976	7291	7663	7589
<i>Porphyromonadaceae</i>	3975	3876	3685	3748	3896	4100	3624	3789	3846	3952	4016	3701	3777	3857	3896	3952
<i>Rikenellaceae</i>	3000	1599	2193	2904	1928	3320	3026	2074	1554	1833	2200	2912	3187	2780	2243	2243
<i>Bacteroidaceae</i>	1908	1055	1072	2079	1627	2358	1945	1917	1204	1161	1675	1782	1769	2347	1893	1669
<i>Enterobacteriaceae</i>	1639	1802	1195	1109	1735	1257	1493	1700	1260	1600	1560	1971	1418	1409	1455	1756
<i>Christensenellaceae</i>	935	429	836	531	900	691	863	667	918	572	475	859	879	802	378	736
<i>Synergistaceae</i>	685	623	707	677	768	648	674	599	696	799	731	738	742	690	779	601
<i>Coriobacteriaceae</i>	175	611	255	191	1078	869	1046	265	1125	754	247	1040	1083	251	538	931
<i>Desulfovibrionaceae</i>	691	548	619	462	662	541	593	442	687	558	513	591	598	550	537	568
<i>Eubacteriaceae</i>	384	623	517	485	462	506	396	437	448	594	587	386	583	637	565	384
<i>Prevotellaceae</i>	486	628	378	377	544	338	755	290	298	329	291	748	277	278	746	378
<i>Erysipelotrichaceae</i>	478	500	372	528	394	475	372	404	368	566	382	387	463	395	353	533
<i>Veillonellaceae</i>	444	357	350	426	410	476	398	279	497	406	446	492	401	299	457	435
<i>Tannerellaceae</i>	359	352	378	377	401	338	285	290	298	329	291	302	277	278	312	378
<i>Bacillaceae</i>	274	384	345	289	276	246	268	312	344	288	363	342	248	301	323	311
<i>LactoBacillaceae</i>	244	166	217	318	238	153	270	225	231	267	282	268	281	252	204	168
<i>Acidaminococcaceae</i>	252	182	201	170	178	178	183	185	207	182	227	181	204	249	160	195
<i>Barnesiellaceae</i>	249	120	108	119	178	201	161	257	137	196	233	224	194	265	188	240
<i>Odoribacteraceae</i>	117	175	128	187	197	164	188	223	98	185	151	157	241	242	221	178
<i>Helicobacteraceae</i>	161	169	142	108	126	177	135	149	147	191	138	101	200	196	171	193
<i>Peptococcaceae</i>	227	184	165	198	186	144	103	168	173	101	141	166	107	198	110	101
<i>Marinilabiliaceae</i>	111	154	152	129	102	194	105	150	184	108	179	161	178	197	181	152
<i>Streptococcaceae</i>	115	71	138	72	66	87	84	79	98	63	114	77	98	101	76	103
<i>PaeniBacillaceae</i>	14	119	78	119	56	77	43	67	40	54	132	39	69	108	110	81
<i>Turicibacteraceae</i>	41	98	58	59	67	53	67	87	62	47	82	64	68	101	78	54

Tablo 12. *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen BV grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları (Devam)

Aile	BV1	BV2	BV3	BV4	BV5	BV6	BV7	BV8	BV9	BV10	BV11	BV12	BV13	BV14	BV15	BV16
<i>PeptoStreptococcaceae</i>	14	71	19	17	66	87	19	79	98	63	19	77	98	29	76	19
<i>Eubacteriales i.s fam</i>	57	52	39	53	42	51	44	61	40	41	56	44	38	42	59	75
<i>Campylobacteraceae</i>	55	36	38	30	35	61	57	44	60	48	59	56	52	51	43	47
<i>Eubacteriales fam XIII i.s</i>	23	28	41	36	49	49	40	39	61	35	34	68	31	30	49	32
<i>Fusobacteriaceae</i>	37	24	38	34	25	26	32	47	50	16	48	23	29	54	22	51
<i>Selenomonadaceae</i>	29	33	37	18	25	19	26	24	31	35	26	29	15	28	19	22
<i>HaloBacteroidaceae</i>	23	41	29	16	59	12	35	19	32	27	8	29	10	33	21	21
<i>Bifidobacteriaceae</i>	39	12	18	9	17	0	34	35	45	23	19	19	24	0	32	33
<i>Enterococcaceae</i>	31	25	33	47	8	25	22	18	32	19	18	9	19	0	9	25
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	8	29	13	6	9	11	15	18	15	20	14	17	15	21	8	19
<i>Gracilibacteraceae</i>	13	16	7	20	15	15	10	8	13	9	14	14	5	5	10	13
<i>Syntrophomonadaceae</i>	12	5	7	8	9	12	0	12	7	14	13	15	0	12	29	6
Toplam okuma sayısı	46415	44500	41781	42709	45500	47377	49590	41956	45036	46945	44273	46174	46788	48205	47679	46034

Aile düzeyinde incelendiğinde, sekum içeriklerine % 33,21 ile *Oscillospiraceae* hakimdi, bunu *Lachnospiraceae* (%15,82), *Clostridiaceae* (%15,80), *Porphyromonadaceae* (%8,53), *Rikenellaceae* (%5,39), *Bacteroidaceae* (%3,8), *Enterobacteriaceae* (%3,37), *Synergistaceae* (%1,54), *Prevotellaceae* (%1,45), *Desulfovibrionaceae* (%1,27), *Christensenellaceae* (%1,14), *Eubacteriaceae* (%1,11), izledi. Oranı %1'in altında olan 26 adet aile tespit edildi. Grubun her bir hayvanına ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları incelendiğinde 16 hayvanın oranlarının birbirine yakın olduğu görüldü (Şekil 7).



Şekil 7. *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen BV grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

BV grubunu oluşturan 16'şar tavuğa ait cins düzeyindeki veriler Tablo 13'de gösterilmiştir.

Tablo 13. *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen BV grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları.

Cins	BV1	BV2	BV3	BV4	BV5	BV6	BV7	BV8	BV9	BV10	BV11	BV12	BV13	BV14	BV15	BV16
Faecalibacterium	9569	7948	8454	6632	8154	9802	10848	7695	10293	10328	9744	7729	10311	10556	9922	7999
Porphyromonas	3975	3849	3685	3732	3896	4100	3624	3774	3826	3952	4016	3658	3777	3857	3896	3952
Clostridium	2968	4748	3298	3468	3936	3737	3976	3321	3320	4879	3963	3072	3433	4104	4052	4397
Clostridiaceae i.s	2717	2805	2878	3608	3396	2954	3643	3260	2998	3458	3517	3452	3418	3101	3533	3086
Lachnoclostridium	2508	2083	1774	2028	2388	2216	2005	2384	1991	2158	2008	2652	1922	2837	2301	2953
Coprococcus	2427	1859	1945	2353	2008	1518	2136	1637	2076	1793	1664	2110	1530	1702	2033	2201
Enterobacteriaceae gen	1639	1796	1195	1109	1717	1257	1493	1700	1245	1600	1560	1971	1403	1409	1438	1756
Alistipes	1623	998	1434	1583	1205	2076	1730	1359	1012	1208	1511	1877	2019	1653	1194	1267
Acetanaerobacterium	1702	1987	981	1250	1400	1739	1770	950	929	1659	1548	1685	987	1592	1648	1632
Bacteroides	1655	875	820	1814	1349	1998	1591	1625	937	821	1276	1493	1477	1935	1665	989
Acetivibrio	909	1552	1654	999	1102	1265	1423	1354	1255	948	954	1056	1523	954	1564	947
Roseburia	1067	774	758	970	921	806	1059	950	1074	979	755	1056	704	1062	930	1127
Flavonifractor	992	941	758	896	858	956	942	615	805	1000	906	845	675	782	693	979
Rikenella	1247	502	661	1161	636	1146	1193	606	453	555	540	924	1034	960	924	864
Blautia	569	817	754	644	891	861	510	585	898	795	790	699	735	774	723	635
Butyrivibrio	540	547	793	758	681	817	787	524	690	617	802	751	624	550	679	560
Prevotella	464	602	639	674	527	568	736	694	525	567	784	720	609	798	729	732
Ruminococcus	709	717	648	614	526	548	515	627	833	549	518	616	678	694	622	610
Ruminiclostridium	612	784	501	700	572	475	639	725	697	632	525	612	598	587	597	480
Synergistaceae i.s	543	473	614	533	616	540	502	490	529	606	559	558	619	508	596	466
Oscillibacter	490	525	572	594	559	477	579	478	457	403	608	450	601	470	474	471
Christensenella	358	403	501	516	445	684	378	628	551	560	466	630	499	532	357	620
Erysipelotrichaceae i.s	472	479	348	501	381	442	351	397	353	534	352	365	443	378	340	504
Veillonella	401	357	350	400	410	463	398	279	497	392	446	492	395	299	457	428
Bilophila	504	347	484	310	452	399	457	316	516	373	338	342	448	327	409	364
Parabacteroides	336	352	351	377	381	338	269	290	298	315	291	302	259	278	312	371
Eubacterium	216	482	319	310	315	345	233	225	213	456	362	261	324	421	351	223
Oscillospira	394	215	388	277	284	208	272	341	387	331	226	245	314	427	378	241
Bacillus	257	384	345	289	276	246	237	312	326	288	363	342	248	288	323	300
Lactobacillus	226	166	217	301	238	153	270	194	231	267	282	256	281	252	194	168
Phascolarctobacterium	225	159	232	181	152	210	242	200	229	196	221	176	209	257	124	235
Colinsella	148	140	234	189	238	232	156	242	241	118	227	201	138	223	257	136

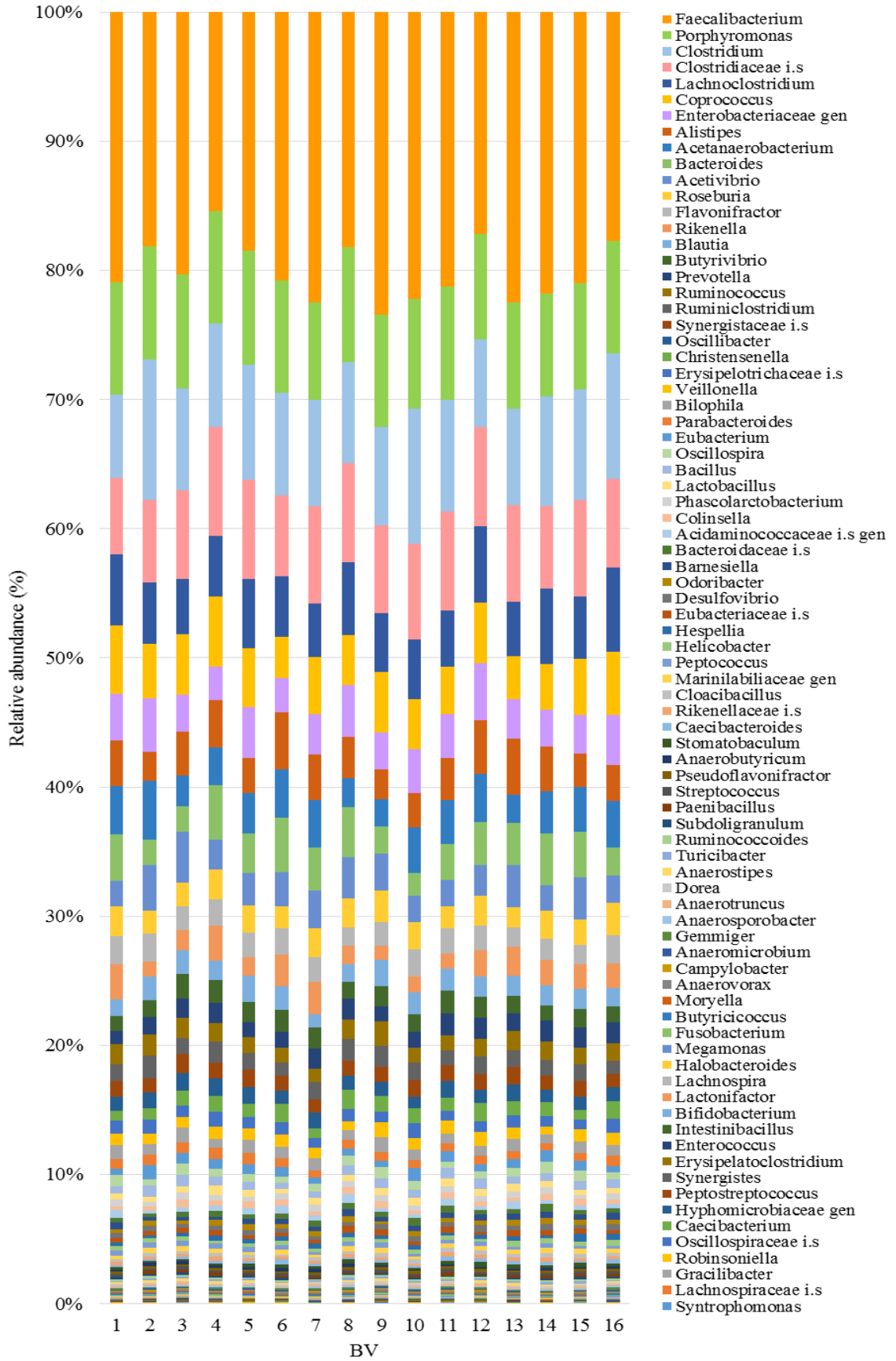
Tablo 13. *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen BV grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları (Devam)

Cins	BV1	BV2	BV3	BV4	BV5	BV6	BV7	BV8	BV9	BV10	BV11	BV12	BV13	BV14	BV15	BV16
Acidaminococcaceae i.s gen	267	103	149	179	197	288	181	281	108	146	260	115	275	151	176	180
Bacteroidaceae i.s	175	109	168	182	172	187	252	210	189	276	228	150	167	274	155	130
Barnesiella	233	120	108	109	178	201	161	230	137	196	211	224	194	246	188	240
Odoribacter	117	175	112	187	197	164	188	192	98	185	151	139	241	242	202	178
Desulfovibrio	187	195	135	152	190	142	127	126	161	185	162	249	140	223	121	193
Eubacteriaceae i.s	151	124	164	169	128	141	137	206	216	114	193	103	219	197	182	148
Hespellia	133	106	118	189	124	149	188	163	107	154	114	131	171	81	287	217
Helicobacter	161	155	142	92	126	177	127	149	147	179	138	94	200	196	156	193
Peptococcus	200	184	165	180	186	144	103	143	173	98	126	166	107	182	110	101
Marinilabiliaceae gen	103	154	152	122	102	194	93	150	184	92	179	161	166	197	181	138
Cloacibacillus	110	126	88	125	120	87	130	92	149	173	156	145	115	165	159	124
Rikenellaceae i.s	102	97	98	156	80	98	103	108	89	68	148	111	127	167	115	112
Caecibacteroides	74	70	80	81	96	173	99	82	78	64	160	139	114	138	64	146
Stomatobaculum	93	56	64	68	105	142	88	130	97	54	118	162	145	76	150	100
Anaerobutyricum	49	110	115	90	83	135	148	116	56	52	71	66	81	102	75	91
Pseudoflavonifractor	104	78	64	75	77	61	90	80	97	119	88	112	68	117	107	87
Streptococcus	98	71	102	72	66	87	84	79	72	63	114	77	98	82	76	103
Paenibacillus	12	119	78	111	56	77	43	54	40	54	121	39	69	99	110	76
Subdoligranulum	71	65	98	53	72	68	40	56	52	79	50	64	74	77	96	73
Ruminococcoides	61	80	54	71	50	65	49	76	53	63	77	51	70	74	69	45
Turicibacter	41	76	58	59	67	53	51	87	62	47	63	64	68	80	78	54
Anaerostipes	52	74	82	67	72	43	42	68	89	54	39	88	86	69	50	33
Dorea	59	46	37	40	78	64	55	72	87	41	68	44	46	53	58	80
Anaerotruncus	67	33	71	35	30	29	80	40	27	64	56	69	65	62	56	32
Anaerosporeobacter	34	61	47	50	45	56	61	55	39	67	33	48	36	45	54	69
Gemmiger	57	52	33	53	42	51	44	54	40	41	56	37	38	42	53	75
Anaeromicrobium	32	59	41	54	42	60	47	43	46	50	62	53	55	41	31	52
Campylobacter	46	36	32	30	35	50	57	39	53	48	59	56	45	51	43	40
Anaerovorax	21	28	41	36	42	49	40	39	45	35	34	52	31	30	37	32
Moryella	41	39	22	43	51	49	46	37	27	29	48	26	35	17	34	16
Butyricicoccus	43	31	34	30	45	23	46	40	29	21	27	39	24	28	33	35

Tablo 13. *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen BV grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları (Devam)

Cins	BV1	BV2	BV3	BV4	BV5	BV6	BV7	BV8	BV9	BV10	BV11	BV12	BV13	BV14	BV15	BV16
Fusobacterium	37	24	38	34	20	26	30	47	50	16	42	23	29	39	22	51
Megamonas	23	33	32	18	25	19	16	24	31	27	26	21	15	17	19	22
Halobacteroides	23	26	29	16	38	12	35	11	32	20	8	24	10	33	21	14
Lachnospira	20	29	32	26	13	15	18	24	35	22	26	21	17	16	15	23
Lactonifactor	34	27	17	18	30	23	26	13	21	19	14	12	35	17	14	16
Bifidobacterium	32	12	18	9	15	0	34	23	45	23	17	19	16	0	32	33
Intestinibacillus	17	13	34	5	19	12	26	6	11	24	25	22	29	16	32	13
Enterococcus	23	25	33	34	8	25	17	18	32	12	18	9	15	0	9	16
Erysipelatoclostridium	6	21	24	19	13	26	15	7	11	32	28	22	16	17	8	23
Synergistes	22	23	5	19	24	21	12	17	18	10	16	19	8	17	14	11
Peptostreptococcus	12	15	17	13	21	12	10	21	19	18	13	14	17	20	19	10
Hyphomicrobiaceae gen	8	17	13	6	5	11	15	18	10	20	14	12	15	21	4	19
Caecibacterium	8	10	11	16	13	20	7	5	15	10	9	17	14	12	19	6
Oscillospiraceae i.s	6	5	16	20	19	12	4	11	18	7	12	14	8	9	5	10
Robinsoniella	10	8	12	14	13	5	4	6	9	20	16	11	7	13	11	17
Gracilibacter	13	9	7	20	15	12	10	8	7	9	14	10	5	5	10	10
Lachnospiraceae i.s	9	17	18	3	7	10	11	13	9	6	8	15	4	12	10	8
Syntrophomonas	10	5	7	8	4	12	0	9	7	14	13	11	0	12	21	6
Toplam okuma sayısı	46415	44500	41781	42709	45500	47377	49590	41956	45036	46945	44273	46174	46788	48205	47679	46034

Cins düzeyinde, *Faecalibacterium* (%20,25)'un sekal içerikte en baskın olan cins olduğu görüldü, bunu *Porphyromonas* (%8,54), *Clostridium* (%8,41), *Clostridiaceae incertae sedis* (%7,19), *Lachnoclostridium* (%5,02), *Coprococcus* (%4,3), *Alistipes* (%3,29), *Acetanaerobacterium* (%3,25), *Bacteroides* (%3,1), *Acetivibrio* (%2,70), *Roseburia* (%2,08), *Flavonifractor* (%1,89), *Rikenella* (%1,86), *Blautia* (%1,62), *Prevotella* (%1,44), *Ruminococcus* (%1,39), *Ruminiclostridium* (%1,35), *Synergistaceae incertae sedis* (%1,21), *Enterobacteriaceae gen* (%3,37), *Butyrivibrio* (%1,49), *Christensenella* (%1,13), *Oscillibacter* (%1,14) izledi. Oranı %1'in altında olan 59 adet cins tespit edildi Grubun her bir hayvanına ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları incelendiğinde 16 hayvanın oranlarının birbirine benzer olduğu görüldü (Şekil 8).



Şekil 8. *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen BV grubundaki her bir hayvana ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

4.2.5. AB Grubu Sekum Mikrobiyomu

C. perfringens+ Amoksisilin verilen AB grubunda *Firmicutes* (%49,95) sekumdaki en baskın şube olarak belirlendi, bunu *Bacteroidetes* (%43,27), *Proteobacteria* (%5,90), *Actinobacteria* (%0,52), *Synergistetes* (%0,19), *Tenericutes* (%0,16), *Fusobacteria* (%0,03) izledi.

AB grubunu oluşturan 16'şar tavuğa ait aile düzeyindeki veriler Tablo 14'te gösterilmiştir.

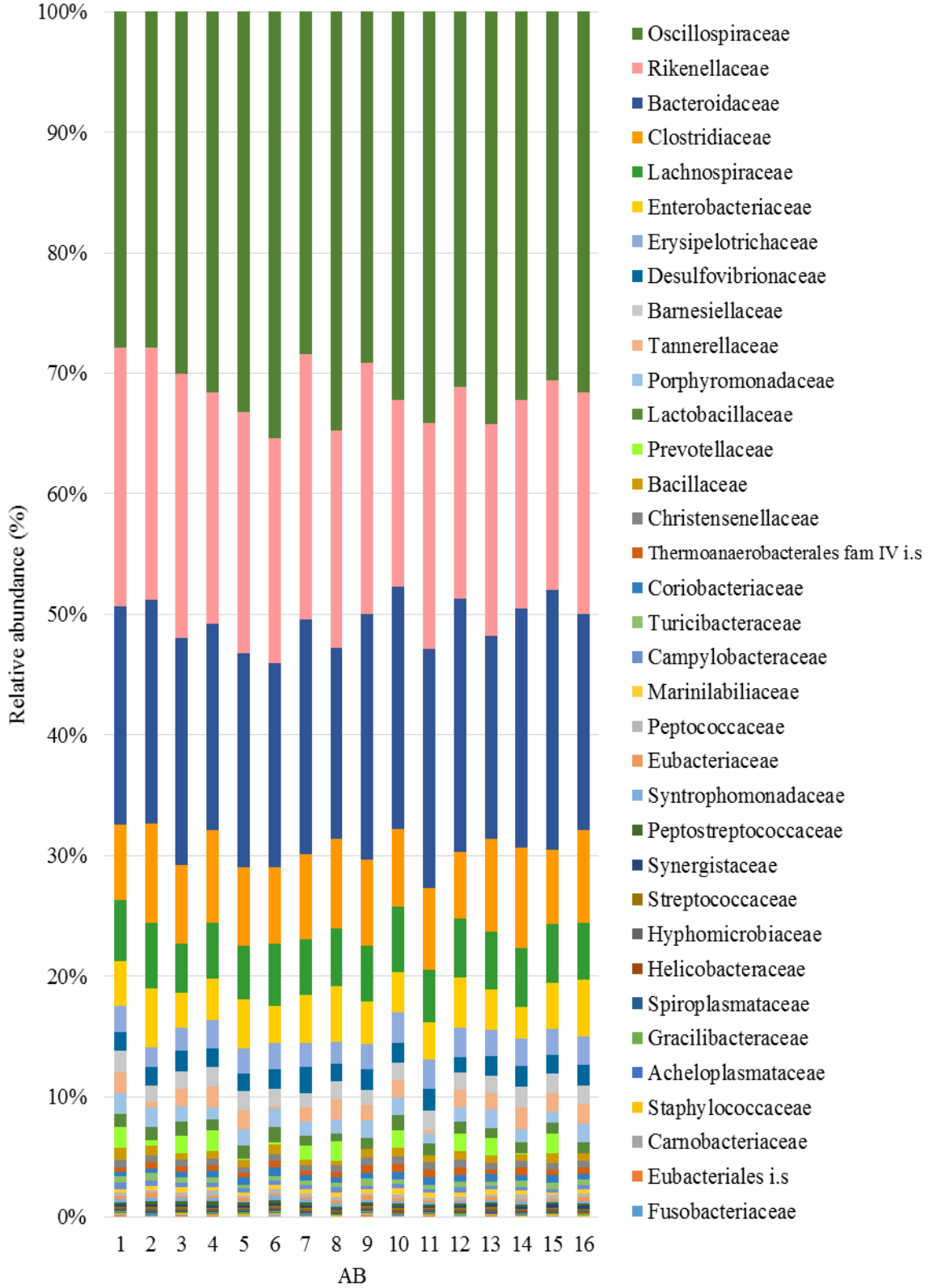
Tablo 14. *C. perfringens*+ Amoksisilin verilen AB grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları.

