



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI



**ENFEKTİF İSHALLİ VE SAĞLIKLI NEONATAL BUZAĞILARDA
SERUM AMYLOİD A, SERUM CALPROTECTİN VE FEKAL
CALPROTECTİN ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN VE İNFLAMATUVAR
MARKER OLARAK DİAGNOSTİK ÖNEMLERİNİN BELİRLENMESİ**

ADİL ÖMER KARAKUŞ

(DOKTORA TEZİ)

BURSA - 2021





T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI



**ENFEKTİF İSHALLİ VE SAĞLIKLI NEONATAL BUZAĞILARDA
SERUM AMYLOİD A, SERUM CALPROTECTİN VE VE FEKAL
CALPROTECTİN ARASINDAKİ İLİŞKİLERİN VE İNFLAMATUVAR
MARKER OLARAK DİAGNOSTİK ÖNEMLERİNİN BELİRLENMESİ**

ADİL ÖMER KARAKUŞ

(DOKTORA TEZİ)

DANIŞMAN:

PROF. DR. ETHEM MUTLU TEMİZEL

OUAP(V) - 2020/1 Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi

BURSA-2021

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Doktora tezi olarak sunduğum

“Enfektif ishalli ve sağlıklı neonatal buzağlarda Serum Amyloid A, Serum Calprotectin ve Fekal Calprotectin arasındaki ilişkilerin ve inflamatuvar marker olarak diagnostik önemlerinin belirlenmesi” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Adil Ömer KARAKUŞ

Tarih

İmza

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

21/06/2021

Adı Soyadı: Adil Ömer KARAKUŞ

Anabilim Dalı: Veteriner İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Konusu: Enfektif ishalli ve sağlıklı neonatal buzağılarda Serum Amyloid A, Serum Calprotectin ve Fekal Calprotectin arasındaki ilişkilerin ve inflamatuvar marker olarak diagnostik önemlerinin belirlenmesi

ÖZELLİKLER	UYGUNDUR	UYGUN DEĞİLDİR	AÇIKLAMA
Tezin Boyutları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı:

Prof. Dr. Ethem Mutlu TEMİZEL

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYANI	II
KABUL ONAYI	III
TEZ KONTROL VE BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Neonatal Buzağı İshalleri	3
2.1.1. Neonatal Buzağı İshallerine Predispoze Edici Faktörler	5
2.1.1.1. Neonatal İmmunite, Pasif Transfer Yetmezliği ve Aşılama	6
2.1.1.2. Yönetimsel Faktörler	9
2.2. Bakteriyel Kökenli Neonatal Buzağı İshalleri	12
2.2.1. <i>Escherichia coli</i> İshalleri	13
2.2.2. Bakteriyel Kökenli İshallerin Teşhisi	17
2.3. Viral Kökenli İshalleri	18
2.3.1. Rotavirus İshalleri	18
2.3.2. Coronavirus İshalleri	20
2.3.3. Viral Kökenli İshallerin Teşhisi	21
2.4. Protozoer Kökenli İshaller	22
2.4.1. <i>Cryptosporidium parvum</i> İshalleri	22
2.4.2. Protozoer Kökenli İshallerin Teşhisi	25
2.5. Akut Faz Reaksiyonları	25
2.5.1. Akut Faz Proteinleri	26
2.5.1.1. Serum Amyloid A	28
2.5.1.2. Serum Amyloid A ve Enfektif İshal İlişkisi	30
2.5.1.3. Serum Haptoglobin	32
2.5.1.4. Serum Haptoglobin ve Enfektif İshal İlişkisi	33
2.5.1.5. Diğer Akut Faz Proteinleri ve Enfektif İshal İlişkileri	34
2.5.2. Potansiyel Bir Yeni Akut Faz Proteini: Serum Calprotectin	35
2.5.2.1. Serum Calprotectin ve Enfektif İshal İlişkisi	36
2.5.2.2. Serum Calprotectin ve Neonatal Sepsis İlişkisi	37
2.6. Buzağılarda İntestinal İnflamasyon ve Oluşan İmmun Yanıt	38
2.6.1. Fekal Markerlar	41
2.6.1.1. Fekal Calprotectin	41
2.6.1.2. Fekal Calprotectin ve Akut Faz Proteinleri Arasındaki İlişki	46
2.6.1.3. Diğer Bazı Fekal Markerlar	48
3. GEREÇ VE YÖNTEM	50
3.1. Hayvan Materyali ve Gruplandırma	50
3.1.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	50
3.2. Örneklerin Alınması	52
3.3. Laboratuvar Analizleri	53
3.4. Sonuçların İstatistiksel Değerlendirilmesi	57