Aile	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12	AB13	AB14	AB15	AB16
<i>Oscillospiraceae</i>	10992	10436	13358	12936	14366	13869	12178	14997	12129	12290	14813	12648	14103	14091	13115	12476
<i>Rikenellaceae</i>	8498	7836	9758	7875	8676	7284	9440	7784	8662	5948	8159	7164	7242	7546	7453	7278
<i>Bacteroidaceae</i>	7147	6950	8412	7016	7691	6646	8368	6845	8497	7663	8651	8559	6933	8678	9254	7098
<i>Clostridiaceae</i>	2462	3114	2887	3170	2830	2491	3001	3202	2962	2458	2944	2218	3178	3642	2627	3049
<i>Lachnospiraceae</i>	2001	2020	1806	1892	1926	2012	1994	2071	1946	2064	1895	2022	1986	2131	2107	1862
<i>Enterobacteriaceae</i>	1478	1852	1292	1402	1759	1221	1718	1998	1452	1302	1306	1693	1389	1141	1623	1851
<i>Erysipelotrichaceae</i>	872	582	844	961	891	830	862	806	852	948	1072	975	888	1001	929	931
<i>Desulfovibrionaceae</i>	593	586	774	623	661	654	903	606	722	648	806	519	651	756	648	670
<i>Barnesiellaceae</i>	701	512	638	686	682	544	521	685	539	547	699	599	596	756	692	632
<i>Tannerellaceae</i>	701	166	638	686	682	80	521	685	539	547	118	599	596	756	692	632
<i>Porphyromonadaceae</i>	658	612	586	412	595	628	482	493	576	549	341	479	602	501	359	615
<i>LactoBacillaceae</i>	432	406	501	402	462	471	342	305	377	482	428	386	361	403	398	341
<i>Prevotellaceae</i>	701	166	638	686	22	80	521	685	26	547	17	599	596	23	692	12
<i>Bacillaceae</i>	399	326	246	255	279	316	194	167	283	284	237	297	266	229	375	235
<i>Christensenellaceae</i>	226	205	238	246	190	216	184	218	267	254	281	253	214	264	202	225
<i>Thermoanaerobacterales fam V i.s</i>	156	179	238	166	190	216	184	218	267	254	281	253	139	264	202	225
<i>Coriobacteriaceae</i>	156	155	195	213	249	267	185	164	204	233	279	238	251	183	281	163
<i>Turicibacteraceae</i>	204	242	179	206	142	154	153	184	249	144	127	160	150	255	220	207
<i>Campylobacteraceae</i>	206	156	175	146	154	158	161	203	101	124	141	188	146	100	115	134
<i>Marinilabiliaceae</i>	104	130	193	123	121	134	143	121	164	202	190	169	171	185	110	122
<i>Peptococcaceae</i>	99	93	121	168	76	135	110	155	92	107	93	79	88	134	137	121
<i>Eubacteriaceae</i>	118	164	87	73	92	76	84	105	144	112	82	63	106	91	78	144
<i>Syntrophomonadaceae</i>	118	85	132	124	52	147	119	99	67	66	53	80	64	103	53	74
<i>PeptoStreptococcaceae</i>	62	101	128	124	97	99	111	71	78	87	77	66	63	86	78	72
<i>Synergistaceae</i>	72	77	64	79	87	77	83	68	48	65	64	77	97	101	83	88
<i>Streptococcaceae</i>	35	58	72	46	54	56	57	36	50	45	41	45	61	40	59	60
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	32	58	30	46	54	36	57	36	50	45	41	54	61	40	59	48

Tablo 14. *C. perfringens*+ Amoksisilin verilen AB grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan aile sayıları (Devam)

Aile	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12	AB13	AB14	AB15	AB16
<i>Helicobacteraceae</i>	52	30	48	36	36	50	56	27	22	54	36	44	38	20	46	40
<i>Spiroplasmataceae</i>	33	55	34	36	41	44	27	42	51	24	45	33	38	39	32	26
<i>Gracilibacteraceae</i>	33	21	42	18	47	24	50	40	44	28	27	53	34	49	44	41
<i>Acheloplasmataceae</i>	15	36	34	40	30	41	18	18	37	22	28	17	23	34	26	20
<i>Staphylococcaceae</i>	36	22	36	40	30	41	14	18	37	22	28	17	23	22	26	20
<i>Carnobacteriaceae</i>	36	22	36	8	30	41	14	12	37	22	28	15	23	22	26	20
<i>Eubacteriales i.s fam</i>	51	8	23	44	9	14	23	6	41	7	40	10	26	7	14	4
<i>Fusobacteriaceae</i>	16	8	23	8	9	14	10	6	11	7	4	10	15	7	14	4
Toplam okuma sayıları	39495	37469	44506	40992	43312	39166	42888	43176	41623	38201	43472	40681	41218	43700	42869	39540

Aile düzeyinde incelendiğinde, sekum içeriklerine % 32,34 ile *Oscillospiraceae* hakimdi, bunu *Lachnospiraceae* (%4,91), *Clostridiaceae* (%7,15), *Rikenellaceae* (%19,62), *Bacteroidaceae* (%19,1), *Erysipelotrichaceae* (%2,25), *Enterobacteriaceae* (%3,78), *Barnesiellaceae* (%1,54), *Porphyromonadaceae* (%1,23), *Lactobacillaceae* (%1), *Desulfovibrionaceae* (%1,67) izledi. Oranı %1'in altında olan 23 adet aile tespit edildi. Grubun her bir hayvanına ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları incelendiğinde 16 hayvanın oranlarının birbirine benzer olduğu görüldü (Şekil 9).



Şekil 9. *C. perfringens*+ Amoksisilin verilen AB grubundaki her bir hayvana ait aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

AB grubunu oluşturan 16'şar tavuğa ait cins düzeyindeki veriler Tablo 15.'de gösterilmiştir.

Tablo 15. *C. perfringens*+ Amoksisilin verilen AB grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları.

Cins	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12	AB13	AB14	AB15	AB16
Faecalibacterium	7202	7051	8007	7398	9844	10144	7622	10850	7492	7773	9496	7607	8604	9528	9325	7817
Bacteroides	6482	6408	6738	6500	7223	6090	7850	6102	8002	7148	8210	8021	6178	8121	8620	6547
Rikenella	5855	5789	6654	5951	6387	5132	6737	5216	6306	3799	5965	4975	4604	4855	5545	4710
Ruminiclostridium	2012	2207	3824	3882	3045	2277	3211	2723	3104	2890	3875	3568	4082	3096	2406	3158
Alistipes	2310	1658	2729	1645	1859	1737	2432	2228	2062	1906	1892	1859	2369	2263	1558	2325
Clostridium	1712	2245	1864	2013	1846	1726	1849	2326	2078	1824	1937	1542	2168	2658	1689	1782
Enterobacteriaceae gen	1462	1829	1287	1395	1750	1218	1718	1998	1439	1299	1306	1693	1389	1137	1613	1851
Clostridiaceae i.s	726	854	1002	1156	984	765	1149	871	882	628	1006	658	1005	973	916	1249
Lachnospiraceae i.s	679	678	532	640	670	814	518	738	679	545	712	664	801	649	780	621
Barnesiella	669	510	628	686	672	544	511	685	537	547	696	599	594	744	690	624
Bacteroidaceae i.s	568	516	614	441	468	556	518	734	492	509	437	535	745	545	627	559
Bilophila	439	505	613	423	498	520	704	452	643	538	677	419	462	650	455	546
Porphyromonas	499	597	527	407	595	515	467	484	454	506	337	479	594	497	350	612
Coprococcus	466	441	452	384	335	387	586	574	578	676	409	512	333	677	492	394
Erysipelotrichaceae i.s	392	380	386	516	441	372	401	354	397	502	608	522	442	546	481	466
Lactobacillus	367	328	448	343	363	384	271	218	283	401	336	324	276	313	306	255
Acetanaerobacterium	404	247	268	352	323	356	284	364	439	322	299	325	356	313	261	287
Rikenellaceae i.s	333	380	351	264	429	403	266	340	286	239	277	320	240	428	350	230
Acetivibrio	371	255	381	330	331	370	214	224	303	346	289	391	221	218	363	273
Ruminococcus	315	201	199	442	339	265	308	307	257	323	299	230	291	360	279	385
Bacillus	382	317	240	195	219	300	183	158	171	252	218	268	239	206	375	229
Hespellia	280	238	232	286	267	214	239	218	192	220	181	177	199	190	296	299
Turicibacter	204	242	179	206	142	154	153	184	249	144	127	160	150	255	220	207
Flavonifractor	210	175	203	212	193	164	211	201	138	189	185	162	190	218	125	168
Christensenella	179	141	174	184	143	181	153	185	206	185	216	205	169	222	151	186
Anaerotruncus	169	132	226	165	131	135	149	180	250	239	195	140	155	177	173	200
Butyrivibrio	152	172	130	143	253	194	237	139	147	231	114	217	134	171	141	161
Mahella	148	178	147	163	162	225	139	158	204	231	155	196	135	135	133	211
Moryella	158	170	219	167	181	129	109	163	120	145	198	190	197	205	147	174
Marinilabiliaceae gen	104	127	193	123	118	134	143	119	164	202	186	169	171	185	108	122
Campylobacter	196	150	166	135	138	157	158	195	101	124	126	181	146	98	115	134
Desulfovibrio	147	73	157	200	159	128	189	141	72	104	129	88	189	91	177	116

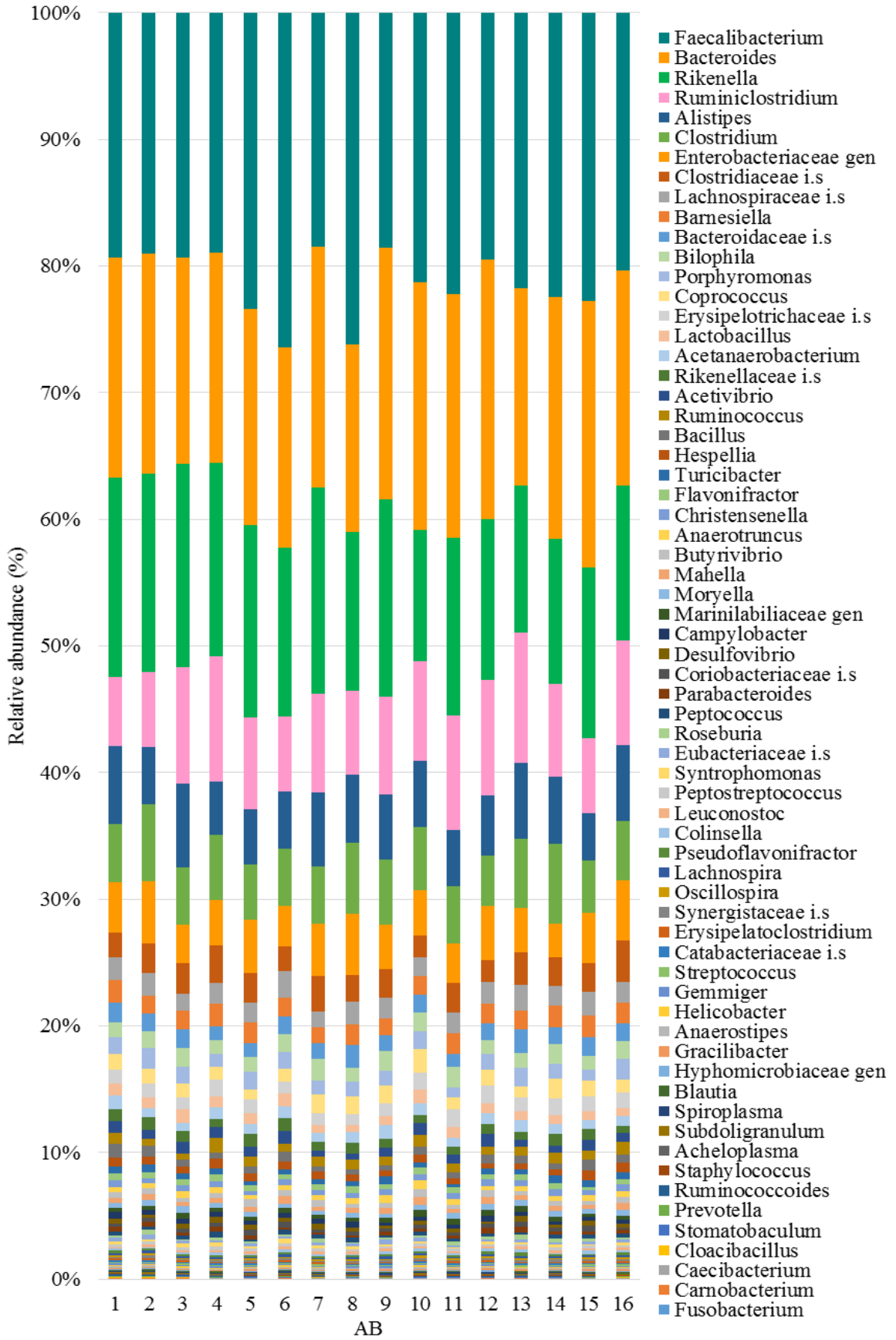
Tablo 15. *C. perfringens*+ Amoksisilin verilen AB grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları (Devam)

Cins	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12	AB13	AB14	AB15	AB16
Coriobacteriaceae i.s	97	109	128	122	189	169	111	108	96	117	99	120	146	121	172	64
Parabacteroides	155	162	96	149	129	78	67	76	121	87	115	172	169	98	102	112
Peptococcus	98	91	121	168	76	135	110	152	89	107	93	79	86	129	137	121
Roseburia	73	127	55	88	71	59	139	57	63	52	125	118	137	145	93	54
Eubacteriaceae i.s	109	134	72	69	90	68	77	95	135	107	75	56	106	83	78	102
Syntrophomonas	100	72	130	124	52	147	117	99	67	61	53	80	62	101	53	74
Peptostreptococcus	62	100	125	124	97	94	106	62	76	85	75	60	63	86	74	71
Leuconostoc	57	67	50	55	99	80	67	80	87	75	81	54	82	88	92	86
Colinsella	52	46	62	89	59	91	64	45	97	69	71	108	93	43	100	79
Pseudoflavonifractor	68	60	58	53	41	73	81	62	67	64	44	82	110	64	52	77
Lachnospira	66	74	60	72	45	79	46	69	77	66	54	67	81	71	49	48
Oscillospira	47	68	51	45	57	38	39	53	55	78	60	69	43	44	76	73
Synergistaceae i.s	56	67	37	41	72	49	42	54	36	50	44	59	77	75	63	58
Erysipelatoclostridium	59	66	44	45	50	53	51	49	52	43	61	46	38	55	47	57
Catabacteriaceae i.s	44	51	58	55	38	27	26	23	50	52	57	37	45	42	44	39
Streptococcus	30	48	59	43	40	36	54	29	46	33	34	32	53	34	56	45
Gemmiger	47	28	30	42	38	40	21	57	39	26	37	55	25	54	28	41
Helicobacter	51	29	46	33	30	50	56	27	22	53	34	43	35	20	42	37
Anaerostipes	46	42	32	34	50	41	45	34	33	48	29	29	32	35	47	31
Gracilibacter	32	21	41	18	46	23	49	38	42	24	26	53	34	46	44	39
Hyphomicrobiaceae gen	30	51	27	15	27	35	31	37	52	38	40	50	24	29	30	44
Blautia	16	39	27	48	18	44	30	28	31	36	46	26	42	33	37	3
Spiroplasma	31	48	34	32	30	44	27	40	39	24	42	32	36	29	31	25
Subdoligranulum	30	32	35	28	34	34	37	16	18	42	33	38	40	34	26	19
Acheloplasma	15	36	29	31	28	40	14	18	35	20	28	16	22	31	24	13
Staphylococcus	34	21	27	23	32	11	12	19	18	23	25	20	17	20	18	16
Ruminococcoides	37	8	23	24	25	13	14	17	6	22	26	21	5	34	29	16
Prevotella	22	24	9	12	18	17	20	28	24	10	14	19	15	21	25	11
Stomatobaculum	25	24	30	14	16	22	9	28	8	31	19	10	16	7	12	17
Cloacibacillus	14	9	18	10	15	11	20	7	3	5	13	16	20	22	17	24
Caecibacterium	7	15	10	9	20	16	22	21	17	3	8	11	5	12	4	12
Carnobacterium	16	19	10	7	4	10	6	11	7	13	18	12	9	15	5	14

Tablo 15. *C. perfringens*+ Amoksisilin verilen AB grubundaki 16 hayvanın her birinde okunan cins sayıları (Devam)

Cins	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12	AB13	AB14	AB15	AB16
Fusobacterium	16	8	21	8	9	13	10	6	11	7	3	10	15	5	14	4
Toplam okuma sayısı	39495	37469	44506	40992	43312	39166	42888	43176	41623	38201	43472	40681	41218	43700	42869	39540

Cins düzeyinde ise *Faecalibacterium* (%21,06) sekal içerikte en çok bulunan cinsti, bunu *Bacteroides* (%17,72), *Rikenella* (%13,73), *Ruminiclostridium* (%7,66), *Alistipes* (%5,09), *Clostridium* (%4,85), *Enterobacteriaceae* gen (%3,78) *Clostridiaceae* incertae sedis (%2,30), *Lachnospiraceae* incertae sedis (%1,66), *Erysipelotrichaceae* incertae sedis (%1,61), *Barnesiella* (%1,54), *Bacteroidaceae* incertae sedis (%1,38), *Bilophila* (%1,33), *Porphyromonas* (%1,23), *Coprococcus* (%1,19), izledi. Oranı %1'in altında olan 49 adet cins tespit edildi. Grubun her bir hayvanına ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları incelendiğinde 16 hayvanın oranlarının birbirine benzer olduğu görüldü (Şekil 10).



Şekil 10. *C. perfringens*+ Amoksisilin verilen AB grubundaki her bir hayvana ait cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunlukları.

4.3. Yeni Nesil Okumaların Değerlendirilmesi

4.3.1. Taksonomik Çeşitlilik/ Relative Abundance

Gruplar arasındaki farklılıkların anlamlılık düzeyleri yapılan istatistiksel analizler ile belirlendi. Gruplar arasındaki farkları şube, aile ve cins düzeyinde görselleştirmek için Relative Abundance diyagramları kullanıldı.

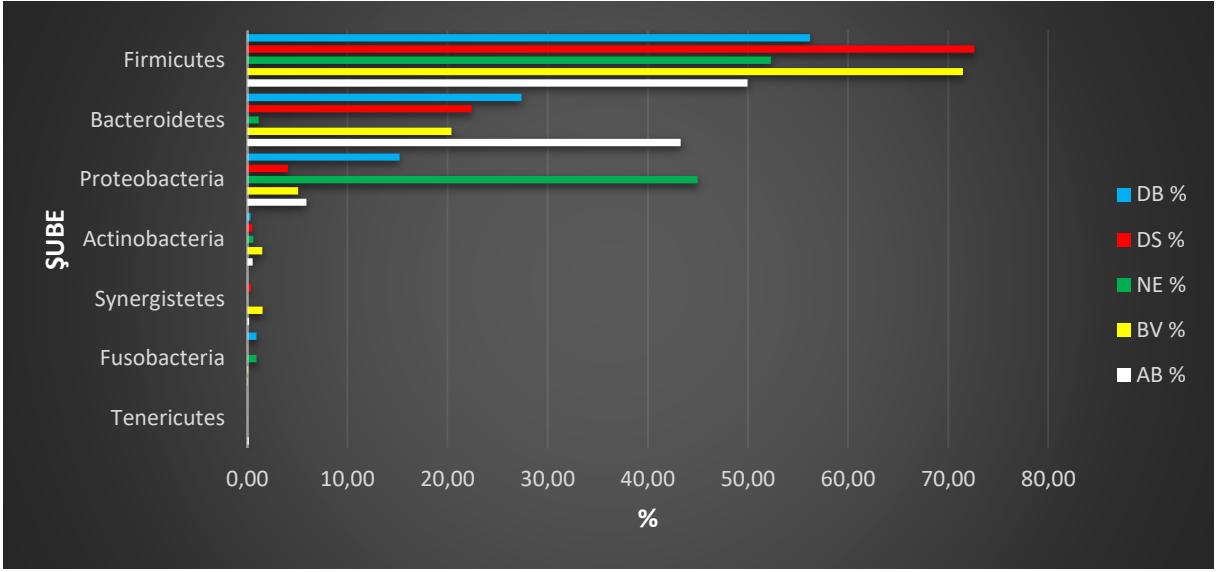
Şube düzeyinde yapılan istatistiksel analiz sonucunda gruplar arası farklar anlamlı bulundu ($p < 0.01$) (Tablo 16). *Firmicutes* şubesi BV grubunda (%71,48) DS grubuna (%72,64) göre daha yüksek oranda görülürken, AB grubunda (%49,95) bu oranın daha az olduğu görüldü. NE grubunda (%52,30) ise oranın istatistiki olarak anlamlı şekilde düştüğü tespit edildi. *Bacteroides* şubesinin AB (%43,27) ve BV (%20,37) gruplarında DS (%22,41) grubuna oranla daha yüksek olduğu, NE (%1,13) grubunda ise bu oranın düştüğü görüldü. *Proteobacteria* şubesi DS (%4,04) grubunda en düşük oranda görülürken bunu sırasıyla AB (%5,90), BV (%5,07) ve NE (%44,98) grupları izledi. NE grubunda anlamlı bir artış olduğu tespit edildi. *Actinobacteria* şubesine ait bakteriler DS (%0,48), NE (%0,60) ve AB (%0,52) grubunda benzer oranda görülürken, BV (%1,48) grubunda oranın arttığı görüldü. *Synergistetes* oranı BV (%1,53) ve AB (%0,19) gruplarında DS (%0,38) grubuna daha yakınken NE (%0,06) grubunda sayı anlamlı şekilde azaldı. *Fusobacteria* şubesine ait bakteriler AB (%0,03) grubunda DS (%0,05) grubuna en yakın oranda bulunurken, bunu BV (%0,08) grubu izledi. En yüksek oran DB (%0,90) ve NE (%0,90) grubunda görüldü. *Tenericutes* DB, DS ve BV gruplarında görülmezken, NE (%0,03) ve AB (%0,16) gruplarında görüldü. İstatistiksel olarak AB grubunda anlamlı bir şekilde daha yüksek oranda olduğu belirlendi (Tablo 17). Şube düzeyinde gruplar arası karşılaştırma Şekil 11'de gösterilmiştir. Gruplar arası şube düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırması Şekil 12 ile görselleştirilmiştir.

Tablo 16. Şube düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları.

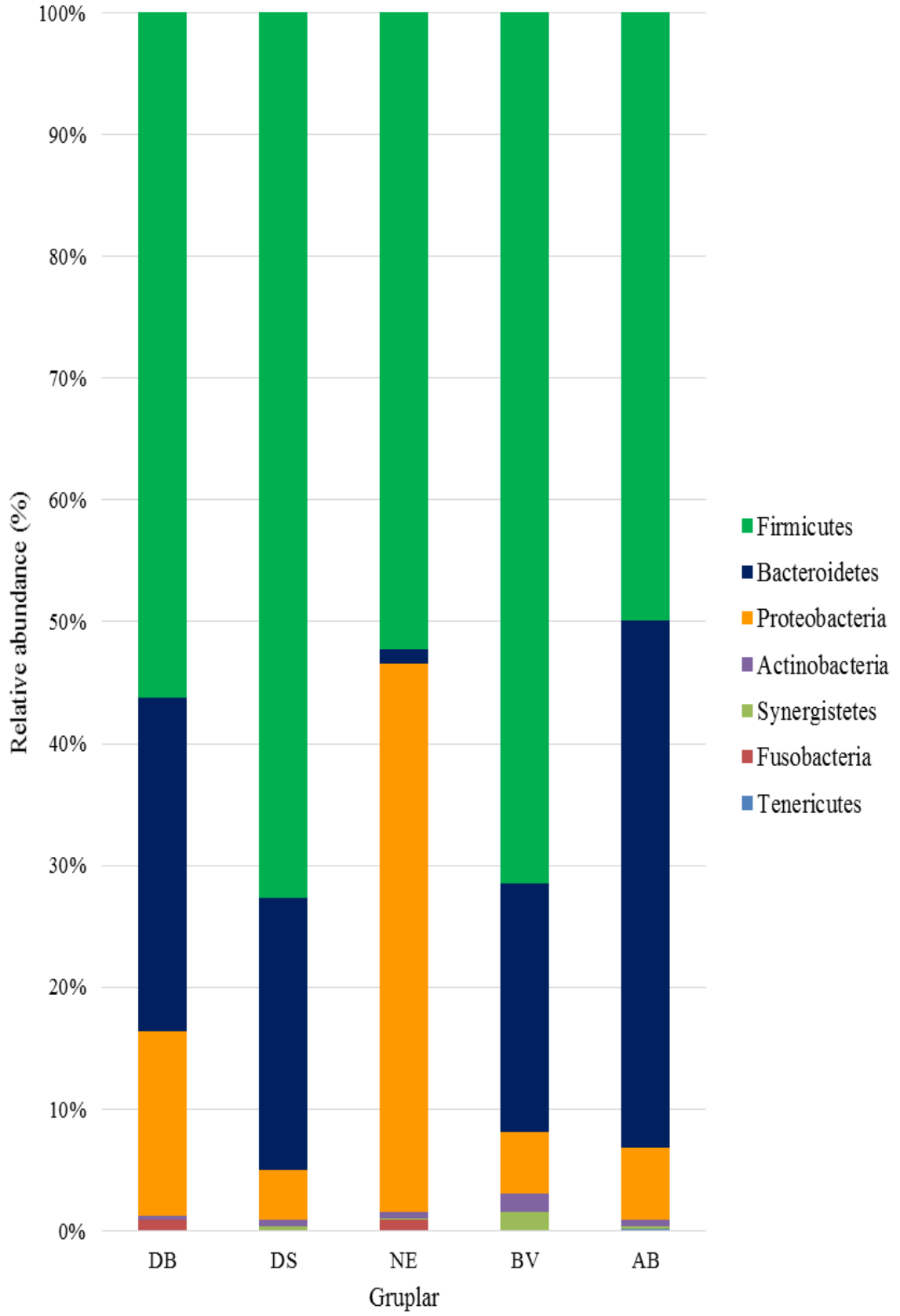
Şube	Gruplar										p Value
	DB		DS		NE		BV		AB		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
<i>Firmicutes</i>	55,93	1,38b	72,75	3,35a	52,29	0,95c	71,49	1,68a	49,96	2,53d	<0.01
<i>Bacteroidetes</i>	27,24	0,79b	22,31	3,37c	1,13	0,06d	20,37	1,88c	43,24	2,45a	<0.01
<i>Proteobacteria</i>	15,12	1,05b	4,03	0,49e	44,99	0,91a	5,07	0,57d	5,91	0,68c	<0.01
<i>Actinobacteria</i>	0,31	0,03b	0,48	0,11b	0,60	0,03b	1,47	0,8a	0,52	0,11b	<0.01
<i>Synergistetes</i>	0,00	0,00	0,38	0,08b	0,06	0,02d	1,53	0,13a	0,19	0,03c	<0.01
<i>Fusobacteria</i>	0,90	0,06a	0,05	0,02bc	0,89	0,06a	0,08	0,03b	0,03	0,01c	<0.01
<i>Tenericutes</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,03b	0,00	0,00	0,16	0,04a	<0.01

Tablo 17. Şube düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması.

Şube	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
<i>Firmicutes</i>	56,21	72,64	52,30	71,48	49,95
<i>Bacteroidetes</i>	27,38	22,41	1,13	20,37	43,27
<i>Proteobacteria</i>	15,20	4,04	44,98	5,07	5,90
<i>Actinobacteria</i>	0,31	0,48	0,60	1,48	0,52
<i>Synergistetes</i>	0,00	0,38	0,06	1,53	0,19
<i>Fusobacteria</i>	0,90	0,05	0,90	0,08	0,03
<i>Tenericutes</i>	0,00	0,00	0,03	0,00	0,16



Şekil 11. Şube düzeyinde gruplar arası karşılaştırma.



Şekil 12. Gruplar arası şube düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması.

Aile düzeyinde yapılan istatistiksel analizde toplam 47 adet aileden *Bacillaceae*, *Bifidobacteriaceae* ve *Caldicoprobacteraceae*'daki gruplar arası farkın anlamlı olmadığı görüldü (sırasıyla $p=0,253$; $p=0,238$; $p=0,626$), diğer ailelerde gruplar arasındaki farklar ise istatistiksel olarak anlamlı görüldü ($p<0,01$) (Tablo 18). Aynı yaştaki tavuklardan oluşan DS (%38,55), NE (%6), BV (%33,21) ve AB (%32,34) grupları karşılaştırıldığında *Oscillospiraceae*'nin DS grubunda en yoğun olan aile olduğu belirlendi. BV ve AB gruplarının oranlarının DS grubundan daha az olduğu, ancak DS grubuna yakın olduğu, NE grubunda ise anlamlı bir düşüş olduğu görüldü. *Clostridiaceae* BV grubunda (%15,80) DS grubuna (%13,58) kıyasla daha fazla oranda görülürken, en yoğun olarak NE grubunda (%23,70) gözlemlendi. AB grubunda (%7,15) ise *Clostridiaceae* oranının DS grubundan daha düşük olduğu görüldü. *Enterobacteriaceae* en düşük oranda DS (%2,41) grubunda bulunurken, bu oranın NE grubunda (38,70) anlamlı bir şekilde artmış olduğu görüldü. DS grubuna en yakın oran sırasıyla BV (%3,37) ve AB grubuna (%3,78) aitti. *Lachnospiraceae* oranı DS grubu (%14,69) oranına en yakın olan grup BV grubu (%15,82) olarak belirlendi. AB ve NE gruplarında ise bu oran DS grubuna anlamlı şekilde uzaktı. *Rikenellaceae* ailesinde DS (%9,18) grubuna istatistiksel olarak en yakın bulunan grup BV (%5,39) grubu olurken, NE grubunda *Rikenellaceae* ailesine ait bakteri bulunmadığı belirlendi. AB (%19,62) grubunda ise DS grubuna göre oranın anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi. *Bacteroidaceae*'nin BV (%3,80) ve NE (%0,18) gruplarında DS (%11,96) grubuna oranla azaldığı ancak AB (%19,10) grubunda arttığı görüldü. *Erysipelotrichaceae*'de istatistiksel olarak DS (%0,54) grubuna en yakın grup BV (%0,96) grubu olarak bulunurken NE (%17,80) grubunda oranın arttığı tespit edildi (Tablo 19). Gruplar arası aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırması Şekil 13 ve Şekil 14'te gösterildi.

Tablo 18. Aile düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları.

Aile	Gruplar										p Value
	DB		DS		NE		BV		AB		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
<i>Oscillospiraceae</i>	23,23	0,73c	38,02	2,9a	6	0,17d	32,67	2,19b	31,5	2,43b	<0.01
<i>Clostridiaceae</i>	9,7	0,5d	13,44	1,59c	23,7	1,17a	15,64	1,4b	6,98	0,83e	<0.01
<i>Enterobacteriaceae</i>	13,99	0,97b	2,36	0,45d	38,71	0,84a	3,34	0,54c	3,71	0,67c	<0.01
<i>Lachnospiraceae</i>	10,2	0,26c	14,52	1,25b	2,7	0,14e	15,67	1,2a	4,81	0,36d	<0.01
<i>Rikenellaceae</i>	8,5	0,3b	8,96	2,57b	0	0	5,32	1,18c	19,1	1,91a	<0.01
<i>Bacteroidaceae</i>	4,7	0,28c	11,78	2,98b	0,18	0,03d	3,75	0,86c	18,77	1,65a	<0.01
<i>Erysipelotrichaceae</i>	2,13	0,14b	0,53	0,11c	17,79	1,46a	0,96	0,16c	2,15	0,25b	<0.01
<i>Porphyromonadaceae</i>	11	0,63a	0,75	0,18d	0,9	0,04d	8,46	0,45b	1,29	0,27c	<0.01
<i>Desulfovibrionaceae</i>	0	0	0,91	0,14d	5,8	0,36a	1,25	0,15c	1,63	0,19b	<0.01
<i>Veillonellaceae</i>	4,3	0,24a	0,03	0,02c	0	0	0,9	0,13b	0	0	<0.01
<i>LactoBacillaceae</i>	0,76	0,09b	1,07	0,29a	0,3	0,04d	0,52	0,11c	0,98	0,15a	<0.01
<i>Prevotellaceae</i>	1,8	0,07a	0,17	0,05c	0	0	0,97	0,37b	0,91	0,73b	<0.01
<i>Christensenellaceae</i>	0,56	0,04c	1,06	0,3b	0,05	0,03d	1,57	0,4a	0,56	0,07c	<0.01
<i>Eubacteriaceae</i>	0,7	0,05b	0,72	0,16b	0,05	0,02d	1,1	0,2a	0,25	0,08c	<0.01
<i>Barnesiellaceae</i>	0,4	0,03b	0,14	0,05c	0	0	0,42	0,11b	1,51	0,16a	<0.01
<i>Coriobacteriaceae</i>	0,25	0,03b	0,42	0,1b	0,6	0,03b	1,42	0,8a	0,52	0,11b	<0.01
<i>Tannerellaceae</i>	0,9	0,06b	0,28	0,09c	0	0	0,72	0,11b	1,3	0,52a	<0.01
<i>Streptococcaceae</i>	0,8	0,05b	1,05	0,32a	0	0	0,2	0,05c	0,12	0,03c	<0.01
<i>Synergistaceae</i>	0	0	0,38	0,08b	0,06	0,02d	1,53	0,13a	0,19	0,03c	<0.01
<i>Bacillaceae</i>	0	0	0,84	0,17a	0	0	0,68	0,11b	0,67	0,17b	<0.01
<i>Fusobacteriaceae</i>	0,9	0,06a	0,05	0,02b	0,9	0,06a	0,08	0,03bc	0,03	0,01c	<0.01
<i>Staphylococcaceae</i>	0	0	0	0	1,4	0,06a	0	0	0,07	0,02b	<0.01
<i>Peptococcaceae</i>	0,47	0,04a	0,23	0,08c	0,08	0,03d	0,34	0,09b	0,27	0,06c	<0.01
<i>Thermoanaerobacterales fam IV i.s</i>	0,8	0,04a	0,04	0,02c	0,07	0,02c	0	0	0,52	0,1b	<0.01
<i>Acidaminococcaceae</i>	0,4	0,04a	0,25	0,07b	0	0	0,43	0,06a	0	0	<0.01

Tablo 18. Aile düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları (Devam)

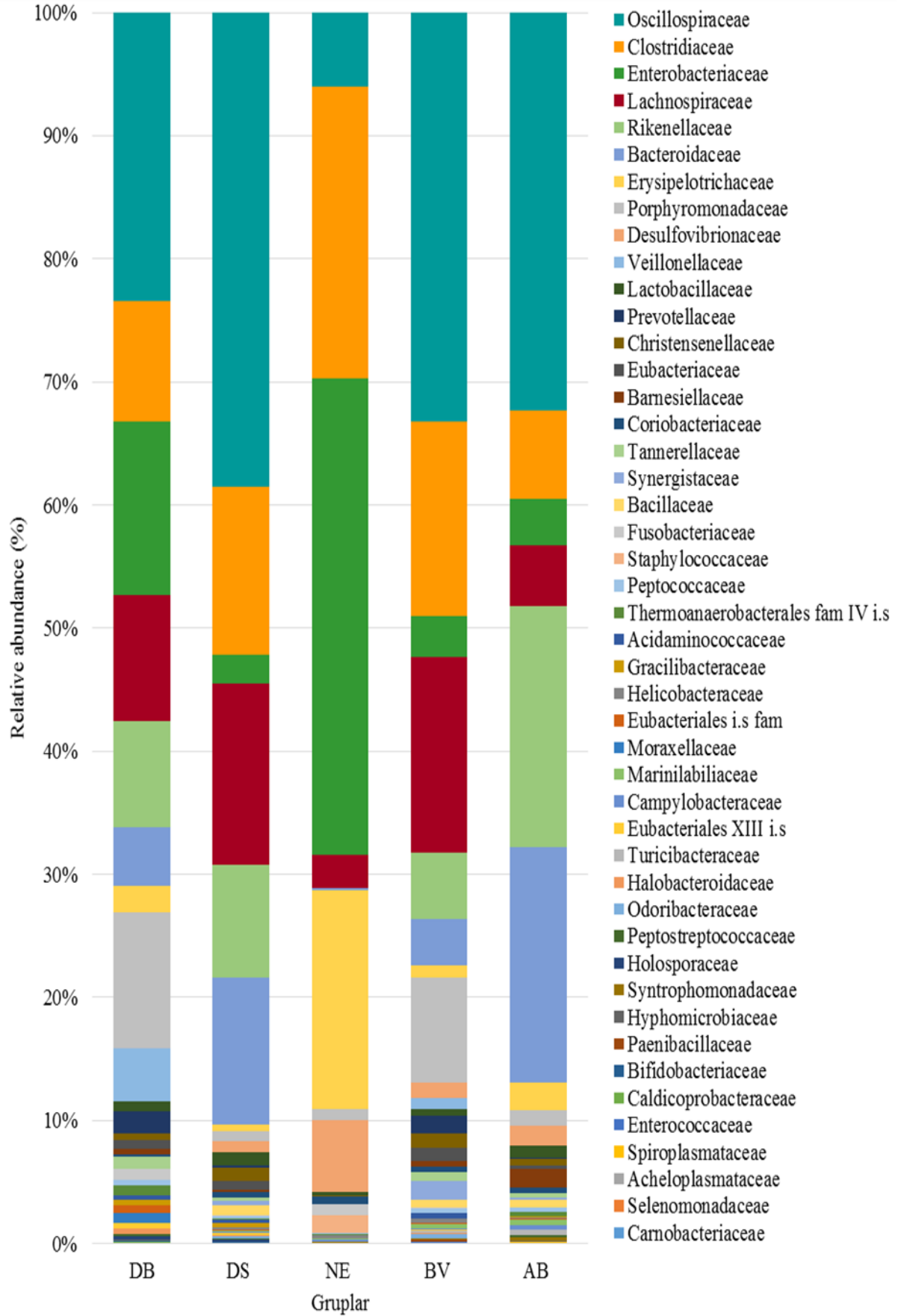
Aile	Gruplar										p Value
	DB				DS				NE		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
<i>Gracilibacteraceae</i>	0,45	0,03a	0,38	0,11b	0	0	0,03	0,01d	0,09	0,02c	<0.01
<i>Helicobacteraceae</i>	0	0	0,3	0,09a	0,3	0,04a	0,34	0,06a	0,1	0,03b	<0.01
<i>Eubacteriales i.s</i>	0,6	0,06a	0,07	0,04c	0	0	0,11	0,02b	0,05	0,04c	<0.01
<i>Moraxellaceae</i>	0,8	0,09a	0,03	0,02b	0,02	0,02b	0	0	0	0	<0.01
<i>Marinilabiliaceae</i>	0	0	0,09	0,07b	0,05	0,02b	0,33	0,07a	0,36	0,08a	<0.01
<i>Campylobacteraceae</i>	0	0	0,15	0,04b	0,16	0,04b	0,11	0,02c	0,36	0,08a	<0.01
<i>Eubacteriales fam XIII i.s</i>	0,4	0,03a	0,12	0,06b	0	0	0,09	0,03b	0	0	<0.01
<i>Turicibacteraceae</i>	0	0	0	0	0	0	0,15	0,04b	0,45	0,1a	<0.01
<i>HaloBacteroidaceae</i>	0,44	0,03a	0,15	0,05b	0	0	0,06	0,03c	0	0	<0.01
<i>Odoribacteraceae</i>	0,08	0,02b	0,12	0,04b	0	0	0,39	0,09a	0	0	<0.01
<i>PeptoStreptococcaceae</i>	0,1	0,02b	0,1	0,04b	0,05	0,03c	0,12	0,07b	0,21	0,05a	<0.01
<i>Holosporaceae</i>	0,3	0,04a	0,16	0,05b	0	0	0	0	0	0	<0.01
<i>Syntrophomonadaceae</i>	0	0	0	0	0,1	0,02b	0,02	0,01c	0,22	0,08a	<0.01
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	0,1	0,02a	0,12	0,07a	0	0	0,03	0,01b	0,11	0,03a	<0.01
<i>PaeniBacillaceae</i>	0	0	0	0	0	0	0,17	0,08a	0	0	<0.01
<i>Bifidobacteriaceae</i>	0,06	0,02	0,06	0,03	0	0	0,05	0,03	0	0	0.592
<i>Caldicoprobacteraceae</i>	0,09	0,02	0,1	0,06	0	0	0	0	0	0	0.946
<i>Enterococcaceae</i>	0,08	0,02a	0,02	0,02c	0	0	0,05	0,03b	0	0	<0.01
<i>Spiroplasmataceae</i>	0	0	0	0	0,02	0,03b	0	0	0,09	0,02a	<0.01
<i>Acheloplasmataceae</i>	0	0	0	0	0,01	0,01b	0	0	0,07	0,02a	<0.01
<i>Selenomonadaceae</i>	0	0	0	0	0	0	0,06	0,01	0	0	-
<i>Carnobacteriaceae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,06	0,02	-

Tablo 19. Aile düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması.

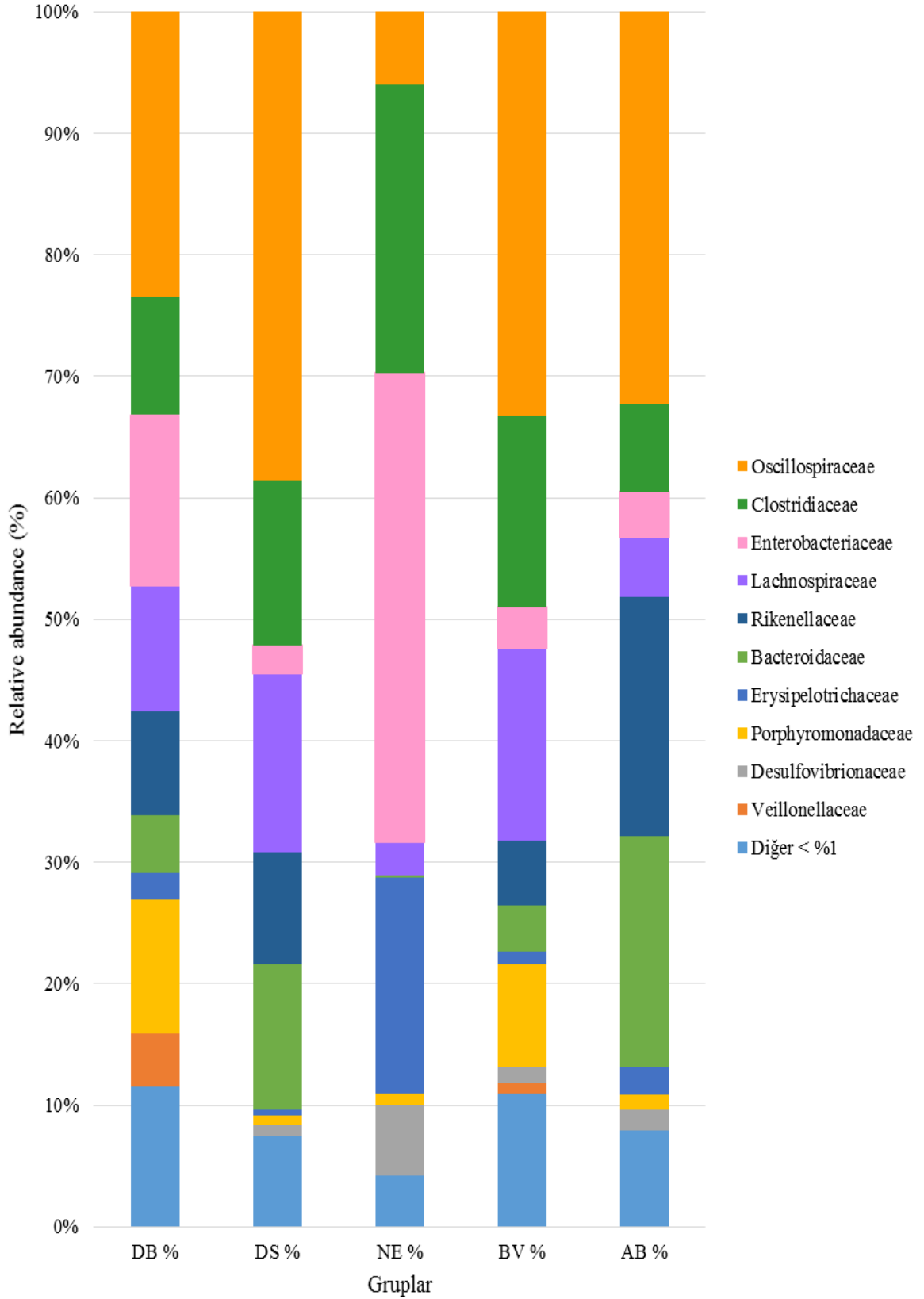
Aile	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
<i>Oscillospiraceae</i>	23,42	38,55	6,00	33,21	32,34
<i>Clostridiaceae</i>	9,78	13,58	23,70	15,80	7,15
<i>Enterobacteriaceae</i>	14,11	2,41	38,70	3,37	3,78
<i>Lachnospiraceae</i>	10,28	14,69	2,70	15,82	4,91
<i>Rikenellaceae</i>	8,57	9,18	0,00	5,39	19,62
<i>Bacteroidaceae</i>	4,74	11,96	0,18	3,80	19,10
<i>Erysipelotrichaceae</i>	2,15	0,54	17,80	0,96	2,25
<i>Porphyromonadaceae</i>	11,09	0,75	0,90	8,53	1,23
<i>Desulfovibrionaceae</i>	0,00	0,92	5,80	1,27	1,67
<i>Veillonellaceae</i>	4,33	0,03	0,00	0,91	0,00
<i>LactoBacillaceae</i>	0,77	1,08	0,30	0,52	1,00
<i>Prevotellaceae</i>	1,81	0,17	0,00	1,45	0,05
<i>Christensenellaceae</i>	0,56	1,07	0,05	1,14	0,57
<i>Eubacteriaceae</i>	0,71	0,72	0,05	1,11	0,23
<i>Barnesiellaceae</i>	0,40	0,15	0,00	0,42	1,54
<i>Coriobacteriaceae</i>	0,25	0,43	0,60	0,45	0,49
<i>Tannerellaceae</i>	0,91	0,28	0,00	0,73	0,29
<i>Streptococcaceae</i>	0,80	1,06	0,00	0,20	0,12
<i>Synergistaceae</i>	0,00	0,39	0,06	1,54	0,18
<i>Bacillaceae</i>	0,00	0,85	0,00	0,68	0,62
<i>Fusobacteriaceae</i>	0,91	0,05	0,90	0,08	0,03
<i>Staphylococcaceae</i>	0,00	0,00	1,40	0,00	0,05
<i>Peptococcaceae</i>	0,47	0,20	0,08	0,34	0,28
<i>Thermoanaerobacterales fam IV. i.s</i>	0,81	0,04	0,07	0,00	0,42
<i>Acidaminococcaceae</i>	0,40	0,25	0,00	0,43	0,00
<i>Gracilibacteraceae</i>	0,45	0,38	0,00	0,03	0,09
<i>Helicobacteraceae</i>	0,00	0,20	0,30	0,35	0,10
<i>Eubacteriales i.s fam</i>	0,60	0,07	0,00	0,11	0,10

Tablo 19. Aile düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması (Devam)

Aile	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
<i>Moraxellaceae</i>	0,81	0,03	0,02	0,00	0,00
<i>Marinilabiliaceae</i>	0,00	0,05	0,05	0,34	0,37
<i>Campylobacteraceae</i>	0,00	0,15	0,16	0,11	0,36
<i>Eubacteriales fam XIII i.s</i>	0,40	0,17	0,00	0,09	0,00
<i>Turicibacteraceae</i>	0,00	0,00	0,00	0,15	0,46
<i>HaloBacteroidaceae</i>	0,44	0,10	0,00	0,06	0,00
<i>Odoribacteraceae</i>	0,08	0,12	0,00	0,39	0,00
<i>PeptoStreptococcaceae</i>	0,10	0,10	0,05	0,04	0,22
<i>Holosporaceae</i>	0,30	0,16	0,00	0,00	0,00
<i>Syntrophomonadaceae</i>	0,00	0,00	0,10	0,02	0,22
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	0,10	0,04	0,00	0,03	0,09
<i>PaeniBacillaceae</i>	0,00	0,00	0,00	0,17	0,00
<i>Bifidobacteriaceae</i>	0,06	0,06	0,00	0,05	0,00
<i>Caldicoprobacteraceae</i>	0,09	0,06	0,00	0,00	0,00
<i>Enterococcaceae</i>	0,08	0,02	0,00	0,05	0,00
<i>Spiroplasmataceae</i>	0,00	0,00	0,02	0,00	0,09
<i>Acheloplasmataceae</i>	0,00	0,00	0,01	0,00	0,07
<i>Selenomonadaceae</i>	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00
<i>Carnobacteriaceae</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03



Şekil 13. Gruplar arası aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması.



Şekil 14. Gruplar arası aile düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması (< %1).

* Her bir aile için tüm grupların ortalaması göz önünde bulundurularak yapılan hesaplama ile ortalaması %1'in altında kalan aileler ayrı ayrı şekilde dahil edilmemiş olup toplamları "Diğer < %1" ismiyle şekilde dahil edilmiştir.

Cins düzeyinde yapılan istatistiksel analizde 92 adet cinsten *Bifidobacterium* ve *Robinsoniella*'daki gruplar arası farkın anlamlı olmadığı görüldü (sırasıyla $p=0,675$; $p=0,504$). Yedi cins yalnızca bir grupta görüldüğünden istatistiksel değerlendirmeye alınamadı. Diğer 83 adet cinsin gruplar arası farklarının anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,01$) (Tablo 20). Aynı yaştaki tavuklardan oluşan DS, NE, BV ve AB grupları cins düzeyinde değerlendirildiğinde BV grubunda DS grubu ile istatistiksel olarak hiçbir fark gözlenmeyen 16 farklı cins (*Faecalibacterium*, *Clostridium*, *Flavonifractor*, *Bilophila*, *Lachnospiraceae incertae sedis*, *Oscillibacter*, *Christensenella*, *Butyricoccus*, *Hespellia*, *Fusobacterium*, *Oscillospiraceae incertae sedis*, *Eubacteriaceae incertae sedis*, *Collinsella*, *Subdoligranulum*, *Anaerotruncus*, *Anaerotruncus*, *Hyphomicrobiaceae gen*) olduğu bulundu. NE grubu ile DS grubu ile istatistiksel olarak hiçbir fark gözlenmeyen yedi farklı cins (*Flavonifractor*, *Acetanaerobacterium*, *Anaerosporebacter*, *Moraxella*, *Anaerostipes*, *Marinilabiliaceae gen*, *Campylobacter*) olduğu belirlendi. AB grubunda DS grubu ile istatistiksel olarak hiçbir fark gözlenmeyen dokuz farklı cins (*Faecalibacterium*, *Alistipes*, *Acetanaerobacterium*, *Acetivibrio*, *Ruminococcoides*, *Blautia*, *Fusobacterium*, *Parabacteroides*, *Lachnospira*) olduğu tespit edildi.

Gruplar karşılaştırıldığında, *Faecalibacterium* cinsinin DS grubunda (%21,94) en yüksek oranda görülen cins olduğu tespit edildi. BV (%20,25) ve AB (%21,06) grupları istatistiksel olarak DS grubundan farklılık göstermedi. DB grubunda oranın DS grubuna göre az olduğu (%8,50), NE grubunda bu cinsine ait bakteri bulunmadığı görüldü. DS grubunda (%11,18) tüm sekum mikrobiyomu içerisinde yoğunluk olarak ikinci sırada *Bacteroides* cinsi bulundu. BV grubunda oranın daha az olduğu (%3,10), AB grubunda (17,72) ise DS grubuna göre daha fazla olduğu belirlendi. *Ruminiclostridium* DS grubunda (%9,62) en yoğun üçüncü cins olarak saptandı. BV (%1,35) ve AB gruplarında (%7,66) oranın az olduğu görülürken, NE grubunda bu cinse ait bakteri bulunmadı. NE grubunda en yüksek oran *Enterobacteriaceae gen* cinsinde (%38,70) görüldü. NE grubuna oran olarak en yakın grup DB grubu (%14) olarak belirlenirken, DS (%2,36), BV (%3,37) ve AB grubunda (%3,78) oranların anlamlı bir şekilde az olduğu tespit edildi. NE grubunda %20,30 oranında bulunan *Clostridium* cinsi DS (%7,93), BV (%8,41), AB (%4,85) ve DB (%6,70) grubunda daha az oranda görüldü. NE grubunda %16,10 oranında bulunan *Erysipelatoclostridium* ise DB (%2,10), BV (%0,04) ve AB (%0,62) grubunda daha az oranda görülürken, DS grubunda bulunmadığı tespit edildi (Tablo 21).

Gruplar arası cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırması Şekil 15 ve Şekil 16 ile görselleştirildi.

Tablo 20. Cins düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları.

Cins	Gruplar										p Value
	DB		DS		NE		BV		AB		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Faecalibacterium	8,50	0,58b	21,74	3,33a	0,00	0,00	20,10	2,3a	21,24	2,54a	<0.01
Enterobacteriaceae gen	13,99	0,97b	2,32	0,46d	38,71	0,84a	3,36	0,56c	3,83	0,68c	<0.01
Clostridium	6,70	0,49c	7,91	1,56b	20,30	1,12a	8,37	1,18b	4,90	0,67d	<0.01
Bacteroides	4,50	0,25c	11,06	3,01b	0,15	0,04d	3,07	0,84c	17,89	1,89a	<0.01
Ruminiclostridium	4,70	0,23c	9,53	1,38a	0,00	0,00	1,35	0,22d	7,72	1,52b	<0.01
Rikenella	3,60	0,21b	3,75	1,52b	0,00	0,00	1,84	0,57c	13,85	1,88a	<0.01
Porphyromonas	11,00	0,63a	0,74	0,19d	0,90	0,04dc	8,51	0,39b	1,25	0,23c	<0.01
Erysipelatoclostridium	2,10	0,14b	0,00	0,00	16,09	1,51a	0,04	0,02c	0,13	0,02c	<0.01
Clostridiaceae i.s	0,00	0,00	5,30	0,99b	3,40	0,21c	7,16	0,67a	2,32	0,42d	<0.01
Alistipes	4,90	0,34a	4,37	2,08a	0,00	0,00	3,27	0,69b	5,15	0,82a	<0.01
Coprococcus	5,10	0,21a	3,85	0,6c	0,05	0,02	4,29	0,67b	1,21	0,28d	<0.01
Lachnoclostridium	0,00	0,00	7,30	0,95a	0,00	0,00	5,00	0,71b	0,00	0,00	<0.01
Flavonifractor	2,20	0,17a	0,85	0,16b	0,70	0,06b	1,88	0,26b	0,46	0,07d	<0.01
Acetanaerobacterium	0,00	0,00	0,91	0,28b	0,90	0,07b	3,23	0,69a	0,82	0,14b	<0.01
Ruminococcus	1,10	0,17b	2,35	0,57a	0,00	0,00	1,39	0,22b	0,75	0,17c	<0.01
Veillonella	4,30	0,24a	0,03	0,01c	0,00	0,00	0,89	0,13b	0,00	0,00	<0.01
Desulfovibrio	0,00	0,00	0,15	0,05c	4,30	0,37a	0,37	0,08b	0,34	0,1b	<0.01
Erysipelotrichaceae i.s	0,03	0,01e	0,52	0,12d	1,70	0,14a	0,92	0,15c	1,13	0,18b	<0.01
Bilophila	0,00	0,00	0,75	0,13c	1,50	0,07a	0,88	0,16c	1,34	0,21b	<0.01
Lachnospiraceae i.s	1,80	0,1a	0,03	0,01d	0,80	0,05c	0,02	0,01d	1,68	0,23b	<0.01
Oscillibacter	1,20	0,07a	1,02	0,29b	0,80	0,07d	1,14	0,16b	0,00	0,00	<0.01
Oscillospira	2,30	0,16a	0,38	0,1d	0,50	0,04c	0,68	0,16b	0,14	0,04e	<0.01
Acetivibrio	0,00	0,00	0,35	0,1b	0,00	0,00	2,70	0,63a	0,77	0,18b	<0.01
Prevotella	1,80	0,07a	0,16	0,05c	0,00	0,00	1,43	0,21b	0,05	0,01d	<0.01

Tablo 20. Cins düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları (Devam)

Cins	Gruplar										p Value
	DB		DS		NE		BV		AB		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Butyrivibrio	0,00	0,00	1,36	0,32a	0,00	0,00	1,48	0,24b	0,43	0,11c	<0.01
Christensenella	0,56	0,04b	1,05	0,29a	0,05	0,03c	1,13	0,24a	0,45	0,06b	<0.01
Lactobacillus	0,76	0,09b	1,06	0,29a	0,00	0,00	0,51	0,1c	0,82	0,16b	<0.01
Ruminococcoides	2,40	0,14a	0,03	0,02d	0,50	0,06b	0,14	0,03c	0,05	0,02d	<0.01
Butyricoccus	2,70	0,17a	0,08	0,03b	0,00	0,00	0,07	0,02b	0,00	0,00	<0.01
Roseburia	0,00	0,00	0,39	0,13b	0,05	0,02d	2,07	0,3a	0,23	0,09c	<0.01
Blautia	0,70	0,04b	0,20	0,07c	0,00	0,00	1,62	0,27a	0,09	0,03c	<0.01
Barnesiella	0,40	0,03b	0,14	0,05c	0,00	0,00	0,41	0,1b	1,56	0,16a	<0.01
Hespellia	0,70	0,04a	0,27	0,08c	0,60	0,05b	0,34	0,11c	0,59	0,11b	<0.01
Bacteroidaceae i.s	0,00	0,00	0,61	0,15b	0,03	0,02d	0,42	0,1c	1,39	0,23a	<0.01
Streptococcus	0,80	0,05b	1,29	0,44a	0,00	0,00	0,19	0,03c	0,11	0,02c	<0.01
Parabacteroides	0,90	0,06a	0,28	0,09c	0,00	0,00	0,71	0,1b	0,30	0,09c	<0.01
Bacillus	0,00	0,00	0,82	0,17a	0,00	0,00	0,67	0,11b	0,62	0,19b	<0.01
Fusobacterium	0,90	0,06a	0,05	0,02bc	0,90	0,06a	0,07	0,03b	0,03	0,01c	<0.01
Oscillospiraceae i.s	0,83	0,05b	0,03	0,01c	0,90	0,05a	0,02	0,01c	0,00	0,00	<0.01
Eubacteriaceae i.s	0,70	0,05a	0,40	0,09b	0,05	0,02d	0,36	0,09b	0,23	0,06c	<0.01
Pseudoflavonifractor	0,00	0,00	0,32	0,09b	1,00	0,07a	0,20	0,04c	0,17	0,04c	<0.01
Synergistaceae i.s	0,00	0,00	0,25	0,06b	0,06	0,02d	1,21	0,13a	0,14	0,03c	<0.01
Rikenellaceae i.s	0,00	0,00	0,58	0,23b	0,00	0,00	0,25	0,06c	0,80	0,16a	<0.01
Staphylococcus	0,00	0,00	0,00	0,00	1,40	0,06a	0,00	0,00	0,05	0,02b	<0.01
Peptococcus	0,47	0,04a	0,19	0,06c	0,08	0,03d	0,33	0,09b	0,28	0,07b	<0.01
Mahella	0,80	0,04a	0,04	0,01c	0,07	0,02c	0,00	0,00	0,43	0,1b	<0.01
Moryella	0,40	0,02b	1,07	0,3a	0,40	0,04b	0,08	0,02c	0,42	0,07b	<0.01
Colinsella	0,25	0,03b	0,37	0,11a	0,00	0,00	0,43	0,11a	0,18	0,05b	<0.01
Subdoligranulum	0,00	0,00	0,17	0,05b	0,70	0,07a	0,15	0,04b	0,08	0,02c	<0.01

Tablo 20. Cins düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları (Devam)

Cins	Gruplar										p Value
	DB		DS		NE		BV		AB		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Eubacterium	0,00	0,00	0,30	0,1b	0,00	0,00	0,70	0,18a	0,00	0,00	<0.01
Anaerospobacter	0,50	0,04a	0,18	0,06b	0,20	0,03b	0,11	0,02c	0,00	0,00	<0.01
Coriobacteriaceae i.s	0,00	0,00	0,03	0,01c	0,60	0,03a	0,00	0,00	0,31	0,08b	<0.01
Helicobacter	0,00	0,00	0,19	0,05b	0,30	0,04a	0,34	0,07a	0,10	0,03c	<0.01
Gracilibacter	0,45	0,03a	0,36	0,11b	0,00	0,00	0,02	0,01d	0,09	0,03c	<0.01
Anaerobutyricum	0,60	0,04a	0,09	0,04c	0,00	0,00	0,20	0,06b	0,00	0,00	<0.01
Caecibacterium	0,40	0,02a	0,11	0,04c	0,30	0,04b	0,03	0,01d	0,03	0,01d	<0.01
Gemmiger	0,60	0,06a	0,06	0,03c	0,00	0,00	0,11	0,02b	0,10	0,03b	<0.01
Moraxella	0,80	0,09a	0,03	0,02b	0,02	0,02b	0,00	0,00	0,00	0,00	<0.01
Anaerostipes	0,00	0,00	0,25	0,10a	0,30	0,05a	0,14	0,04b	0,10	0,02b	<0.01
Marinilabiliaceagen	0,00	0,00	0,04	0,01b	0,05	0,02b	0,33	0,08a	0,37	0,08a	<0.01
Campylobacter	0,00	0,00	0,15	0,04b	0,16	0,04b	0,10	0,02c	0,37	0,08a	<0.01
Anaerotruncus	0,00	0,00	0,10	0,03b	0,00	0,00	0,11	0,04b	0,44	0,10a	<0.01
Anaerovorax	0,40	0,03a	0,16	0,05b	0,00	0,00	0,08	0,02c	0,00	0,00	<0.01
Acidaminococcaceae i.s gen	0,40	0,04a	0,04	0,02b	0,00	0,00	0,42	0,14a	0,00	0,00	<0.01
Turcibacter	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,03b	0,47	0,11a	<0.01
Halobacteroides	0,44	0,03a	0,10	0,03b	0,00	0,00	0,05	0,02c	0,00	0,00	<0.01
Odoribacter	0,08	0,02b	0,11	0,04b	0,00	0,00	0,38	0,09a	0,00	0,00	<0.01
Peptostreptococcus	0,10	0,02b	0,10	0,04b	0,05	0,03c	0,03	0,01c	0,21	0,05a	<0.01
Leuconostoc	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,04a	0,00	0,00	0,19	0,03b	<0.01
Caecibacteroides	0,20	0,03a	0,05	0,02b	0,00	0,00	0,23	0,08a	0,00	0,00	<0.01
Anaeromicrobium	0,30	0,02a	0,07	0,04c	0,00	0,00	0,11	0,02b	0,00	0,00	<0.01
Holospora	0,30	0,04a	0,15	0,05b	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<0.01
Cloacibacillus	0,00	0,00	0,13	0,05b	0,00	0,00	0,28	0,05a	0,03	0,02c	<0.01

Tablo 20. Cins düzeyinde gruplar arası istatistiksel analiz sonuçları (Devam)

Cins	Gruplar										p Value
	DB		DS		NE		BV		AB		
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Phascolarctobacterium	0,00	0,00	0,19	0,07b	0,00	0,00	0,45	0,08a	0,00	0,00	<0.01
Lachnospira	0,00	0,00	0,18	0,06a	0,00	0,00	0,05	0,02b	0,16	0,03a	<0.01
Stomatobaculum	0,00	0,00	0,09	0,04b	0,00	0,00	0,23	0,08a	0,05	0,02c	<0.01
Syntrophomonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,02b	0,02	0,01c	0,22	0,08a	<0.01
Hyphomicrobiaceae gen	0,10	0,02a	0,04	0,02b	0,00	0,00	0,03	0,01b	0,09	0,03a	<0.01
Dorea	0,00	0,00	0,10	0,03b	0,00	0,00	0,13	0,04a	0,00	0,00	<0.01
Paenibacillus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	0,07	0,00	0,00	-
Bifidobacterium	0,06	0,02	0,05	0,03	0,00	0,00	0,05	0,03	0,00	0,00	0.244
Enterococcus	0,08	0,02a	0,02	0,02c	0,00	0,00	0,04	0,02b	0,00	0,00	<0.01
Caldicoprobacter	0,09	0,02a	0,05	0,02b	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<0.01
Catabacteriaceae i.s	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,03	-
Spiroplasma	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,03b	0,00	0,00	0,09	0,02a	<0.01
Acheloplasma	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01b	0,00	0,00	0,06	0,02a	<0.01
Robinsoniella	0,00	0,00	0,03	0,01	0,00	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0.332
Megamonas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,01	0,00	0,00	-
Lactonifactor	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,02	0,00	0,00	-
Intestinibacillus	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,02	0,00	0,00	-
Synergistes	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,01	0,00	0,00	-
Carnobacterium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,01	-

Tablo 21. Cins düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması.

Cins	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
Faecalibacterium	8,50	21,94	0,00	20,25	21,06
Enterobacteriaceae gen	14,00	2,36	38,70	3,37	3,78
Clostridium	6,70	7,93	20,30	8,41	4,85
Bacteroides	4,50	11,18	0,15	3,10	17,72
Ruminiclostridium	4,70	9,62	0,00	1,35	7,66
Rikenella	3,60	4,00	0,00	1,86	13,73
Porphyromonas	11,00	0,74	0,90	8,54	1,23
Erysipelatoclostridium	2,10	0,00	16,10	0,04	0,62
Clostridiaceae i.s	0,00	5,35	3,40	7,19	2,30
Alistipes	4,90	4,50	0,00	3,29	5,09
Coprococcus	5,10	3,86	0,05	4,30	1,19
Lachnoclostridium	0,00	7,36	0,00	5,02	0,00
Flavonifractor	2,20	0,86	0,70	1,89	0,46
Acetanaerobacterium	0,00	0,92	0,90	3,25	0,81
Ruminococcus	1,10	2,36	0,00	1,39	0,74
Veillonella	4,30	0,03	0,00	0,90	0,00
Desulfovibrio	0,00	0,15	4,30	0,37	0,34
Erysipelotrichaceae i.s	0,03	0,53	1,70	0,92	1,61
Bilophila	0,00	0,76	1,50	0,89	1,33
Lachnospiraceae i.s	1,80	0,03	0,80	0,02	1,66
Oscillibacter	1,20	1,02	0,80	1,14	0,00
Oscillospira	2,30	0,38	0,50	0,68	0,14
Acetivibrio	0,00	0,35	0,00	2,70	0,76
Prevotella	1,80	0,16	0,00	1,44	0,04
Butyrivibrio	0,00	1,38	0,00	1,49	0,42
Christensenella	0,56	1,05	0,05	1,13	0,45
Lactobacillus	0,76	1,06	0,00	0,51	0,81
Ruminococcoides	2,40	0,03	0,50	0,14	0,05

Tablo 21. Cins düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması (Devam)

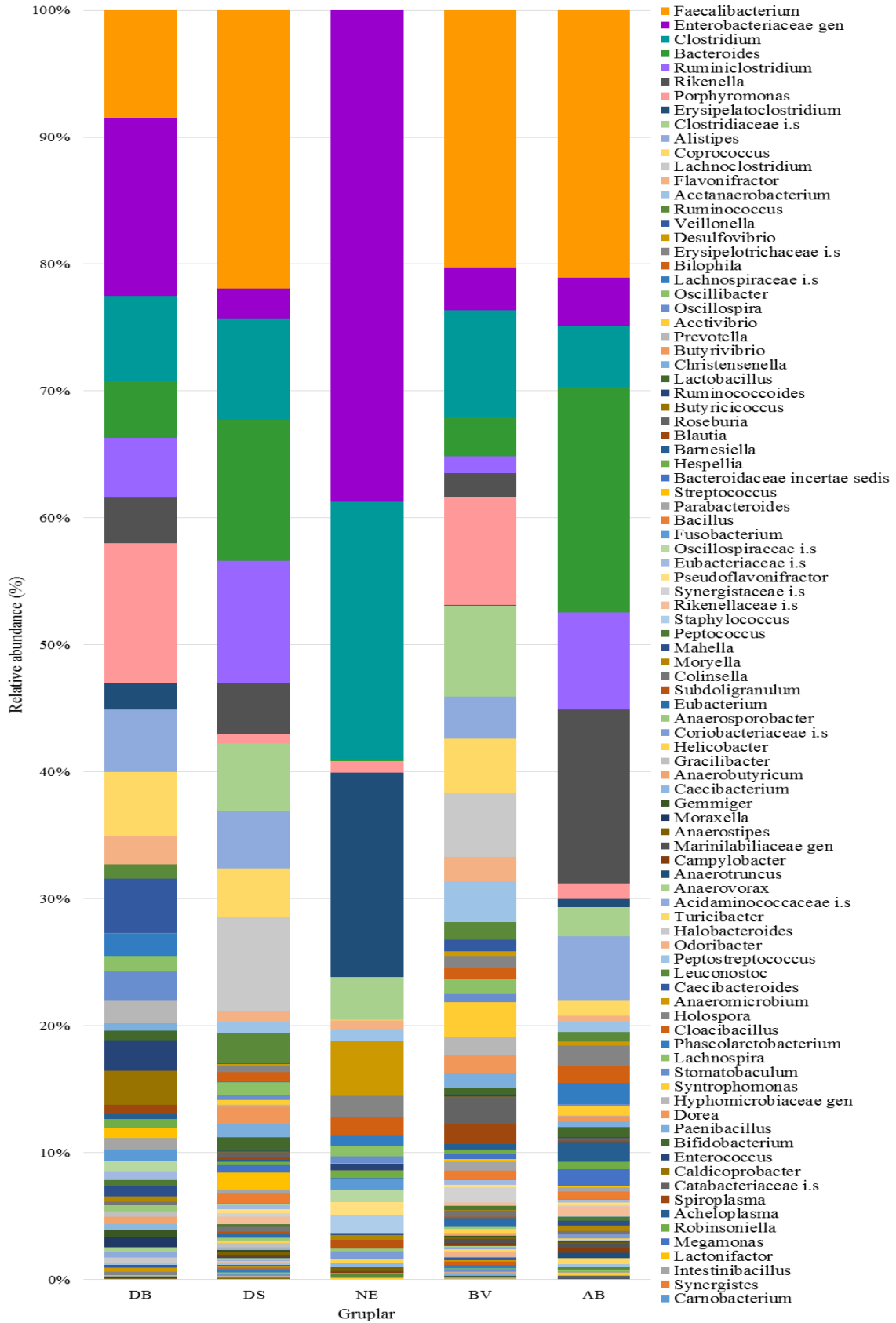
Cins	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
Butyricococcus	2,70	0,08	0,00	0,07	0,00
Roseburia	0,00	0,39	0,05	2,08	0,23
Blautia	0,70	0,20	0,00	1,62	0,08
Barnesiella	0,40	0,14	0,00	0,41	1,54
Hespellia	0,70	0,27	0,60	0,34	0,58
Bacteroidaceae i.s	0,00	0,61	0,03	0,42	1,38
Streptococcus	0,80	1,29	0,00	0,19	0,10
Parabacteroides	0,90	0,28	0,00	0,71	0,29
Bacillus	0,00	0,83	0,00	0,67	0,61
Fusobacterium	0,90	0,05	0,90	0,07	0,02
Oscillospiraceae i.s	0,83	0,03	0,90	0,02	0,00
Eubacteriaceae i.s	0,70	0,40	0,05	0,36	0,23
Pseudoflavonifractor	0,00	0,32	1,00	0,20	0,16
Synergistaceae i.s	0,00	0,25	0,06	1,21	0,14
Rikenellaceae i.s	0,00	0,58	0,00	0,25	0,80
Staphylococcus	0,00	0,00	1,40	0,00	0,05
Peptococcus	0,47	0,19	0,08	0,33	0,28
Mahella	0,80	0,04	0,07	0,00	0,42
Moryella	0,40	0,00	0,40	0,08	0,41
Colinsella	0,25	0,37	0,00	0,43	0,18
Subdoligranulum	0,00	0,17	0,70	0,15	0,08
Eubacterium	0,00	0,30	0,00	0,70	0,00
Anaerosporobacter	0,50	0,18	0,20	0,11	0,00
Coriobacteriaceae i.s	0,00	0,03	0,60	0,00	0,31
Helicobacter	0,00	0,19	0,30	0,34	0,09
Gracilibacter	0,45	0,36	0,00	0,02	0,09
Anaerobutyricum	0,60	0,09	0,00	0,20	0,00
Caecibacterium	0,40	0,11	0,30	0,03	0,03

Tablo 21. Cins düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması (Devam)

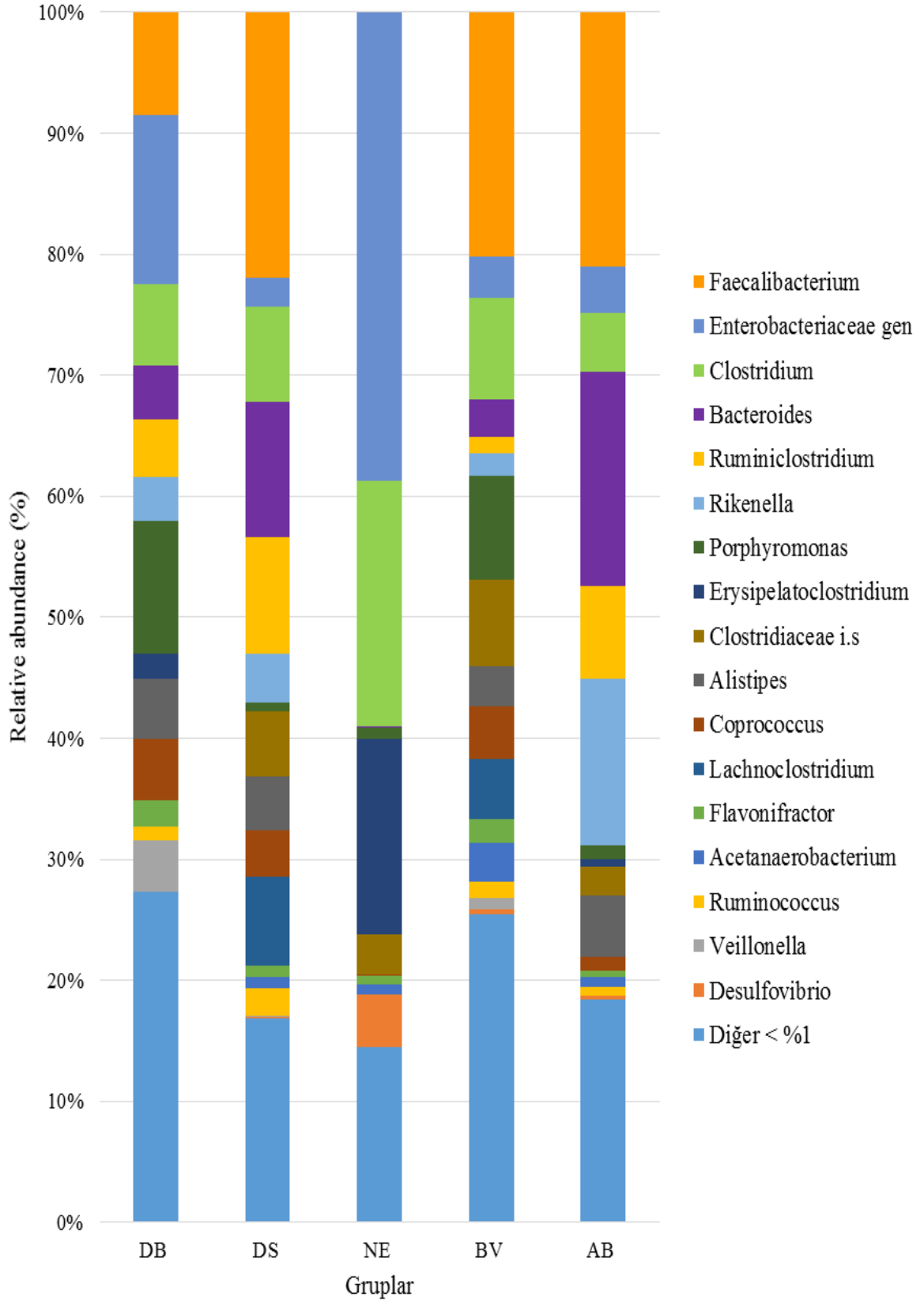
Cins	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
Gemmiger	0,60	0,06	0,00	0,11	0,09
Moraxella	0,80	0,03	0,02	0,00	0,00
Anaerostipes	0,00	0,26	0,30	0,14	0,09
Marinilabiliaceae gen	0,00	0,04	0,05	0,33	0,37
Campylobacter	0,00	0,16	0,16	0,10	0,36
Anaerotruncus	0,00	0,10	0,00	0,11	0,44
Anaerovorax	0,40	0,16	0,00	0,08	0,00
Acidaminococcaceae i.s	0,40	0,04	0,00	0,19	0,00
Turcibacter	0,00	0,00	0,00	0,14	0,46
Halobacteroides	0,44	0,10	0,00	0,05	0,00
Odoribacter	0,08	0,12	0,00	0,38	0,00
Peptostreptococcus	0,10	0,10	0,05	0,03	0,21
Leuconostoc	0,00	0,00	0,30	0,00	0,19
Caecibacteroides	0,20	0,05	0,00	0,23	0,00
Anaeromicrobium	0,30	0,07	0,00	0,11	0,00
Holospora	0,30	0,15	0,00	0,00	0,00
Cloacibacillus	0,00	0,13	0,00	0,29	0,03
Phascolarctobacterium	0,00	0,19	0,00	0,23	0,00
Lachnospira	0,00	0,18	0,00	0,05	0,16
Stomatobaculum	0,00	0,09	0,00	0,23	0,04
Syntrophomonas	0,00	0,00	0,10	0,02	0,22
Hyphomicrobiaceae gen	0,10	0,04	0,00	0,03	0,09
Dorea	0,00	0,10	0,00	0,13	0,00
Paenibacillus	0,00	0,00	0,00	0,16	0,00
Bifidobacterium	0,06	0,05	0,00	0,05	0,00
Enterococcus	0,08	0,02	0,00	0,04	0,00
Caldicoprobacter	0,09	0,05	0,00	0,00	0,00

Tablo 21. Cins düzeyinde gruplar arası oranların karşılaştırılması (Devam)

Cins	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
Catabacteriaceae i.s	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11
Spiroplasma	0,00	0,00	0,02	0,00	0,08
Acheloplasma	0,00	0,00	0,01	0,00	0,06
Robinsoniella	0,00	0,03	0,00	0,02	0,00
Megamonas	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
Lactonifactor	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
Intestinibacillus	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
Synergistes	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00
Carnobacterium	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03



Şekil 15. Gruplar arası cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması.

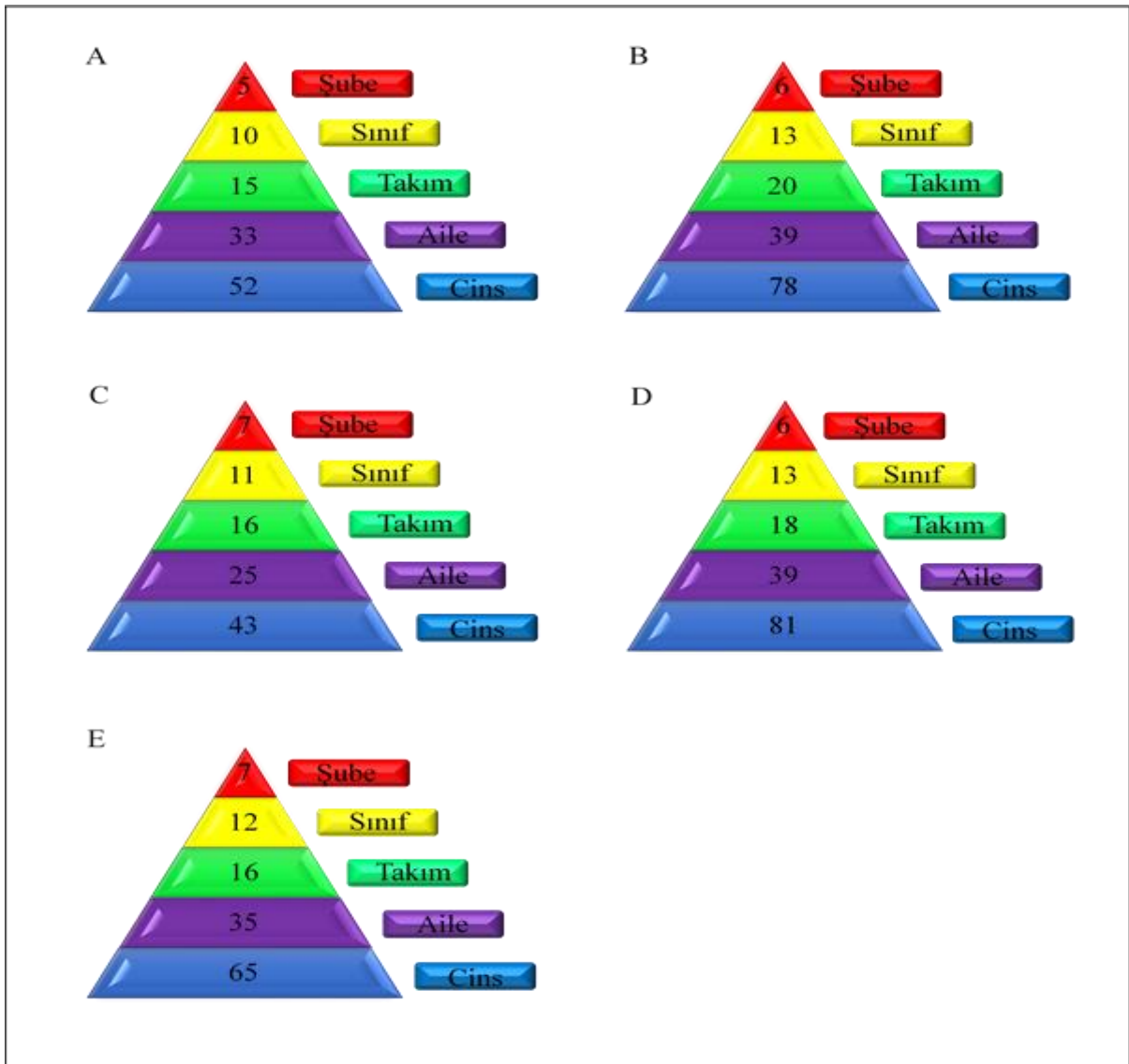


Şekil 16. Gruplar arası cins düzeyindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak relatif yoğunluklarının karşılaştırılması (< %1).

* Her bir cins için tüm grupların ortalaması göz önünde bulundurularak yapılan hesaplama ile ortalaması %1'in altında kalan cinsler ayrı ayrı şekilde dahil edilmemiş olup toplamları "Diğer < %1" ismiyle şekilde dahil edilmiştir.

4.3.2. Takson Zenginliği

Grupları oluşturan tavuklardan alınan örneklerdeki şube, Sınıf, Takım, Aile, Cins düzeylerindeki bakteri topluluklarının taksonomik olarak nicel değişimleri incelendiğinde, bakteri zenginliği açısından DS grubuna en yakın grubun *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen BV grubu olduğu tespit edilirken, Deneme başlangıcı grubu (DB), *C. perfringens* verilen grup (NE) ve *C. perfringens* + amoksisilin verilen grupta (AB) taksonomik çeşitliliğin DS grubundan daha az olduğu görüldü (şekil 17).



şekil 17. Taksonomik basamaklara göre gruplar arası takson sayıları. A) Deneme başlangıcı kontrol grubu (DB) B) Deneme sonrası kontrol grubu (DS) C) *C. perfringens* verilen grup (NE) D) *C.perfringens*+ *B. velezensis* verilen grup (BV) E) *C. perfringens* + amoksisilin verilen grup (AB).

4.3.3. Gruplar Arası Ortak Taksonlar

Gruplar şube düzeyinde karşılaştırıldığında DS grubu ve BV grubunda ortak 6 adet şube (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Synergistetes*, *Fusobacteria*) belirlendi. NE ve AB gruplarında ise DS ve BV gruplarındaki şubelere ek olarak *Tenericutes* grubuna ait bakteriler de görüldü. DB grubunda ise DS grubu ile ortak 5 şube (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*) olduğu tespit edildi (Tablo 22).

Tablo 22. Şube taksonunda gruplar arası farklılıklar: Var- Yok-

Şube	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
<i>Firmicutes</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Bacteroidetes</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Proteobacteria</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Actinobacteria</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Synergistetes</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Fusobacteria</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Tenericutes</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Gruplar aile düzeyinde karşılaştırıldığında, zenginlik bakımından DS grubuna en yakın grubun 34 ortak aile ile BV olduğu saptandı. DB grubu ile DS grubu arasında 32, AB grubu ile DS grubu arasında 28, NE grubu ile DS grubu arasında ise 21 ortak aile olduğu tespit edildi (Tablo 23).

Tablo 23. Aile taksonunda gruplar arası farklılıklar: Var- Yok-

Aile	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
<i>Oscillospiraceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Clostridiaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Enterobacteriaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Lachnospiraceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Rikenellaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Bacteroidaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Erysipelotrichaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Porphyromonadaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Desulfovibrionaceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Veillonellaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Lactobacillaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Prevotellaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Christensenellaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Eubacteriaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Barnesiellaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Coriobacteriaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Tablo 23. Aile taksonunda gruplar arası farklılıklar: Var- Yok- (Devam)

Aile	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
<i>Tannerellaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Synergistaceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Bacillaceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Fusobacteriaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Staphylococcaceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Peptococcaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Thermoanaerobacterales fam IV i.s</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Acidaminococcaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Gracilibacteraceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Helicobacteraceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Eubacteriales i.s fam</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Moraxellaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Marinilabiliaceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Campylobacteraceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Eubacteriales fam XIII i.s</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Turicibacteraceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>HaloBacteroidaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Odoribacteraceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>PeptoStreptococcaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Holosporaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Syntrophomonadaceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Hyphomicrobiaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>PaeniBacillaceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Bifidobacteriaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Caldicoprobacteraceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Enterococcaceae</i>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Spiroplasmataceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Acheloplasmataceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
<i>Selenomonadaceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Carnobacteriaceae</i>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Gruplar cins düzeyinde karşılaştırıldığında, zenginlik bakımından DS grubuna en yakın grubun 72 ortak cins ile BV olduğu saptandı. DB grubu ile DS grubu arasında 50, AB grubu ile DS grubu arasında 55, NE grubu ile DS grubu arasında ise 36 ortak cins olduğu tespit edildi (Tablo 24).

Tablo 24. Cins taksonunda gruplar arası farklılıklar: Var- Yok-

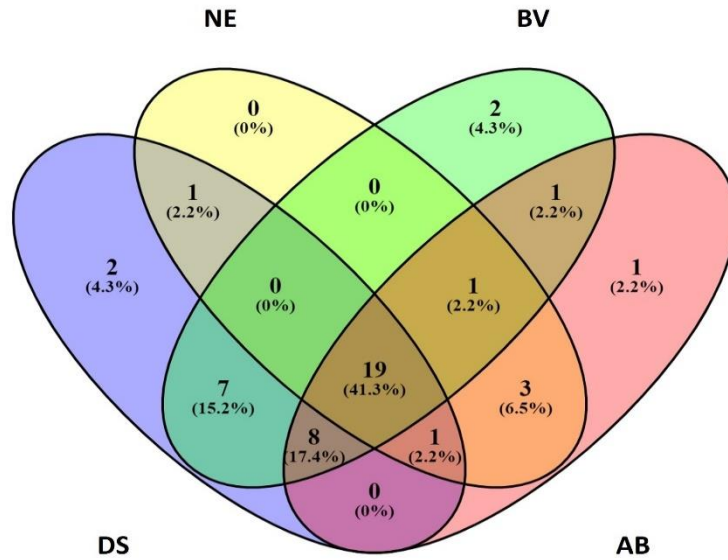
Cins	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
Faecalibacterium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Enterobacteriaceae gen	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Clostridium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bacteroides	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ruminiclostridium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rikenella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Porphyromonas	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Erysipelatoclostridium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Clostridiaceae i.s	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Alistipes	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Coprococcus	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lachnoclostridium	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Flavonifractor	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Acetanaerobacterium	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ruminococcus	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Veillonella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Desulfovibrio	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Erysipelotrichaceae i.s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bilophila	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lachnospiraceae i.s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Oscillibacter	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Oscillospira	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Acetivibrio	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prevotella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Butyrivibrio	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Christensenella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lactobacillus	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ruminococcoides	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Butyricoccus	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Roseburia	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Blautia	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Barnesiella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Hespella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bacteroidaceae i.s	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Streptococcus	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Parabacteroides	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bacillus	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fusobacterium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Oscillospiraceae i.s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Eubacteriaceae i.s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pseudoflavonifractor	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Synergistaceae i.s	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Rikenellaceae i.s	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Staphylococcus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Peptococcus	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mahella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Tablo 24. Cins taksonunda gruplar arası farklılıklar: Var- Yok- (Devam)

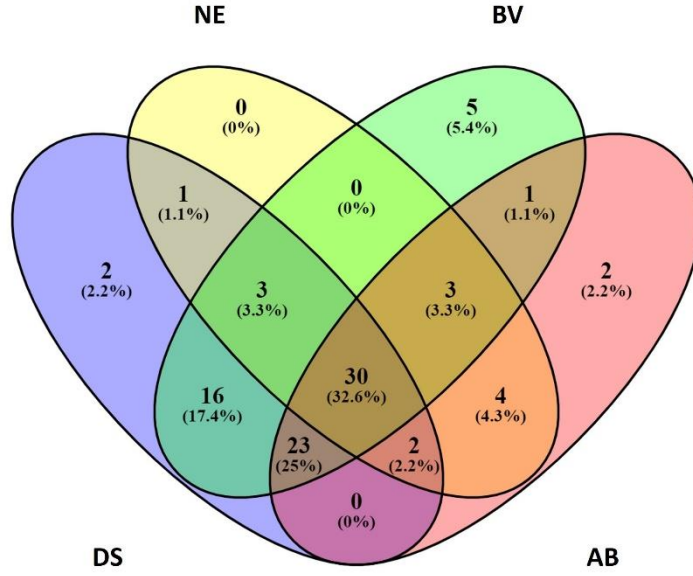
Cins	DB %	DS %	NE %	BV %	AB %
Moryella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Colinsella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Subdoligranulum	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Eubacterium	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anaerosporobacter	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Coriobacteriaceae i.s	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Helicobacter	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Gracilibacter	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Anaerobutyricum	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Caecibacterium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Gemmiger	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Moraxella	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anaerostipes	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Marinilabiliaceae gen	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Campylobacter	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Anaerotruncus	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Anaerovorax	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Acidaminococcaceae i.s	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Turcibacter	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Halobacteroides	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Odoribacter	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Peptostreptococcus	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Leuconostoc	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Caecibacteroides	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anaeromicrobium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Holospira	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cloacibacillus	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Phascolarctobacterium	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lachnospira	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Stomatobaculum	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Syntrophomonas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Hyphomicrobiaceae gen	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Dorea	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Paenibacillus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bifidobacterium	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Enterococcus	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Caldicoprobacter	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Catabacteriaceae incertae sedis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Spiroplasma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Acheloplasma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Robinsoniella	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Megamonas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lactonifactor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Intestinibacillus	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Synergistes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Carnobacterium	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

4.3.4. Venn Diyagramı

Gruplar arasındaki sayısal ilişkiyi görselleştirmek amacıyla kullanılan Venn Diyagramı ile aile ve cins düzeyinde deneme sonrası kontrol grubu (DS), *C. perfringens* verilen grup (NE), *C. perfringens*+ *B. velezensis* verilen grup (BV), *C. perfringens* + amoksisilin verilen grup (AB) arasında ortak olan bakteri gruplarının sayıları ve oranları gösterildi (Şekil 18, Şekil 19). Diyagrama göre aile ve cins zenginliği açısından DS grubuna en benzer grup BV iken en farklı grup NE olarak belirlendi. AB grubu BV grubundan sonra DS grubuna en yakın olan ikinci grup olarak tespit edildi. DB grubu ise NE grubundan sonra aile ve cins zenginliğinin en az olduğu grup olarak belirlendi. Aile düzeyinde; DS ve BV grubu, DS ve AB grubu, DS ve NE grubu, DS ve DB grubu arasındaki benzerlik sırasıyla %73,9, %70,09, %45,7, %84,21 olarak saptandı (Şekil 18). Cins düzeyinde; DS ve BV grubu, DS ve AB grubu, DS ve NE grubu, DS ve DB grubu arasındaki benzerlik sırasıyla %78,3, %60,9, %39,2, %63,29 olarak tespit edildi (Şekil 19).



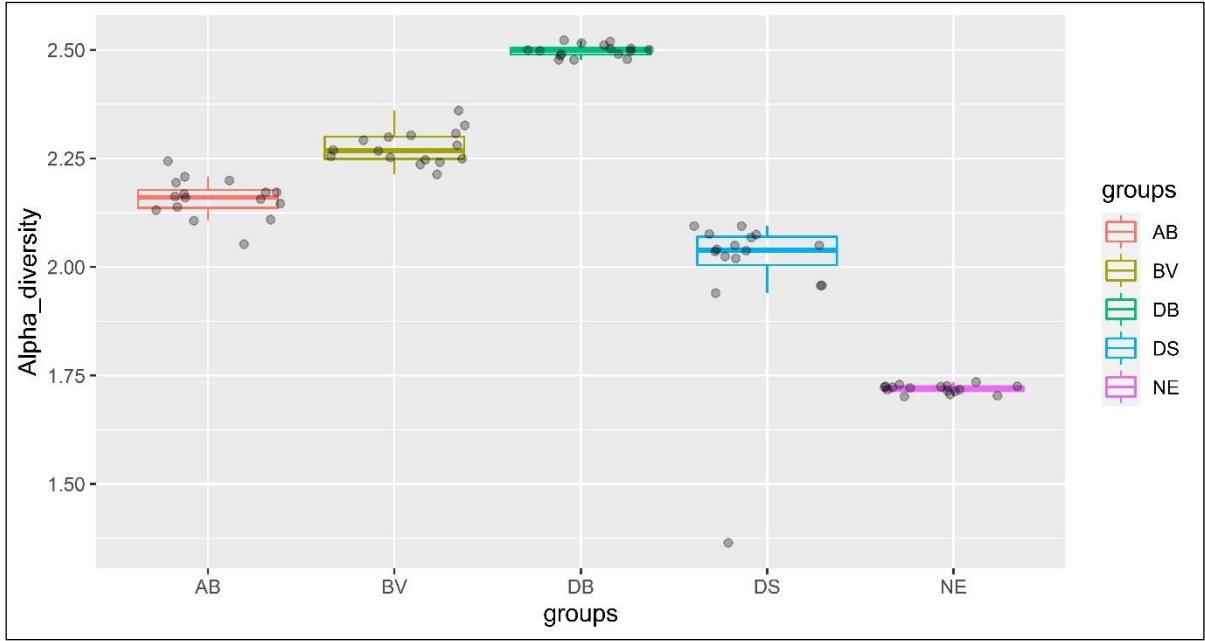
Şekil 18. Aile düzeyinde Venn Diyagramı.



Şekil 19. Cins düzeyinde Venn Diyagramı.

4.3.5. Alfa Çeşitlilik

Deneme başlangıcı ve deneme sonrası grupları ile *C. perfringens*+coccidiosis, *B. velezensis* ve antibiyotik uygulanan gruplardan deneme sonunda toplanan sekum örneklerine ait alfa çeşitlilik analizi yapıldı. Bu analiz beş farklı deneme grubuna ait OTU (operational taxonomic unit)'ların sayısal olarak karşılaştırılmasını sağlamaktadır. Analiz sonucu Şekil 20'de gösterildiği gibidir. İndisin sonucuna göre DB çeşitliliğinin ve NE grubundaki çeşitliliğin düşük olduğu ancak, DS, BV ve AB gruplarındaki çeşitliliğin yüksek ve anlamlı olduğu görüldü (Kruskal-Wallis chi-squared = 74.475, df = 4, p-value = 2.573e-15).

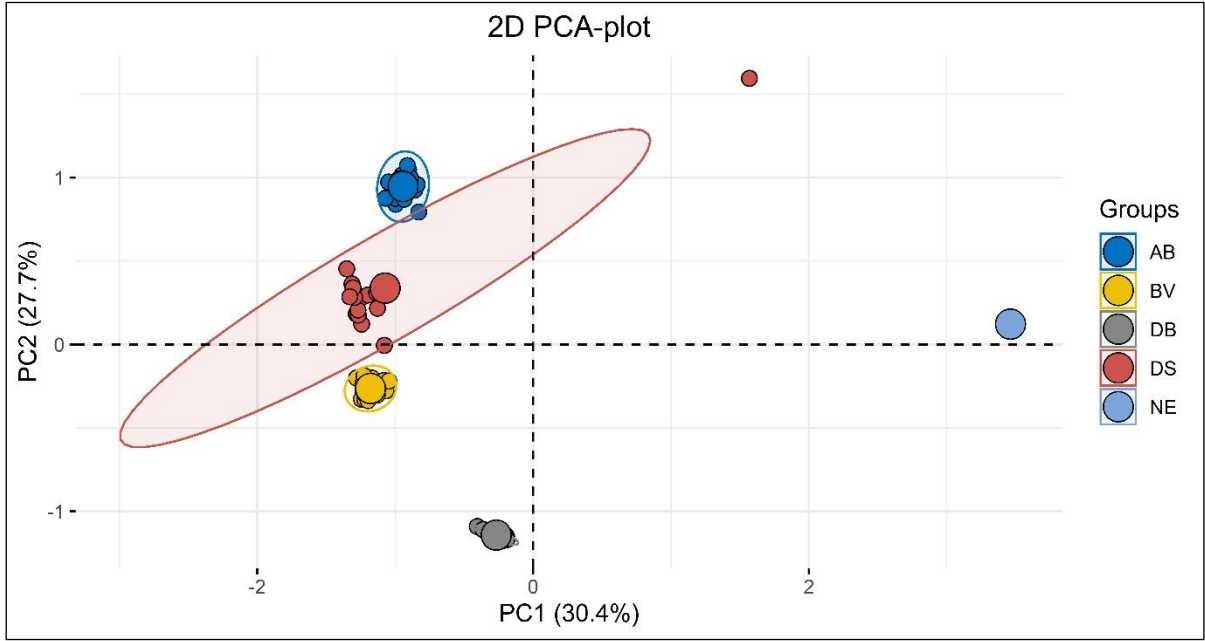


Şekil 20. Gruplara ait Alpha- diversity skorları.

Alpha- diversity skorları denemede kullanılan 5 grubun ortalama değerlerine göre sınıflandırıldı (Kruskal-Wallis chi-squared = 74.475, df = 4, p-value = 2.573e-15).

4.3.6. Beta Çeşitlilik

Gruplar arası bileşenlerde önemli farklılıklar olduğu görüldü. Gruplar arasındaki varyasyonların %30.4'ü açıklanabildi (Şekil 21). Sağlıklı kontrollere en yakın grubun BV olduğu bunu AB grubunun takip ettiği anlaşıldı. Deneme başlangıcındaki normal hayvanların mikrobiyomundaki beta- çeşitliliğin düşük olduğu belirlendi. En düşük beta- çeşitlilik NE grubunda bulundu.



Şekil 21. Graplardan elde edilen mikrobiyom analiz sonucunun Bray-Curtis indisine göre benzerliklerinin Principal Coordinat Analizi (PCA-plot).

5. TARTIŞMA

Nekrotik Enteritis mikrobiyotik topluluk yapısını değiştirebilen şiddetli bir bağırsak hastalığıdır (Stanley ve diğerleri, 2014). Nekrotik enteritisin oluşmasına sebep olan birçok predispozan faktörü vardır, ancak balık unu en önemli faktörlerden biridir. Bildirildiği gibi, balık unu içeren yemler, bağırsak tarafından salgılanan mukus miktarını artırmakta ve bağırsak içeriğini viskoz hale getirmektedir, bu durum patojenlerin çoğalmasını indükleyebilmekte ve sonunda nekrotik enteritis infeksiyonuna yol açabilmektedir (Shojadoost ve diğerleri, 2012). Bunun nedeni, α toksin, NetB toksin ve enzimler üretebilen *C. perfringens*'in işleyişidir (Takehara ve diğerleri, 2016). Konağın mikrobiyotası, besinleri emerek, büyümeyi ve metabolizmayı hızlandırarak, zararlı bakterilere karşı koruyarak ve yeri doldurulamaz bir şekilde bağışıklık sistemini modüle ederek hayvan sağlığında önemli bir rol oynamaktadır. Bu alışma, *B. velezensis*'in bağırsak mikrobiyomunu olumlu yönde etkilediğini gösterdi. Bunun nedenin, *B. velezensis*'in endotoksin ve patojenlerin bağırsak mukozasından kana geçmesini durdurabilen bağırsak bariyeri yeteneğini arttırabilmesi, kendi ürettiği metabolitler sayesinde hayatta kalabilmesi, antimikrobiyal etki göstermesi olabileceği düşünöldü. *B. velezensis* bağışıklık organlarının büyümesini ve immunglobulin seviyesini arttırabilmekte, lenfositleri aktive edebilmekte, hücresel bağışıklığı ve humoral bağışıklığı iyileştirebilmektedir (Deng ve diğerleri, 2012). Aynı zamanda, *B. velezensis*'in hayvanlardaki bağırsak mikrobiyotasının modölyasyonunda ve patojenlerin sayısını azaltmada görevli olduğu düşünölmektedir. Ayrıca lizozim, bakteriyosin, antifungal protein, antibiyotik, fosfolipidler, amino asitler ve polienoid gibi birçok biyoaktivatör de üretebilmektedir (Kim ve diğerleri, 2004).

Çalışmada, DS grubundaki sekal topluluklar esas olarak *Firmicutes*, *Bacteroidetes* ve *Proteobacteria* şubeleri tarafından kolonize edilmiştir, bu da normal tavuklarla yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur (Qu ve diğerleri, 2008; Wei ve diğerleri, 2013; Oakley ve diğerleri, 2014; Yang ve diğerleri, 2019). BV grubunun sonuçları DS grubu ile yakın benzerlik gösterdi. NE grubunda *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* oranı azalırken *Proteobacteria* oranın önemli ölçüde arttığı göröldü. AB grubunda ise *Firmicutes* oranı azalırken *Bacteroidetes* şubesi oranının yaklaşık iki katına çıktığı tespit edildi. *Firmicutes* şubesindeki bakteriler (*Anaerotruncus*, *Anaerostipes*, *Faecalibacterium*, *Megasphaera*, *Oscillibacter*,

Subdoligranum ve Butyrivibrio vb.) ile *Bacteroidetes* şubesinin temsilcileri (Alistipes, Bacteroides, Parabacteroides, Paraprevotella, Prevotella, Tannerella vb.) bütirat ve propiyonat gibi SCFA'ların sentezine yardımcı olan enzimleri içermektedir (Polansky ve diğerleri, 2016). Kısa zincirli yağ asitleri sekumda epitelyum boyunca pasif difüzyon yoluyla emilmekte ve çeşitli metabolik yollara girmektedirler (Pan ve Yu, 2014). Ayrıca, kısa zincirli yağ asitleri bağırsak kan akışını düzenlemekte, enterosit büyümesini ve çoğalmasını uyarmakta, müsin üretimini düzenlemekte ve bağırsak immünesini etkilemektedir (Tellez ve diğerleri, 2006; Pan ve Yu, 2014). NE grubunda *Firmicutes* ve *Bacteroidetes* filumuna ait bakterilerin azalmasıyla zayıflayan bağırsak immünesinin, Gram (-) mikrobiyom olarak çeşitli patojenik bakteriler içeren ve konakçıda inflamatuvar yanıtı neden olmak için lipopolisakkaritler üreten *Proteobacteria* şubesine ait bakterilerin sayısını arttırdığı düşünüldü. AB grubunda değişen *Firmicutes/Bacteroidetes* oranının antibiyotiğin selektif baskısı olduğu düşünüldü.

Lachnospiraceae ailesi bakterileri bağırsak epiteline bağlanmakta ve konakçı bağışıklık sistemini modüle etmektedir (Thompson ve diğerleri, 2013). *Oscillospiraceae* ailesinin bütirat üreten suşları, balık unu varlığında azalmaktadır. Benzer şekilde, balık unu, *Lachnospiraceae* ailesine ait bütirat üreten suşların bolluğunun azalmasına neden olmaktadır. Ayrıca, piliçlere balık unu bazlı bir diyet laktik asit üreten bakterilerde (*Lactobacillus* spp.) azalmaya sebep olmaktadır. Mikrobiyatada oluşan değişiklikler, bağırsak mikrobiyotasının bağışıklık düzenleyici etkilerinin, *C. perfringens*'in nekroz indükleyici aktivitesi üzerindeki etkide kritik bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Bütirat üreten bakterilerle kolonizasyon, bağırsaktaki iltihaplanmaya karşı koymada ve bağırsak bütünlüğünü korumada kilit bir rol oynamaktadır. Laktik asit bakterileri, laktat kullanan ve bütirat üreten *Lachnospiraceae*'nin kolonizasyonunu uyarmaktadır (Antonissen ve diğerleri, 2016). Çalışmamızda *Oscillospiraceae* ve *Lachnospiraceae* oranı DS ve BV gruplarında birbirine yakinken, NE grubunda oranın önemli ölçüde azaldığı tespit edildi. AB grubunda ise *Oscillospiraceae* oranı DS grubuna yakinken, *Lachnospiraceae* oranının önemli ölçüde azaldığı görüldü. *Enterobacteriaceae* en yoğun olarak NE grubunda gözlemlendi. Bu aile, hem insanların hem de tavukların bağırsaklarında kolonize olabilen ve sonuç olarak belirli hastalıkları tetikleyebilen enterik patojenleri içermektedir (Mora ve diğerleri, 2010). Çalışmamızda NE grubunda *Enterobacteriaceae* ailesine ait oranın (%38,7) anlamlı derecede arttığı belirlendi. BV grubunun ise DS grubuna yakın bir orana sahip olduğu tespit edildi. Bortoluzzi ve diğerleri (2019) de yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir. *C. perfringens*'in *Oscillospiraceae* ailesine ait bakterileri azalttığını,

Enterobacteriaceae ailesine ait bakterileri arttırdığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda, NE grubunda Clostridium cinsine ait oranın artmasıyla Clostridiaceae'nın NE grubunda en baskın ikinci aile olduğu saptandı. Sonuç Kiu ve diğerleri (2019)'nin yaptıkları çalışma ile uyumludur.

Çalışma cins düzeyinde değerlendirildiğinde, normal tavuklarda (DS grubu) sekumun mikrobiyal kompozisyonunda en çok bulunan cinslerin Faecalibacterium (%21,94), Bacteroides (%11,18) ve Ruminiclostridium (%9,62) olduğu görüldü. Yapılan bazı çalışmalarda ise farklı sonuçlar elde edilmiştir. Callaway ve diğerleri (2009)'nin yaptıkları çalışmada en yüksek oranda bulunan cinsler Bacteroides ve Prevotella iken, Stanley ve diğerleri (2012) Clostridium, Lactobacillus ve Bacteroides'in baskın olduğunu belirtmişlerdir. Yang ve diğerleri (2019)'nin yapmış olduğu çalışmada, Bacteroides (%75,5) sekumda en bol bulunan cins olarak belirlenmiştir, bunu diğer sınıflandırılmamış cins (%17,2), *Escherichia shigella* (%3,1), Eisenbergiella (%1,7) ve Anaerotruncus (%1,5) izlemiştir. Bu farklılıkların konak immun sistem farklılıkları, besleme rejimleri ve analitik tekniklerdeki farklılıkları yansıtıyor olabileceği ve bu nedenle tavuk sekum mikrobiyomlarını sağlıklı veya sağlıksız olarak tanımlamanın uygun olmayacağı düşünüldü. Segmentli Filamentöz Bakteriler (SFB) bağırsak epiteline bağlanmaları ve Th17 hücreleri ile immünoglobulin A (IgA) üreten plazma hücrelerinin farklılaşmasını ve çoğalmasını teşvik ederek bağırsakla ilişkili lenfoid dokunun olgunlaşmasını desteklemeleri ve konakçı bağışıklık sistemini modüle etmedeki önemli rolleri ile karakterize edilmektedirler (Thompson ve diğerleri, 2013; Ericsson ve diğerleri, 2014). *C. perfringens*'e maruz kalan tavuklarda (NE grubu) Clostridium ve Enterobacteraceae gen'in önemli derecede arttığı, Faecalibacterium, Ruminiclostridium, Lachnoclostridium, Lactobacillus, *Bacteroidetes* şubesinin SBF grubunda yer alan Bacteroides, Rikenella, Alistipes, Prevotella, Barnesiella, Bacteroidaceae incertae sedis, Parabacteroides, Rikenellaceae incertae sedis, Odoribacter, Caecibacteroides'in ise önemli derecede azaldığı gözlemlendi. DS grubuna en benzer grubun ise BV ve AB grubu olduğu belirlendi. BV grubunda Faecalibacterium oranı (%20,25) DS grubu ile benzerlik gösterirken, Bacteroides ve Ruminiclostridium oranlarının azaldığı gözlemlendi. Kiu ve diğerleri (2019) yaptıkları çalışma sonucunda NE olan grupta Clostridium sayılarının fazla olduğunu ve Blautia cinsinin, hasta hayvanların sekum mikrobiyomlarında sağlıklı hayvanlara oranla daha az oranda bulunduğunu ifade etmişlerdir. Sonuçlar çalışmamızla uyumludur. Kilo alımı ve büyüme performansı için faydalı olan bir probiyotik olarak tanımlanan Bacteroides cinsinin hayvanların bağırsak sağlığına önemli bir katkı sağladığı düşünülmektedir (Cummings ve diğerleri, 2001; Zeng ve diğerleri, 2015; Chang

ve diğeri, 2016). *Bacteroides* normal bir bağırsak florası üyesidir (Rocha ve Smith, 2013). *Bacteroides*'in fermantasyon ürünleri, *C. perfringens* sporlanmasını engellemekte ve *Bacteroides* cinsinin tükenmesi, hayvan bağırsağını *C. perfringens* infeksiyonuna ve gastroenteritise yatkın hale getirebilmektedir (Wrigley, 2004). Ancak *Bacteroides* patojenik bir forma da dönüşebilmektedir ve bağırsak patolojik olarak değiştiğinde veya flora bozulduğunda miktarı artabilmektedir (Rocha ve Smith, 2013). Önceki araştırmalar, bir *Bacteroides* üyesinin hücre yüzeyi molekülleri üretebileceğini göstermektedir. Bu organizma tarafından üretilen hücre yüzeyi molekülleri, kolonizasyonda, diğeri mikroplarla iletişimde ve patojenitede önemli roller oynamaktadır (Wilson ve diğeri, 2015) ve hatta bağırsak karsinomunu indüklemektedir (Kelly ve diğeri, 2004). Ayrıca antibiyotikler (örneğin karbapenemler) gibi antimikrobiyal ajanlara karşı direnci artırabilmektedir (Fernández-Canigia ve diğeri, 2012; Treviño ve diğeri, 2012). Lin ve diğeri (2017) yaptıkları çalışmada negatif kontrol grubundaki *Bacteroides* oranının, *C. perfringens* ve *B. licheniformis* gruplarından daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. En düşük *Bacteroides* spp. oranının *C. perfringens* grubunda olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edildi. BV ve NE grubunda DS grubuna göre daha az oranda *Bacteroides* görüldü. Ayrıca *Bacteroides* en çok AB grubunda gözlenirken, en az oranda NE grubunda görüldü. *B. velezensis*'in *Bacteroides* varlığının korunmasında önemli bir role sahip olmadığı, *Bacteroides*'in AB grubunda artmasının sebebinin ise antibiyotiğin selektif baskısı olduğu düşünüldü.

Lactobacillus'lar, laktik asit üreten bakteriler olarak bilinmektedir. Ayrıca patojenlerle rekabet ederek bağırsak bariyerini korumakta, immünomodülasyonu indüklemekte ve aside duyarlı patojenik bakterilerin büyümesini engellemek için karbonhidratları bağırsak ortamının pH'sini düşüren laktik asitlere fermente edebilmektedir (Belenguer ve diğeri, 2007; Sengupta ve diğeri, 2013). Yapılan farklı çalışmalarda, balık unu ve coccidia ile birlikte verilen *C. perfringens*'in *Lactobacillus*'un nispi bolluğunu önemli ölçüde artırarak bazı örneklerde en yoğun bulunan takson haline geldiği belirtilmiştir (Cao ve diğeri, 2012; Dec ve diğeri, 2014; Caly ve diğeri, 2015). Lin ve diğeri (2017) çalışmalarında buldukları sonucu *Lactobacillus* cinsindeki artışın *C. perfringens* ile infeksiyondan kaynaklandığı şeklinde yorumlamışlardır. Bu sonuç, daha önce yapılan bazı çalışmalar ile benzer sonuçlar göstermiştir (Liu ve diğeri, 2013; Kim ve diğeri, 2015). Birkaç çalışma, *Lactobacillus* yoğunluğunun NE durumuna veya *C. perfringens* dozuna bağlı olmadığı sonucuna varmıştır (Jia ve diğeri, 2009; Rychlik ve diğeri, 2014). Çalışmamız ise, *C. perfringens* (NE grubu) tarafından oluşturulan tehdidin ardından sekumdaki Laktobasillerin

tamamen yok olduğunu gösterdi. *C. perfringens*'in *Lactobacillus* populasyonunu azalttığını belirten farklı çalışmalar da bulunmaktadır (Antonissen ve diğerleri, 2016; Li ve diğerleri, 2017). *C. perfringens* ile *Lactobacillus* arasındaki ilişkinin konak diyet içeriği ve immun sistem farklılıklarına göre değişebileceği düşünüldü.

Clostridium perfringens suşu ve balık unu ilaveli diyetlerle beslenen tavuklarda bağırsak mikrobiyotaya değişikliklerinin incelendiği çalışmada, jejunumdaki mikrobiyotom değişikliğinin sekum mikrobiyotom değişikliğinden daha önemli olduğunu bildirilmiştir. *C. perfringens*'in jejunal mikrobiyotadaki tür çeşitliliğini önemli ölçüde azalttığı, ancak sekum mikrobiyotanın sabit kaldığını belirtmişlerdir (Yang ve diğerleri, 2019). Çalışmamızda, yukarıda belirtilen ifadenin aksine, DS grubu ile NE grubu arasında hem mikrobiyal çeşitlilikte hem de bazı cinslerin sayısında önemli ölçüde artışlar (*Clostridium*, *Enterobacteraceae* gen) olduğu görüldü. *Bacteroides* cinsinde azalma olduğu tespit edilirken *Faecalibacterium*, *Ruminiclostridium*, *Lachnoclostridium*, *Alistipes*, *Rikenella* ve *Lactobacillus* cinslerinin NE grubunda bulunmadığı saptandı. Tavuklarda gastrointestinal sistemin kısa olması sebebiyle sindirim hızlı olmaktadır ancak sekumdan geçiş daha yavaştır. Mikrobiyal fermentasyon gastrointestinal sistemin bu bölümünde aktif olması nedeniyle mikrobiyotom analizi için sekum içeriğinin ideal olduğu düşünülmektedir. (Yeoman ve diğerleri, 2012; Pan ve Yu, 2014). Son çalışmalar, sekum mikrobiyotanın yem verimliliğinde (Yan ve diğerleri, 2017) önemli bir rolü olduğunu, hastalıklar (Wohlgemuth ve diğerleri, 2011) ve metabolizma (Stanley ve diğerleri, 2012) açısından artan bir ilgi gördüğünü göstermiştir. Bortoluzzi ve diğerleri (2019) yaptıkları çalışmada sekum mikrobiyotasının bileşimi ve işlevinin ileal mikrobiyotadan daha fazla etkilendiğini belirtmişlerdir.

Probiyotiklerin bağırsak sağlığını olumlu yönde etkilediği ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Knap ve diğerleri (2010), broyler diyetlerinin *Bacillus* sporları (*B. licheniformis*) ile takviye edilmesinin, antibiyotiklere kıyasla uzun süre yüksek dozlarda takviye edildiğinde probiyotiklerin yararlı bir rol oynadığını bildirilmiştir. La Ragione ve diğerleri (2003), 20 günlük civcivlerin düşük dozda *C. perfringens* ile aşılmasından sonra, diyetlerine tek doz 1×10^9 *Bacillus subtilis* ilavesi ile *Bacillus subtilis*'in *C. perfringens*'in kolonizasyonunu azalttığı sonucuna varmışlardır. Sokale ve diğerleri (2019), piliçlerin tek başına *Bacillus subtilis* ile desteklenmesinin, *C. perfringens* mücadelesine ek olarak daha iyi üretim ve büyüme performansı gösterdiğini ayrıca ölüm oranını azalttığını bulmuştur. *Bacillus velezensis*, mantarları ve bakterileri inhibe edebildiği ve son zamanlarda potansiyel bir biyokontrol ajanı haline geldiği için giderek daha geniş bir şekilde araştırılmış ve

uygulanmıştır (Ye ve diğerleri, 2018, Ye ve diğerleri, 2020). Bu bakterinin bağırsak patojenlerinin yapışmasını, çoğalmasını ve virulansını inhibe edebileceği ve bağışıklık sistemini modüle etmek için önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Ye ve diğerleri, 2020). *Bacillus velezensis*'in surfaktin, fengisin, basillibaktin, diffisidin, makrolaktin, basilisin, asetoin gibi ribozomal ve ribozomal olmayan birçok biyoaktif metabolit ile birçok uçucu organik bileşik sentezlediği (Rabbee ve diğerleri, 2019) ve geniş spektrumlu antibakteriyel ve antimikotik aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir (Ye ve diğerleri, 2018; Grady ve diğerleri, 2019). Bu çalışmada, *B. velezensis*'in NE'nin bağırsak mikrobiyotası üzerinde yaptığı olumsuz etkiyi azalttığı gözlemlenmiştir. Çalışmamızda, topluluk zenginliği ve topluluk çeşitliliği açısından DS ve BV'nin AB veya NE'den daha benzer olduğu bulundu. BV grubunda, *B. velezensis*'in, istilacı organizmaların konak mikrobiyotasını olumsuz yönde değiştirmesine engel olacak olan biyolojik bir antagonist gibi işlev görerek, mukozal bağışıklık aktivitesini ve epitel bariyer fonksiyonunu modüle ederek muhtemel bir flora bozukluğunu önlediği düşünüldü. Bu çalışma, *B. velezensis* takviyesinin nekrotik enteritisli tavuklarda bağırsak mikrobiyomu üzerinde önemli katkılarının olduğunu gösteren ilk çalışmadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Probiyotikler, birçok ülkede antibiyotik büyüme faktörlerinin kullanımdan kaldırılması nedeniyle kanatlı işletmelerinde büyümeyi desteklemek ve hayvanları enterik patojenlerden koruyarak hayvan sağlığını iyileştirmek amacıyla kullanılmaktadır. Isı, ultraviyole ışınları, radyasyon, uzun süreli depolama koşulları ile düşük pH gibi gastrointestinal sistemdeki olumsuz koşullara dayanıklı olmasından dolayı *Bacillus* cinsi en çok tercih edilen probiyotiklerdendir. *B. velezensis* sentezlediği metabolit ve uçucu organik bileşikler ile antimikrobiyal özellik göstermektedir. Bu çalışma, *B. velezensis* takviyesinin nekrotik enteritisli tavuklarda bağırsak mikrobiyomu üzerinde önemli katkılarının olduğunu gösteren ilk çalışma niteliğindedir. Çalışma sonucunda sağlıklı tavuklardan oluşan DS kontrol grubuna mikrobiyom çeşitliliği ve istatistiksel olarak hesaplandığında mikrobiyom benzerliği açısından en yakın grubun *B. velezensis* uygulanan BV grubu olduğu tespit edildi. Elde edilen sonuç, nekrotik enteritisin mikrobiyom üzerindeki olumsuz etkisinin azaltılması için *B. velezensis*'in profilaktik antibiyotik kullanımına alternatif olabileceğini gösterdi. Bu çalışmanın verileri tavuklarda nekrotik enteritisin önlenmesi ve tedavisi konusunda yeni bir anlayış sağladı. Yapılan çalışma ışığında *B. velezensis*'in mikrobiyom üzerindeki kalıcı etkilerinin araştırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abildgaard, L., Sondergaard, T. E., Engberg, R.M., Schramm, A., Højberg, O. (2010). In vitro production of necrotic enteritis toxin B, NetB, by netB-positive and netB-negative *Clostridium perfringens* originating from healthy and diseased broiler chickens. *Veterinary Microbiology*, 144, 231–235. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.12.036
- Adams, M. R., Moss, M.O. (1995). Bacterial agents of foodborne illness. The Royal Society of Chemistry içinde (1. bs., ss. 364). Cambridge: Guildford.
- Adeniji, A., Loots, D. T., Babalola, O. O. (2019). *Bacillus velezensis*: phylogeny, useful applications, and avenues for exploitation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(9), 3669-3682. doi: 10.1007/s00253-019-09710-5
- Aggrey, S. E., Karnuah, A. B., Sebastian, B., Anthony, N. B. (2010). Genetic properties of feed efficiency parameters in meat type chickens. *Genetics Selection Evolution*, 42(1), 25. doi: 10.1186/1297-9686-42-25
- Akan, M. (2006). Clostridium İnfeksiyonları. Nejat Aydın, Jale Paracıkoğlu (Ed). Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar) içinde (pp. 73- 86). Ankara: İlke Emek Yayınları
- Allaart, J.G., van Asten, A.J.A.M., Gröne, A. (2013). Predisposing factors and prevention of *Clostridium perfringens*-associated enteritis. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 36, 449- 464. doi: 10.1016/j.cimid.2013.05.001
- Allen, P. C., Fetterer, R. H. (2002). Recent advances in biology and immunobiology of Eimeria species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(1), 58- 65. doi: 10.1128/CMR.15.1.58-65.2002
- Alouf, J.E. (2001). Pore-forming bacterial protein toxins: an overview. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 257, 1–14. doi:10.1007/978-3-642-56508-3_1
- Amara, A. A., Shibl, A. (2015). Role of probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(2), 107- 114. doi: 10.1016/j.jsps.2013.07.001
- Anadón, A., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M.R., Martínez, M.A. (2021). Probiotics: safety and toxicity considerations. Gupta, R.C., Lall, R., and Srivastava, A. (Eds.), Nutraceuticals

içinde. (2. bs., ss. 1081–1105). Cambridge: Academic Press. doi: 10.1016/B978-0-12-821038-3.00065-3.

- Annett, C. B., Viste, J. R., Chirino-Trejo, M., Classen, H. L., Middleton D. M., Simko, E. (2002). Necrotic enteritis: effect of barley, wheat and corn diet on proliferation of *Clostridium perfringens* type A. *Avian Pathology*, 31(6), 599- 602. doi: 10.1080/0307945021000024544
- Antonissen, G., Eeckhaut, V., Driessche, K. V., Onrust, L., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., ... Van Immerseel F. (2016). Microbial shifts associated with necrotic enteritis. *Avian Pathology*, 45, 308- 312. doi: 10.1080/03079457.2016.1152625
- Barnes, D.M., Kirby, Y.K. & Oliver, K.G. (2001). Effects of biogenic amines on growth and the incidence of proventricular lesions in broiler chickens. *Poultry Science*, 80, 906- 911. doi: 10.1093/ps/80.7.906
- Barnes, E. M., Mead, G. C., Barnum, D. A., Harry, E. G. (1972). The intestinal flora of the chicken in the period 2 to 6 weeks of age, with particular reference to the anaerobic bacteria. *British Poultry Science*, 13, 311- 326. doi: 10.1080/00071667208415953
- Barton, M.D. (2000). Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutrition Research Reviews*, 13(2), 279- 299. doi: 10.1079/095442200108729106
- Belenguer, A., Duncan, S.H., Holtrop, G., Anderson, S.E., Lobley, G.E., Flint, H.J. (2007). Impact of pH on lactate formation and utilization by human fecal microbial communities. *Applied Environment Microbiology*, 73(20), 6526–33. <https://doi.org/10.1128/AEM.00508-07>
- Belkahla, N., Maamouri, N., Ouerghi, H., Ben Ammar, A. (2005). Role of intestinal flora in inflammatory bowel disease and probiotics place in their management. *Tunisie Medicale*, 83, 132- 136.
- Berkhoff, G. A., Campbell, S. G., Naylor, H. B. (1974). Etiology and pathogenesis of ulcerative enteritis (“quail disease”). Isolation of the causative anaerobe. *Avian Diseases*, 18, 186- 194. doi: 10.2307/1589125
- Borah, T., Gogoi, B., Khataniar, A., Gogoi, M., Das, A., Borah, D. (2019). Probiotic characterization of indigenous *Bacillus velezensis* strain DU14 isolated from Apong, a traditionally fermented rice beer of Assam. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18, 101008. doi: 10.1016/J.BCAB.2019.01.046

- Bortoluzzi, C., Vieira, B.S, Hofacre, C., Applegate, T.J. (2019). Effect of different challenge models to induce necrotic enteritis on the growth performance and intestinal microbiota of broiler chickens. *Poultry Science*, 8, 2800- 2812. doi: 10.3382/ps/pez084
- Brisbin, J. T, Gong, J., Sharif, S. (2008). Interactions between commensal bacteria and the gut-associated immune system of the chicken. *Animal Health Research Reviews*, 9(1):101-110. doi: 10.1017/S146625230800145X
- Bryant, A.E., Stevens, L.S., 1997. The Pathogenesis of Gas Gangrene. J.I. Rood, R. Titball, B. McClane, G. (Eds.), *The clostridia: molecular biology and pathogenesis* içinde (1 bs., ss. 186-187). San Diego: Songer Academic Press.
- Bueschel, D. M., Jost, B. H., Billington, S. J., Trinh, H. T., Songer, J. G. (2003). Prevalence of *cpb2*, encoding beta2 toxin, in *Clostridium perfringens* field isolates: correlation of genotype with phenotype. *Veterinary Microbiology*, 94, 121- 129. doi: 10.1016/s0378-1135(03)00081-6
- Byrne, B., Scannell, A.G., Lyng, J., Bolton, D.J. (2008). An evaluation of *Clostridium perfringens* media. *Food Control* 2008; 19, 1091-1095. doi:10.1016/j.foodcont.2007.11.001
- Callaway, T., Dowd, S., Wolcott, R., Sun, Y., McReynolds, J., ... Edrington, T. (2009). Evaluation of the bacterial diversity in cecal contents of laying hens fed various molting diets by using bacterial tag-encoded FLX amplicon pyrosequencing. *Poultry science*, 88(2), 298–302. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00222>
- Caly, D.L., D’Inca, R., Auclair, E., Drider, D. (2015). Alternatives to antibiotics to prevent Necrotic Enteritis in Broiler Chickens: A Microbiologist’s Perspective. *Frontiers in microbiology*, 6, 1336. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01336>
- Cano, R.J., Tiefenbrunner, F., Ubaldi, M., Del Cueto, C., Luciani, S., Cox, T., Rollo, F. (2000). Sequence analysis of bacterial DNA in the colon and stomach of the Tyrolean Iceman. *American Journal of Physical Anthropology*, 112(3), 297- 309. doi: 10.1002/1096-8644(200007)112:3<297::AID-AJPA2>3.0.CO;2-0
- Cao, L., Yang, X., Li, Z., Sun, F., Wu, X., Yao, J. (2012). Reduced lesions in chickens with *Clostridium perfringens* induced necrotic enteritis by *Lactobacillus fermentum* 1.2029. *Poultry science*, 91(12), 3065–71. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02548>

- Casewell, M., Friis, C., Marco, E., McMullin, P., Philips, I. (2003). The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52(2), 159- 161. doi: 10.1093/jac/dkg313
- Cato EP, George WL, Finegold SM. (1986). Genus *Clostridium*. P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, J. G. Holt (Eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* içinde (ss. 1141-1200). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Chang, C.L., Chung, C.Y., Kuo, C.H., Kuo, T.F., Yang, C.W., Yang, W.C. (2016). Beneficial Effect of *Bidens pilosa* on Body Weight Gain, Food Conversion Ratio, Gut Bacteria and Coccidiosis in Chickens. *PloS One*, 11(1), e0146141. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146141>
- Chen, X. H., Koumoutsis, A., Scholz, R., Borriss, R. (2009). More than anticipated - production of antibiotics and other secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 16, 14-24. doi: 10.1159/000142891
- Collier, C.T., Hofacre, C.L., Payne, A.M., Anderson, D.B., Kaiser, P., Mackie, R.I. & Gaskins, H.R. (2008). *Coccidia*-induced mucogenesis promotes the onset of necrotic enteritis by supporting *Clostridium perfringens* growth. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 122, 104–115. doi: 10.1016/j.vetimm.2007.10.014
- Cooper, K. K., Trinh, H. T., Songer, J. G. (2009). Immunization with recombinant alpha toxin partially protects broiler chicks against experimental challenge with *Clostridium perfringens*. *Veterinary Microbiology*, 133, 92- 97. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.06.001
- Cooper, K.K., Songer, J.G. (2010). Virulence of *Clostridium perfringens* in an experimental model of poultry necrotic enteritis. *Veterinary Microbiology*, 142, 323- 328.
- Cummings, J.H., Macfarlane, G.T, Englyst, H.N. (2001). Prebiotic digestion and fermentation. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 415–420.
- Cusco, A., Catozzi, C., Vines, J., Sanchez, A., Francino, O. (2018). Microbiota profiling with long amplicons using Nanopore sequencing: full-length 16S rRNA gene and whole *rrn* operon. *F1000Research*, 7. doi: 10.12688/f1000research.16817.1
- Dahiya, J. P., Wilkie, D. C., Van Kessel, A. G., Drew, M. D. (2006). Potential strategies for controlling necrotic enteritis in broiler chickens in post-antibiotic era. *Animal Feed Science and Technology*, 129(1), 60- 88. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2005.12.003

- Danzeisen, J. L., Kim, H. B., Isaacson, R. E., Tu, Z. J., Jhonson, T. J. (2011). Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment. *Plos One*, 6(11), e27949. doi: 10.1371/journal.pone.0027949
- Dec, M., Puchalski, A., Urban-Chmiel, R., Wernicki, A. (2014). Screening of *Lactobacillus* strains of domestic goose origin against bacterial poultry pathogens for use as probiotics. *Poultry science*, PS4025.
- Denbow, D. (2015). Gastrointestinal anatomy and physiology. C.G. Scanes (Ed.), *Sturkie's avian physiology* içinde (6. bs., ss. 337-366). London: Academic Press.
- Deng, W., Dong, X. F., Tong, J. M., Zhang, Q. (2012). The probiotic *Bacillus licheniformis* ameliorates heat stress-induced impairment of egg production, gut morphology, and intestinal mucosal immunity in laying hens. *Poultry Science*, 91, 575–582.
- Deplancke, B., Gaskins, H. (2001). Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 1131- 1141. doi: 10.1093/ajcn/73.6.1131S
- Diarra, M. S., Silversides, F. G., Diarrassouba, F., Pritchard, J., Masson, L., Brousseau, R., ... Topp, E. (2007). Impact of feed supplementation with antimicrobial agents on growth performance of broiler chickens, *Clostridium perfringens* and enterococcus counts, and antibiotic resistance phenotypes and distribution of antimicrobial resistance determinants in *Escherichia coli* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(20), 6566–6576. doi: 10.1128/AEM.01086-07
- Diker, K. S. (2017). Hayvanlarda mikrobiyom- hayvan mikrobiyomu. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 88(2), 122-132.
- Dunlap, C. A., Kim, S. J., Kwon, S. W., Rooney, A. P. (2016). *Bacillus velezensis* is not a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* and ‘*Bacillus oryzicola*’ are later heterotypic synonyms of *Bacillus velezensis* based on phylogenomics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 66, 1212- 1217. doi: 10.1099/ijsem.0.000858
- Egorov, I. A., Lenkova, T. N., Manukyani, V. A., Egorova, T. A., Nikonov, I. N., Ilina, L. A., Laptev, G. Y. (2019). Poultry diets without antibiotics. I. Intestinal microbiota and performance of broiler (*Gallus gallus* L.) breeders fed diets with enterosorbent possessing

- phytobiotic and probiotic effects. *Agricultural Biology*, 54(2), 280-290. doi: 10.15389/agrobiology.2019.2.280rus
- Ericsson, A.C., Hagan, C.E., Davis, D.J. & Franklin, C.L. (2014). Segmented filamentous bacteria: commensal microbes with potential effects on research. *Comparative Medicine*, 64, 90–98
- Fan, X., Sellin, J. H. (2009). Review article: Small intestinal bacterial overgrowth, bile acid malabsorption and gluten intolerance as possible causes of chronic watery diarrhoea. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 29, 1069-1077. doi: 10.1111/j.1365-2036.2009.03970.x
- Ferber, D., (2002). Antibiotic resistance. Livestock feed ban preserves drugs' power. *Science*, 295, 27–29. doi: 10.1126/science.295.5552.27a
- Fernandes da Costa, S.P., Mot, D., Bokori-Brown, M., Savva, C.G., Basak, A.K., Van Immerseel, F., Titball, R.W. (2013). Protection against avian necrotic enteritis after immunisation with NetB genetic or formaldehyde toxoids. *Vaccine*, 31:4003–4008. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.05.063
- Fernández-Canigia, L., Litterio, M., Legaria, M.C., Castello, L., Predari, S. ... Anaerobe Surveillance Team. (2012). First national survey of antibiotic susceptibility of the *Bacteroides fragilis* group: emerging resistance to carbapenems in Argentina. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 56(3), 1309–1314. <https://doi.org/10.1128/AAC.05622-11>
- Ficken, M. D., Wages, D. P. (1997). Necrotic Enteritis. B.W. Calnek, H.J. Barnes, C.W. Beard, L.R. McDougald, Y.M. Saif (Eds.), *Diseases of Poultry* içinde (10. bs., ss. 261-264), Iowa: Iowa State University Press.
- Ficko-Blean, E., Stuart, C.P., Suits, M.D., Cid, M., Tessier, M., Woods, R.J., Boraston, A.B. (2012). Carbohydrate recognition by an architecturally complex α -N-acetylglucosaminidase from *Clostridium perfringens*. *PLoS One*, 7(3), e33524. doi: 10.1371/journal.pone.0033524
- Forder, R. E., Natrass, G. S., Geier, M. S., Hughes, R. J., Hynd, P. I. (2012). Quantitative analyses of genes associated with mucin synthesis of broiler chickens with induced necrotic enteritis. *Poultry Science*, 91(6), 1335- 1341. doi: 10.3382/ps.2011-02062

- Fujita, M., Tsuchida, A., Hirata, A., Kobayashi, N., Goto, K., Osumi, K., ... Mizuno, M. (2011). Glycoside hydrolase family 89 α N-acetylglucosaminidase from *Clostridium perfringens* specifically acts on GlcNac α 1,4Gal β 1R at the non-reducing terminus of O-glycans in gastric mucin. *Journal of Biological Chemistry*, 286, 6479–6489. doi: 10.1074/jbc.M110.206722
- Fukata, T., Hadate, Y., Baba, E., Uemura, T., Arakawa, A. (1988). Influence of *Clostridium perfringens* and its toxin in germ-free chicken. *Research in Veterinary Science*, 44, 68-70. doi: 10.1016/0034-5288(88)90015-X
- Gillings, M. R., Paulsen, I. T., Tetu, S.G. (2017). Genomics and the evolution of antibiotic resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1388(1), 92- 107. doi: 10.1111/nyas.13268
- Grady, E. N., MacDonald, J., Ho, M. T., Weselowski, B., McDowell, T., Solomon, ... Yuan, Z. (2019). Characterization and complete genome analysis of the surfactin-producing, plant-protecting bacterium *Bacillus velezensis* 9D-6. *BMC Microbiology*, 19, 5. doi: 10.1186/s12866-018-1380-8
- Gross, T.P., Kamara, L.B., Hatheway, C.L., Powers, P., Libonati, J. P., Harmon, S. M., Israel, E. (1989). *Clostridium perfringens* food poisoning: use of serotyping in an outbreak setting. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(4), 660-663. doi: 10.1128/jcm.27.4.660-663.1989
- Gu, C., Lillehoj, H.S., Sun, Z., Lee, Y., Zhao, H., Xianyu, Z., ... Liu L. (2019) Characterization of virulent netB+/tpeL+ *Clostridium perfringens* strains from necrotic enteritis-affected broiler chicken farms. *Avian Diseases*, 63 (3), 461- 7. doi: 10.1637/11973-092018-Reg.1
- Guo, Y., Zhou, J., Tang, Y., Ma, Q., Zhang, J., Ji, C., Zhao, L. (2020). Characterization and genome analysis of a zearalenone-degrading *Bacillus velezensis* strain ANSB01E. *Current Microbiology*, 77, 273- 278. doi: 10.1007/s00284-019-01811-8
- Hafez, M.H. (2011). Enteric diseases of poultry with special attention to *Clostridium perfringens*. *Pakistan Veterinary Journal*, 31(3), 175- 184.
- Hansson, G. C., Johansson, M. E. (2010). The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Gut Microbes*, 1, 514. doi: 10.1073/pnas.0803124105

- Havenstein, G. B., Ferket, P. R., Qureshi, M. A. (2003). Growth, livability, and feed conversion of 1957 versus 2001 broilers when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science*, 82, 1500- 1508. doi: 10.1093/ps/82.10.1500
- Heier, B. T., Løvland, A., Soleim, K. B., Kaldhusdal, M., Jarp, J. (2001). A field study of naturally occurring specific antibodies against *Clostridium perfringens* alpha toxin in Norwegian broiler flocks. *Avian Diseases*. 45, 724- 732.
- Helmboldt, C.F., Bryant, E.S., (1971). The pathology of necrotic enteritis in domestic fowl. *Avian Diseases*, 15 (4), 775-780.
- Hill, D. A., Hoffman, C., Abt, M.C., Du, Y., Kobuley, D., Kim, T.J., ... Artis, D. (2009). Metagenomic analyses reveal antibiotic-induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota associated with alterations in immune cell homeostasis. *Mucosal Immunology*, 3, 148- 158. doi: 10.1038/mi.2009.132
- Hofshagen, M., Stenwig, H. (1992). Toxin production by *Clostridium perfringens* isolated from broiler chickens and capercaillies (*Tetrao urogallus*) with and without nekrotizing enteritis. *Avian Diseases*, 36, 837-843.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A, Staley, Williams, S.T. (1994). Genus *Clostridium*. J. Holt (Ed.), *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology* içinde (9. bs., ss. 560-563). Baltimore: The Williams-Wilkins Co.
- Hooper, L. V., Littman, D. R., Macpherson, A.J. (2012). Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*, 336, 1268- 1273. doi: 10.1038/nn.4476
- Jia, W., Slominski, B., Bruce, H., Blank, G., Crow, G., Jones, O. (2009). Effects of diet type and enzyme addition on growth performance and gut health of broiler chickens during subclinical *Clostridium perfringens* challenge. *Poultry science*, 88(1), 132–40. <https://doi.org/10.3382/ps.2008-00204>
- Jiang, Y., Kulkarni, R.R., Parreira, V.R., Prescott, J.F. (2009). Immunization of broiler chickens against *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis using purified recombinant immunogenic proteins. *Avian Diseases*, 53(3), 409- 415. doi: 10.1637/8656-021109-Reg.1
- Jiang, Y., Mo, H., Willingham, C., Wang, S., Park, J. Y., Kong, W., Curtiss, R. (2015). Protection against necrotic enteritis in broiler chickens by regulated delayed lysis salmonella vaccines. *Avian Diseases*, 59(4), 475- 485. doi: 10.1637/11094-041715-Reg.

- Kabir, S. (2009). The role of probiotics in the poultry industry. *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 3531-3546. doi: 10.3390/ijms10083531
- Kabir, S. L., Rahman, M. M., Rahman, M., Rahman, M. , Ahmed, S. (2004). The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *International Journal of Poultry Science*, 3(5), 361-364. doi: 10.3923/ijps.2004.361.364
- Kalavathy, R., Abdullah, N., Jalaludin, S., Ho, Y. (2003). Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. *British Poultry Science*, 44(1), 139-144. doi: 10.1080/0007166031000085445
- Kelly, D., Campbell, J.I., King, T.P., Grant, G., Jansson, E.A., ... Conway, S. (2004). Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. *Nature Immunology*, 5(1), 104-112. doi: 10.1038/ni1018.
- Keyburn, A. L., Boyce, J. D., Vaz, P., Bannam, T. L., Ford, M. E., Parker, D., ... Moore, R. J. (2008). NetB, a new toxin that is associated with avian necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens*. *Plos Pathogens*, 4(2), e26. doi: 10.1371/journal.ppat.0040026
- Keyburn, A. L., Portela, R. W., Ford, M. E., Bannam, T. L., Yan, X. X., Rood, J. I., Moore, R. J. (2013a). Maternal immunization with vaccines containing recombinant NetB toxin partially protects progeny chickens from necrotic enteritis. *Veterinary Research*, 44(1), 108. doi: 10.1186/1297-9716-44-108
- Keyburn, A. L., Portela, R. W., Sproat, K., Ford, M. E., Bannam, T. L., Yan, X., ... Moore R. J. (2013b). Vaccination with recombinant NetB toxin partially protects broiler chickens from necrotic enteritis. *Veterinary Research*, 44(1), 54. doi: 10.1186/1297-9716-44-54
- Keyburn, A. L., Sheedy, S. A., Ford, M. E., Williamson, M. M., Awad, M. M., Rood, J. I., Moore, R. J. (2006). Alpha toxin of *Clostridium perfringens* is not an essential virulence factor in necrotic enteritis in chickens. *Infection and Immunity*, 74 (11), 6496-6500. doi: 10.1128/IAI.00806-06
- Keyburn, A. L., Yan, X-X., Bannam, T.L., Van Immerseel, F., Rodd, J. I., Moore, R. J. (2010). Association between avian necrotic enteritis and *Clostridium perfringens* strains expressing NetB toxin. *Veterinary Research*, 41(2), 21. doi: 10.1051/vetres/2009069. Epub 2009 Nov 25

- Khalid, F., Khalid, A., Fu, Y., Hu, Q., Zheng, Y., Khan, S., Wang, Z. (2021). Potential of *Bacillus velezensis* as a probiotic in animal feed: a review. *Journal of Microbiology*, 59(7), 627-633. doi: 10.1007/s12275-021-1161-1
- Kim, J.E., Lillehoj, H.S., Hong, Y.H., Kim, G.B., Lee, S.H., ... Lillehoj, E.P. (2015). Dietary Capsicum and Curcuma longa oleoresins increase intestinal microbiome and necrotic enteritis in three commercial broiler breeds. *Research in veterinary science*, 102, 150–8. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.07.022>
- Kim, Y., Cho, J.Y., Kuk, J.H., Moon, J.H., Cho, J.I., ... Park, K.H. (2004). Identification and antimicrobial activity of phenylacetic acid produced by *Bacillus licheniformis* isolated from fermented soybean, Chungkook-Jang. *Current Microbiology*, 48(4), 312-7. doi: 10.1007/s00284-003-4193-3.
- Kiu, R., Brown, J., Bedwell, H., Leclaire, C., Caim, S., Pickard, D., ... Hall, L.J. (2019). Genomic analysis on broiler-associated *Clostridium perfringens* strains and exploratory caecal microbiome investigation reveals key factors linked to poultry necrotic enteritis. *Animal Microbiome*, 1, 12. doi: 10.1186/s42523-019-0015-1
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, J., Horn, M., Glöckner, F.O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1): e1. doi: 10.1093/nar/gks808
- Knap, I., Lund, B., Kehlet, A., Hofacre, C., Mathis, G. (2010). *Bacillus licheniformis* prevents necrotic enteritis in broiler chickens. *Avian Diseases*, 54, 931- 935.
- Kogut, M. H. (2013). The gut microbiota and host innate immunity: regulators of host metabolism and metabolic diseases in poultry? *Journal of Applied Poultry Research*, 22(3), 637- 646. doi: 10.3382/japr.2013-00741
- Kogut, M. H., Yin, X., Yuan, J., Bloom, L. (2017). Gut health in poultry. *CAB Reviews*, 12(031). doi: 10.1079/PAVSNNR201712031
- Kohl, K. D. (2012). Diversity and function of the avian gut microbiota. *Journal of Comparative Physiology B*, 182, 591- 602. doi: 10.1007/s00360-012-0645-z
- Koutsos, E., Arias, V. (2006). Intestinal ecology: Interactions among the gastrointestinal tract, nutrition, and the microflora. *Journal of Applied Poultry Research*, 15, 161-173. doi: 10.1093/japr/15.1.161

- Kulkarni, R. R., Parreira, V. R., Sharif, S., Prescott, J. F. (2007). Immunization of broiler chickens against *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14(9), 1070–1077. doi:10.1128/cvi.00162-07
- La Ragione, R.M., Woodward, M.J. (2003). Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and *Clostridium perfringens* in young chickens. *Veterinary Microbiology*, 94, 245- 256. doi: 10.1016/s0378-1135(03)00077-4
- Labbe, R.G., Harmon, S.M. (1992). *Clostridium perfringens*. C. Vanderzant, D.F. Splittstoesser (Eds). *Compendium of Methods for Microbiological Examination of Foods* içinde (1. bs., ss. 623-632). Washington D.C.: American Public Health Association
- LeBlanc, J. G., Milani, C., de Giori, G. S., Sesma, F., van Sinderen, D., Ventura, M. (2013). Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current Opinion in Biotechnology*, 24, 160- 168. doi: 10.1016/j.copbio.2012.08.005
- Lei, F., Yin, Y., Wang, Y., Deng, B., Yu, H.D., Li, L., ... Wang, X. (2012). Higher-level production of volatile fatty acids in vitro by chicken gut microbiotas than by human gut microbiotas as determined by functional analyses. *Applied and Environmental Microbiology Journal*, 78, 5763- 5772. doi: 10.1128/AEM.00327-12
- Lepp, D., Gong, J., Songer, J. G., Boerlin, P., Parreira, V. R. & Prescott, J. F. (2013). Identification of accessory genome regions in poultry *Clostridium perfringens* isolates carrying the netB plasmid. *Journal of Bacteriology*, 195, 1152– 1166
- Lepp, D., Roxas, B., Parreira, V. R., Marri, P.R., Rosey, E. L., Gong, J., ... Prescott, J. F. (2010). Identification of novel pathogenicity loci in *Clostridium perfringens* strains that cause avian necrotic enteritis. *PLoS One*, 5(5), e10795. doi: 10.1371/journal.pone.0010795
- Li, C., Lillehoj, H. S., Gadde, U.D., Ritter, D., Oh, S. (2017). Characterization of *Clostridium perfringens* strains isolated from healthy and necrotic enteritis-afflicted broiler chickens. *Avian Diseases*, 61(2), 178–185. doi: 10.1637/11507-093016-Reg.1
- Li, G. Q., Kanu, S., Xiang, F. Y., Xiao, S. M., Zhang, L., Chen, H. W., Ye, H. J. (2004). Isolation and selection of ionophoretolerant *Eimeria precocious* lines: *E. tenella*, *E. maxima* and *E. acervulina*. *Veterinary Parasitology*, 119(4), 261- 276. doi: 10.1016/j.vetpar.2003.12.009

- Li, J., Wu, Z.B., Zhang, Z., Zha, J.W., Qu, S.Y., Qi, X.Z., ... Ling, F. (2019). Effects of potential probiotic *Bacillus velezensis* K2 on growth, immunity and resistance to *Vibrio harveyi* infection of hybrid grouper (*Epinephelus lanceolatus*♂ × *E. fuscoguttatus*♀). *Fish Shellfish Immunology*, 93, 1047–1055. doi: 10.1016/j.fsi.2019.08.047
- Li, Z., Wang, W., Liu, D., Guo, Y. (2017). Effects of *Lactobacillus acidophilus* on gut microbiota composition in broilers challenged with *Clostridium perfringens*. *PLoS One*, 12(11), e0188634. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188634>
- Lilly, D. M., Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659), 747- 748. doi: 10.1126/science.147.3659.747.
- Lin, Y., Xu, S., Zeng, D., Ni, X., Zhou, M., ... Li G. (2017). Disruption in the cecal microbiota of chickens challenged with *Clostridium perfringens* and other factors was alleviated by *Bacillus licheniformis* supplementation. *PLoS One*, 12(8), e0182426. doi: 10.1371/journal.pone.0182426.
- Liu, Y., Fatheree, N.Y., Mangalat, N., Rhoads, J.M. (2012). *Lactobacillus reuteri* strains reduce incidence and severity of experimental necrotizing enterocolitis via modulation of TLR4 and NF-κB signaling in the intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 302(6), G608–G17. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00266.2011>
- Long, J.R., J.R. Pettit, and D.A. Barnum. (1974). Necrotic enteritis in broiler chickens. II. Pathology and proposed pathogenesis. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 38 (4), 467- 474.
- Los, F.C., Randis, T.M., Aroian, R.V. & Ratner, A.J. (2013). Role of pore-forming toxins in bacterial infectious diseases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77, 173- 207. doi: 10.1128/MMBR.00052-12
- Lovland, A., Kaldhusdal, M. (1999). Liver lesions seen at slaughter as an indicator of necrotic enteritis in broiler flocks. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 24, 345- 351. doi: 10.1111/j.1574-695X.1999.tb01304.x
- Løvland, A., Kaldhusdal, M., Redhead, K., Skjerve, E., Lillehaug, A. (2004). Maternal vaccination against subclinical necrotic enteritis in broilers. *Avian Pathology*, 33(1), 83- 92. doi: 10.1080/0379450310001636255

- Lucey, B. P., Hutchins, G.M. (2004). William H. Welch, MD, and the Discovery of *Bacillus welchii*. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 128 (10), 1193-1195. doi: 10.5858/2004-128-1193-WHWMAT
- M'Sadeq, S. A., Wu, S., Swick, R. A., Choct, M. (2015). Towards the control of necrotic enteritis in broiler chickens with in-feed antibiotics phasing-out worldwide. *Animal Nutrition*. 1, 1- 11. doi: 10.1016/j.aninu.2015.02.004
- McClane BA. *Clostridium perfringens*. M.P. Doyle, L.R.Beuchat (Eds.), *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers* içinde (3. b.s., ss. 423-455). Washington DC: ASM Press.
- McClane, B. (2001). *Clostridium perfringens*. M.P. Doyle, L.R. Beuchat, T.J. Montville (Eds.) *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* içinde (2. bs., ss. 351-372). Washington D.C: ASM Press.
- McGuckin, M.A., Lindén, S.K., Sutton, P., Florin, T.H. (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 9, 265- 278. doi: 10.1038/nrmicro2538
- Metges, C. C. (2000). Contribution of microbial amino acids to amino acid homeostasis of the host. *The Journal of Nutrition*, 130, 1857S-1864S. doi: 10.1093/jn/130.7.1857S
- Miah, M. S., Asaduzzaman, M., Sufian, M. A., Hossain, M. M. (2011). Isolation of *Clostridium perfringens*, causal agents of necrotic enteritis in chickens. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 9(1), 97- 102. doi: 10.3329/jbau.v9i1.8751
- Mingmongkolchai, S., Panbangred, W. (2018). *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of Applied Microbiology*, 124(6), 1334- 1346. doi: 10.1111/jam.13690
- Mohiuddin, M., Yuan, W., Song, Z., Liao, S., Qi1, N., Li, J., Lv, M., ... Sun, M. (2021). Experimental induction of necrotic enteritis with or without predisposing factors using netB positive *Clostridium perfringens* strains. *Gut Pathogens*, 13(1), 68. doi: 10.1186/s13099-021-00463-z
- Moorea, R. J. (2016). Necrotic enteritis predisposing factors in broiler chickens. *Avian Pathology*, 45(3), 275-281. doi: 10.1080/03079457.2016.1150587
- Mora, A., Herrera, A., Mamani, R., López, C., Alonso, M.P., ... Blanco J. (2010). Recent emergence of clonal group O25b:K1:H4-B2-ST131 *ibeA* strains among *Escherichia coli* poultry isolates, including CTX-M-9-producing strains, and comparison with clinical

- human isolates. *Applied of Environment Microbiology*, 76(21), 6991-7. doi: 10.1128/AEM.01112-10.
- Nairn, M. E., Bamford, V. W. (1967). Necrotic enteritis of broiler chickens in western Australia. *Australian Veterinary Journal*, 43, 49- 54. doi: 10.1111/j.1751-0813.1967.tb15062.x
- Nam, M. H., Park, M. S., Kim, H. G., Yoo, S. J. (2009). Biological control of strawberry Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* using *Bacillus velezensis* BS87 and RK1 formulation. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19(5), 520-524. doi: 10.4014/jmb.0805.333
- Navarro, M. A., McClane, B.A., Uzal, F.A. (2018). Mechanisms of action and cell death associated with *Clostridium perfringens* toxins. *Toxins (Basel)*, 10(5), 212. doi: 10.3390/toxins10050212
- Neuman, H., Debelius, J. W., Knight, R., Koren, O. (2015). Microbial endocrinology: the interplay between the microbiota and the endocrine system. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(4), 509- 521. doi: 10.1093/femsre/fuu010
- Oakley, B. B., Kogut, M.H. (2016). Spatial and temporal changes in the broiler chicken cecal and fecal microbiomes and correlations of bacterial taxa with cytokine gene expression. *Frontiers in Veterinary Science*, 3, 11. doi: 10.3389/fvets.2016.00011
- Oakley, B.B., Lillehoj, H.S., Kogut, M.H., Kim, W.K., Maurer, J.J., ... Pedrosa, A. (2014). The chicken gastrointestinal microbiome. *FEMS microbiology letters*, 360(2), 100–12. <https://doi.org/10.1111/1574-6968>.
- Ohtani, K., Hayashi, H., Shimizu, T. (2002). The luxS gene is involved in cell-cell signalling for toxin production in *Clostridium perfringens*. *Molecular Microbiology*, 44, 171- 179. doi: 10.1046/j.1365-2958.2002.02863.x
- Ohtani, K., Yuan, Y., Hassan, S., Wang, R., Wang, Y., Shimizu, T. (2009). Virulence gene regulation by the agr system in *Clostridium perfringens*. *Journal of Bacteriology*, 191(12), 3919–3927. doi: 10.1128/JB.01455-08
- Olkowski, A. A., Wojnarowicz, C., Chirino Trejo, M., Drew, M. D., (2006). Responses of broiler chickens orally challenged with *Clostridium perfringens* isolated from field cases of necrotic enteritis. *Research in Veterinary Science*. 81(1), 99- 108. doi: 10.1016/j.rvsc.2005.10.006

- Opengart, K. (2008). Necrotic Enteritis. Y. M., Saif (Ed.), *Diseases of Poultry* içinde (12. bs., ss. 872- 879). Iowa: Blackwell Publishing
- Opengart, K., Boulianne, M. (2020). Clostridial Diseases. D.E. Swayne (Ed.) *Diseases of Poultry* içinde (14 bs., ss. 972). Iowa: Blackwell Publishing Ltd.
- Opengart, K., Songer, J.G. (2013). Clostridial Diseases. D.E. Swayne (Ed.) *Diseases of Poultry* içinde (13 bs., ss. 949). Iowa: Blackwell Publishing Ltd.
- Palazzini, J. M., Dunlap, C. A., Bowman, M. J., Chulze, S. N. (2016). *Bacillus velezensis* RC 218 as a biocontrol agent to reduce Fusarium head blight and deoxynivalenol accumulation: genome sequencing and secondary metabolite cluster profiles. *Microbiological Research*, 192, 30- 36. doi: 10.1016/j.micres.2016.06.002
- Pan, D., Yu, Z. (2014). Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut Microbes*, 5(1), 108- 119. doi: 10.4161/gmic.26945
- Parent, E., Archambault, M., Charlebois, A., Bernier- Lachance J., Boulianne, M. (2017). A chicken intestinal ligated loop model to study the virulence of *Clostridium perfringens* isolates recovered from antibiotic-free chicken flocks. *Avian Pathology*, 46, 138-149. doi: 10.1080/03079457.2016.1228825
- Parish, W. E. (1961). Necrotic enteritis in the fowl (*Gallus gallus domesticus*) I histopathology of the disease and isolation of a strain of *Clostridium welchii*. *Journal of Comparative Pathology*, 71, 377
- Parreira, V. R., Costa, M., Eikmeyer, F., Blom, J. & Prescott, J. F. (2012). Sequence of two plasmids from *Clostridium perfringens* chicken necrotic enteritis isolates and comparison with *C. perfringens* conjugative plasmids. *PLoS One*, 7(11), e49753. doi: 10.1371/journal.pone.0049753
- Patterson, J. A., Burkholder, K. M. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science*, 82, 627-631.
- Polansky, O., Sekelova, Z., Faldynova, M., Sebkova, A., Sisak, F., Rychlik, I. (2016). Important Metabolic Pathways and Biological Processes Expressed by Chicken Cecal Microbiota. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(1), 1569-1576. doi: 10.1128/AEM.03473-15
- Popoff, M.R. (2014). Clostridial pore-forming toxins: powerful virulence factors. *Anaerobe*, 30, 220- 238. doi: 10.1016/j.anaerobe.2014.05.014

- Prescott, J. F., Parreira, V. R., Gohari, I. M., Lepp, D., Gong, J. (2016). The pathogenesis of necrotic enteritis in chickens: what we know and what we need to know: a review. *Avian Pathology*, 45(3), 288-294. doi: 10.1080/03079457.2016.1139688
- Prescott, J. F., Smyth, J. A., Shojadoosta, B., Vincea, A. (2016). Experimental reproduction of necrotic enteritis in chickens: a review. *Avian Pathology*, 45(3), 317- 322.
- Ruiz-García, C., Béjar, V., Martínez-Checa, F., Llamas, I., Quesada, E. (2005). *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Ve ´lez in Ma ´laga, southern Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 191- 195. doi: 10.1099/ijs.0.63310-0
- Qu, A., Brulc, J.M., Wilson, M.K., Law, B.F., Theoret, J.R., ... Joens, L.A. (2008). Comparative metagenomics reveals host specific metaviromes and horizontal gene transfer elements in the chicken cecum microbiome. *PloS One*, 3(8), e2945. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002945>
- Quagliarello, A., Del Chierico, F., Russo, A., Reddel, S., Conte, G., Lopetuso, L.R., ... Putignani, L. (2018). Gut microbiota profiling and gut–brain crosstalk in children affected by pediatric acute-onset neuropsychiatric syndrome and pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with Streptococcal infections. *Frontiers in Microbiology*, 9, 675. doi: 10.3389/fmicb.2018.00675
- Rabbee, M. F., Ali, M., Choi, J., Hwang, B. S., Jeong, S. C., Baek, K. (2019). *Bacillus velezensis*: a valuable member of bioactive molecules within plant microbiomes. *Molecules*, 24(6), 1046. doi: 10.3390/molecules24061046
- Ramlucken, U., Lalloo, R., Roetsa, Y., Moonsamy, G., van Rensburg, C., Thantsha, M. S. (2020a). Advantages of Bacillus-based probiotics in poultry production. *Livestock Science*, 241, 104215. doi: 10.1016/j.livsci.2020.104215
- Ramlucken, U., Ramchuran, S. O., Moonsamy, G., Lalloo, R., Thantsha, M. S., Jansen van Rensburg, C. (2020b). A novel bacillus based multi-strain probiotic improves growth performance and intestinal properties of *Clostridium perfringens* challenged broilers. *Poultry Science*, 99(1), 331-341. doi: 10.3382/ps/pez496
- Ramlucken, U., Roets, Y., Ramchuran, S. O., Moonsamy, G., Jansen van Rensburg, C., Thantsh, M. S., Lalloo, R. (2020c). Isolation, selection and evaluation of Bacillus spp. as

- potential multi-mode probiotics for poultry. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 66(4), 228- 238. doi: 10.2323/jgam.2019.11.002
- Rathnapraba, S, Kannabhiran, Kanagaraju, P., Vijayarani, K., Saranya, S. (2017). Molecular detection and pathology of necrotic enteritis case from a guinea fowl. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(6), 2589- 2593. doi: 10.20546/ijcmas.2017.606.309
- Rehman, H. U., Vahjen, W., Awad, W. A., Zentek, J. (2007). Indigenous bacteria and bacterial metabolic products in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Archives of Animal Nutrition*, 61(5), 319- 335. doi: 10.1080/17450390701556817
- Riddell, C., Kong, X-M. (1992). The influence of diet on necrotic enteritis in broiler chickens. *Avian Diseases*, 36, 499–503. doi: 10.2307/1591740
- Rocha, E.R., Smith, C.J. (2013). Ferritin-like family proteins in the anaerobe *Bacteroides fragilis*: when an oxygen storm is coming, take your iron to the shelter. *Biometals*, 26, 577–591.
- Rolfe, R. D. (2000). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *Journal of Nutrition*, 130, 396-402.
- Rood, J. I., Adams, V. , Lacey, J., Lyras, D., McClane, B.A., Melville, S.B., ... Van Immerseel, F. (2018). Expansion of the *Clostridium perfringens* toxin-based typing scheme. *Anaerobe*. 53, 5- 10. doi: 10.1016/j.anaerobe.2018.04.011
- Rood, J. I., Keyburn, A. L., Moore, R. J. (2016). NetB and necrotic enteritis: the hole movable story. *Avian Pathology*, 45(3), 295-301. doi: 10.1080/03079457.2016.1158781
- Rychlik, I., Elsheimer-Matulova, M., Kyrova, K. (2014). Gene expression in the chicken caecum in response to infections with non-typhoid *Salmonella*. *Veterinary research*, 45(1), 1.
- Salanitro, J. P., Fairchild, I. G., Zgornicki, Y. D. (1974). Isolation, culture characteristics, and identification of anaerobic bacteria from the chicken cecum. *Applied Microbiology*, 27, 678- 687. doi: 10.1128/am.27.4.678-687.1974
- Sengupta, R., Altermann, E., Anderson, R.C., McNabb, W.C., Moughan, P.J., Roy, N.C. (2013). The role of cell surface architecture of lactobacilli in host-microbe interactions in the gastrointestinal tract. *Mediators Inflammation*, 2013, 237921. <https://doi.org/10.1155/2013/237921>

- Shimizu, T., Ohtani, K., Hirakawa, H., Ohshima, K., Yamashita, A., Shiba, T., ... Hayashi, H. (2002). Complete genome sequence of *Clostridium perfringens*, an anaerobic flesh-eater. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 99 (2), 996- 1001. doi: 10.1073/pnas.022493799
- Shojadoost, B., Vince, A. R., Prescott, J. F. (2012). The successful experimental induction of necrotic enteritis in chickens by *Clostridium perfringens*: a critical review. *Veterinary Research*, 43,74. doi: 10.1186/1297-9716-43-74
- Shu, X., Wang, Y., Zhou, Q., Li, M., Hu, H., Ma, Y., ... Huang, S., (2018). Biological degradation of aflatoxin B1 by cell-free extracts of *Bacillus velezensis* DY3108 with broad pH stability and excellent thermostability. *Toxins*, 10(8), 330. doi: 10.3390/toxins10080330
- Singh, S., Shukla, S., Tandia, N., Kumar, N., Paliwal, R. (2014). Antibiotic residues: a global challenge. *Pharma Science Monitor*, 5(3), 184-197.
- Smyth, J.A., Martin, T.G. (2010). Disease producing capability of netB positive isolates of *C. perfringens* recovered from normal chickens and a cow, and netB positive and negative isolates from chickens with necrotic enteritis. *Veterinary Microbiology*, 146, 76- 84. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.04.022
- Sokale, A., Menconi, A., Mathis, G., Lumpkins, B., Sims, M., Whelan, R., Doranalli, K. (2019). Effect of *Bacillus subtilis* DSM 32315 on the intestinal structural integrity and growth performance of broiler chickens under necrotic enteritis challenge. *Poultry Science*, 98, 5392–5400. doi:10.3382/ps/pez368
- Sonia, R., Kehariaa, H., Boseb, A., Panditb, N., Doshi, J., Raoc, S.V.R., ... Raju, M.V.L.N. (2021). Genome assisted probiotic characterization and application of *Bacillus velezensis* ZBG17 as an alternative to antibiotic growth promoters in broiler chickens. *Genomics*, 113, 4061- 4074. doi: 10.1016/j.ygeno.2021.10.012
- Stanley, D., Denman, S.E., Hughes, R.J., Geier, M.S., Crowley, T.M., ... Chen, H. (2012). Intestinal microbiota associated with differential feed conversion efficiency in chickens. *Applied microbiology and biotechnology*, 96(5), 1361–9. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3847-5>

- Stanley, D., Hughes, R. J., Moore, R. J. (2014). Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 4301- 4310. doi: 10.1007/s00253-014-5646-2
- Stanley, D., Wu, S. B., Rodgers, N., Swick, R. A., Moore, R. J. (2014). Differential responses of cecal microbiota to fishmeal, *Eimeria* and *Clostridium perfringens* in a necrotic enteritis challenge model in chickens. *PLoS One*, 9, e104739. doi: 10.1371/journal.pone.0104739
- Stein, T. (2005). *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular Microbiology*, 56(4), 845- 857. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04587.x
- Takehara, M., Takagishi, T., Seike, S., Ohtani, K., Kobayashi, K., ... Nagahama, M. (2016). *Clostridium perfringens* α -Toxin Impairs Innate Immunity via Inhibition of Neutrophil Differentiation. *Scientific reports*, 6, 28192. <https://doi.org/10.1038/srep28192>
- Tellez, G., Higgins, S., Donoghue, A., Hargis, B. (2006). Digestive physiology and the role of microorganisms. *Journal of Applied Poultry Research*, 15(1), 136-144. doi: 10.1093/japr/15.1.136
- Thompson, C.L., Mikaelyan, A. & Brune, A. (2013). Immune-modulating gut symbionts are not “Candidatus Arthromitus”. *Mucosal Immunology*, 6, 200–201.
- Thompson, D.R., Parreira, V.R., Kulkarni, R.R., Prescott, J.F. (2006). Live attenuated vaccine-based control of necrotic enteritis of broiler chickens. *Veterinary Microbiology*, 113, 25–34. doi: 10.1016/j.vetmic.2005.10.015
- Thurlow, C. M., Williams, M. A., Carrias, A., Ran, C., Newman, M., Tweedie, J., ... Liles, M. (2019). *Bacillus velezensis* AP193 exerts probiotic effects in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and reduces aquaculture pond eutrophication. *Aquaculture*, 503, 347–356. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.11.051
- Timbermont, L., De Smet, L., Van Nieuwerburgh, F., Parreira, V. R., Van Driessche, G., Haesebrouck, F., ... Van Immerseel, F. (2014). Perfrin, a novel bacteriocin associated with netB positive *Clostridium perfringens* strains from broilers with necrotic enteritis. *Veterinary Research*. 45(1), 40. doi: 10.1186/1297-9716-45-40
- Treviño, M., Areses, P., Peñalver, M.D, Cortizo, S., Pardo, F., ... Regueiro, B.J. (2012). Susceptibility trends of *Bacteroides fragilis* group and characterisation of carbapenemase-

- producing strains by automated REP-PCR and MALDI TOF. *Anaerobe*, 18(1), 37-43. doi: 10.1016/j.anaerobe.2011.12.022.
- Tuncer, H.İ. (2007). Karma Yemlerde Kullanımı Yasaklanan Hormon, Antibiyotik, Antikoksidiyal ve İlaçlar. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 47(1), 29-37.
- Vahidinasab, M., Ahmadzadeh, M., Henkel, M., Hausmann, R., Heravi, K. M. (2019). *Bacillus velezensis* UTB96 is an antifungal soil isolate with a reduced genome size compared to that of *Bacillus velezensis* FZB42. *Microbiology Resource Announcements*, 8(38), e00667-19. doi: 10.1128/MRA.00667-19
- Van Der Wielen, P. W., Biesterveld, S., Notermans, S., Hofstra, H., Urlings, B. A., van Knapen, F. (2000). Role of volatile fatty acids in development of the cecal microflora in broiler chickens during growth. *Applied and Environmental Microbiology Journal*, 66, 2536-2540. doi: 10.1128/AEM.66.6.2536-2540.2000
- Van Immerseel, F., Buck, J. D., Pasmans, F., Huyghebaert, G., Haesebrouck, F., Ducatelle R. (2004). *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathology*, 33(6), 537- 549. doi: 10.1080/03079450400013162
- Van Immerseel, F., Rood, J. I., Moore, R. J., Titball, R. W. (2008). Rethinking our understanding of the pathogenesis of necrotic enteritis in chickens. *Trends in Microbiology*. 17(1), 32- 36. doi: 10.1016/j.tim.2008.09.005
- Vispo, C., Karasov, W. H. (1997). The interaction of avian gut microbes and their host: An elusive symbiosis. R.J. Mackie, B.A. White (Eds.), *Gastrointestinal Microbiology, Gastrointestinal Ecosystems and Fermentations* içinde (1. bs., ss. 116-155). New York City: Springer.
- Wade, B., Keyburn, A. (2015). The true cost of necrotic enteritis. *World Poultry*, 31, 16- 17.
- Wade, B., Keyburn, A. L., Haring, V., Ford, M., Rood, J. I., Moore, R. J. (2016). The adherent abilities of *Clostridium perfringens* strains are critical for the pathogenesis of avian necrotic enteritis. *Veterinary Microbiology*, 197, 53- 61. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.10.028
- Wei, S., Morrison, M., Yu, Z. (2013). Bacterial census of poultry intestinal microbiome. *Poultry Science*, 92, 67183. doi: 10.3382/ps.2012-02822

- Wilkie, D. C., Van Kessel, A. G., White, L. J., Laarveld, B., Drew, M. D. (2005). Dietary amino acids affect intestinal *Clostridium perfringens* populations in broiler chickens. *Canadian Journal of Animal Science*, 85(2), 185-193. doi: 10.4141/A04-070
- Williams, R. B. (2002). Anticoccidial vaccines for broiler chickens: pathways to success. *Avian Pathology*, 31, 317- 353. doi: 10.1080/03079450220148988
- Willson, N. L., Natrass, G. S., Hughes, R. J., Moore, R. J., Stanley, D., Hynd, P. I., Folder, R. E. A. (2018). Correlations between intestinal innate immune genes and cecal microbiota highlight potential for probiotic development for immune modulation in poultry. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(21), 9317- 9329. doi: 10.1007/s00253-018-9281-1
- Wilson, M.M., Anderson, D.E. Bernstein, H.D. (2015). Analysis of the outer membrane proteome and secretome of bacteroidesfragilis reveals a multiplicity of secretion mechanisms. *PLoS One*, 10, e117732. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117732>
- Wohlgemuth, S., Keller, S., Kertscher, R., Stadion, M., Haller, D., Kisling, Si. (2011) Intestinal steroid profiles and microbiota composition in colitic mice. *Gut Microbes*, 2(3), 159–66. <https://doi.org/10.4161/gmic.2.3.16104>
- Wrigley, D.M. (2004). Inhibition of *Clostridium perfringens* sporulation by *Bacteroides fragilis* and short-chain fatty acids. *Anaerobe*, 10(5), 295–300. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2004.05.006>
- Wu, L., Wu, H., Chen, L., Yu, X., Borriss, R., Gao, X. (2015). Difficidin and bacilysin from *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 have antibacterial activity against *Xanthomonas oryzae* rice pathogens. *Scientific Reports*, 5, 12975. doi: 10.1038/srep12975
- Y H Zeng 1, M Koblížek, Y X Li, Y P Liu, F Y Feng, J D Ji, J C Jian, Z H Wu
- Yan, W., Sun, C., Yuan, J., Yang, N. (2017). Gut metagenomic analysis reveals prominent roles of *Lactobacillus* and cecal microbiota in chicken feed efficiency. *Scientific Reports*, 7, 45308. <https://doi.org/10.1038/srep45308>
- Yan, X., Porter, C. J., Hardy, S. P., Steer, D., Smith, A. I., Quinsey, N. S., ... Rood, J.I. (2013). Structural and functional analysis of the pore-forming toxin NetB from *Clostridium perfringens*. *mBio*, 4, e00019–e00013.
- Yang, J. H., Bhargava, P., McCloskey, D., Mao, N., Palsson, B. O., Collins, J. J. (2017). Antibiotic-induced changes to the host metabolic environment inhibit drug efficacy and

alter immune function. *Cell Host & Microbe*, 22(6), 757–765. doi: 10.1016/j.chom.2017.10.020

- Yang, W.Y., Lee, Y., Lu, H., Chou, C.H., Wang, C. (2019). Analysis of gut microbiota and the effect of lauric acid against necrotic enteritis in *Clostridium perfringens* and *Eimeria* side-by-side challenge model. *PLoS ONE*, 14(5): e0205784. doi: 10.1371/journal.pone.0205784
- Ye, M., Tang, X., Yang, R., Zhang, H., Li, F., Tao, F., ... Wang, Z. (2018). Characteristics and Application of a Novel Species of Bacillus: *Bacillus velezensis*, *ACS Chemical Biology*, 13(3), 500–505.
- Ye, M., Wei, C., Khalid, A., Hu, Q., Yang, R., Dai, B., ... Wang, Z. (2020). Effect of *Bacillus velezensis* to substitute infeed antibiotics on the production, blood biochemistry and egg quality indices of laying hens. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 400. doi: 10.1186/s12917-020-02570-6
- Yeoman, C. J., Chia, N., Jeraldo, P., Sipos, M., Goldenfeld, N. D., White, B. A. (2012). The microbiome of the chicken gastrointestinal tract. *Animal Health Research Reviews*, 13 (1), 89- 99. doi: 10.1017/S1466252312000138
- Yu, Q., Lepp, D., Gohari, I. M., Wu, T., Zhou, H., Yin, X., ... J. Gong. (2017). The Agr-like quorum sensing system is required for pathogenesis of necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens* in poultry. *Infection and Immunity*, 85(6), e00975–16. doi: 10.1128/IAI.00975-16
- Zasloff, M. (2002). Antimicrobial peptides in health and disease. *The New England Journal of Medicine*, 347, 1199- 1200. doi: 10.1056/NEJME020106
- Zeng, B., Han, S., Wang, P., Wen, B., Jian, W., Guo, W. (2015). The bacterial communities associated with fecal types and body weight of rex rabbits. *Scientific Reports*, 5, 9342. <https://doi.org/10.1038/srep09342>
- Zeng, Y.H., Koblížek, M., Li, Y.X., Liu, Y.P., Feng, F.Y., Ji, J.D., ... Wu, Z.H. (2013). Long PCR-RFLP of 16S-ITS-23S rRNA genes: a high-resolution molecular tool for bacterial genotyping. *Journal of Applied Microbiology*, 114 (2), 433–447. doi: 10.1111/jam.12057
- Zhang, D. X., Kang, Y. H., Zhan, S., Zhao, Z. L., Jin, S. N., Chen, C., ... Qian, A.D. (2019). Effect of *Bacillus velezensis* on *Aeromonas veronii*-induced intestinal mucosal barrier

function damage and inflammation in Crucian carp (*Carassius auratus*). *Frontiers in Microbiology*, 10, 2663. doi: 10.3389/fmicb.2019.02663.

Zuidhof, M. F., Scheneider, B. L., Korver, D. R., Robinson, F. E. (2014). Growth, efficiency and yield of commercial broilers from 1957, 1978 and 2005. *Poultry Science*, 93, 2970-2982. doi: 10.3382/ps.2014-04291

Žuntar, I., Petric, Z., Bursac Kovačević, D., Putnik, P. (2020). Safety of probiotics: functional fruit beverages and nutraceuticals. *Foods*, 9, 947. doi: 10.3390/foods9070947

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Tavuklarda Nekrotik Enteritis İnfeksiyonlarında Bağırsak Mikrobiyomu ve Tedavi Alternatiflerinin Karşılaştırılması” başlıklı tezimdaki bütün bilgileri etik davranışlar ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Özge YILMAZ ÇAĞIRGAN
...../...../2022

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : Özge YILMAZ ÇAĞIRGAN
Uyruk : T.C
Doğum tarihi ve yeri : 22.07.1987/ Bandırma
Telefon : 0535 351 82 49
E-mail : yilmaz-ozge@windowslive.com
Yabancı dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.B.D.	Mayıs 2014
Lisans	Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi	Haziran 2010

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2017-	İzmir/ Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü	Veteriner Hekim
2013-2017	Ordu/ Ulubey İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü	Veteriner Hekim

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

- Albayrak, H., Şahindokuyucu, İ., Müftüoğlu, B., Tamer, C., Kadı, H., Ozan, E., Yılmaz Çağırğan, Ö., Kılıç, H., Kuruçay, H.N., Çöven, F., Gümüşova, S., Yazıcı, Z., Elhag, A.E. (2021). Sentinel serosurveillance of backyard hens proved West Nile virus circulation in

the western provinces of Turkey. *Veterinary Medicine and Science*, 7, 2348- 2352. doi: 10.1002/vms3.589.

- Çağırğan Yılmaz O., Çağırğan A.A. (2020). Epidemiological modelling in infectious diseases: stages and clasification. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5, 3, 151- 158.
- Şahindokuyucu, İ., Çöven, F., Kılıç, H., Yılmaz, Ö., Kars, M., Yazıcıoğlu, Ö., Ertunç, E., Yazıcı, Z. (2019). First report of fowl aviadenovirus serotypes FAdV-8b and FAdV-11 associated with inclusion body hepatitis in commercial broiler and broiler-breeder flocks in Turkey. *Archives of Virology*, 165, 43-51. doi: 10.1007/s00705-019-04449-w.
- Şahan, Ö., Aral, E.M., Aden, M.M.A, Aksoy, A., Yılmaz Ö., Jahed, R., Akan, M. (2016). Distribution and antibiotic resistance of Salmonella isolates from broiler enterprices in Turkey, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 63, 1-6. doi: 10.1501/Vetfak_0000002701

2. PROJELER

- Kanatlı Hayvanlarda Newcastle Hastalığı İçin Ülkemizde Yaygın Olan Genotiplerine Karşı GMP Şartlarında İnaktif Aşı Geliştirilmesi: Pilot Üretim (2020- Devam ediyor)
- Ulusal Veteriner Antibiyotik Direnç İzleme Projesi (2017- 2021)

3. BİLDİRİLER

- Şahan, Ö., Yılmaz, Ö., Aden, M.M.A., Ashour, A., Aral, E.M., Jahed, R., Akan, M. (2012). Serotype distribution of Salmonella isolates of chicken origin, 9th National Veterinary Microbiology Congress, Kuşadası, Aydın, TURKEY.