4. BULGULAR	58
4.1. Klinik Parametreler	58
4.2. Serum GGT ve Total Lökosit Düzeyleri	64
4.3. Serum Amyloid A Düzeyleri	66
4.4. Serum Calprotectin Düzeyleri	67
4.5. Fekal Calprotectin Düzeyleri	72
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	81
6. KAYNAKLAR	102
7. SİMGELER VE KISALTMALAR	124
8. EKLER	125
9. TEŞEKKÜR	126
10. ÖZGEÇMİŞ	127

TÜRKÇE ÖZET

Bu çalışmada neonatal dönemdeki enfektif ishelli buzağılarda serum amyloid A (SAA), serum calprotectin (SCalp) ve fekal calprotectin (FCalp) düzeyleri araştırıldı. Çalışma gruplarını etiyojik teşhislere göre, *E.coli* (n=17), *C.parvum* (n=11), *C. Parvum* + viral (mix) (n=8), viral (n=19) ve kontrol grubu (n=15) olacak şekilde toplam 70 buzağı oluşturdu. İshalin ilk tespit edildiği an olan 0. günde ve tedavi sonrası 7. günde buzağuların vücut sıcaklığı, respirasyon ve pulzasyon sayıları, dışkı, emme ve mental statü skorları kayıt altına alındı. Bu günlerde ayrıca kan ve dışkı örnekleri alındı. 0. gün kan örneklerinden WBC, serum GGT, SAA ve SCalp; dışkı örneklerinden ise FCalp düzeyleri belirlendi. Bütün klinik parametrelerde 7.günde istatistiksel olarak anlamlı düzelmeler saptandı. 0.günde ölçülen ortalama SAA konsantrasyonları, ishelli ve sağlıklı grup için sırası ile 0,54 (0,16 – 2,18) ng/ml ve 38,40 (8,28 – 83,96) ng/ml olarak ölçüldü ve iki ölçüm günü arasında istatistiksel fark elde edildi (P < 0,001). Sunulan çalışmada 0. gün SCalp düzeyleri açısından ishelli (68,02 ng/ml) ve kontrol (24,05 ng/ml) grubu arasında anlamlı istatistiksel fark elde edildi (P < 0,001). *E.coli* pozitif buzağuların oluşturduğu gruptaki SCalp ve FCalp değerleri diğer etiyojik etkenlerdeki düzeylere göre daha yüksek saptandı. Ayrıca bakteriyel ve viral kökenli ishal vakaları ayırt etme gücünün tespiti için yapılan ROC analizinde SCalp'ın cut-off değeri $\leq 70,969$ ng/ml (Sens: %94, Spec: 62,5, AUC: 0,842, P=0,002) olarak bulundu. FCalp düzeyleri 0.günde ishelli ve sağlıklı grupta sırasıyla, 98,23 ng/ml ve 87,91 ng/ml olarak bulundu ve iki grup arasında istatistiksel fark elde edildi (P = 0,01). ROC analizlerine göre FCalp'ın cut-off konsantrasyonu $> 91,804$ ng/ml olarak bulundu (AUC: 0,694, P = 0,0057). Ayrıca yapılan lojistik regresyon analizinde, 0.gün FCalp Odds Ratio değerinin 6,316 (P = 0,009) olduğu belirlendi. Bu çalışmada; veteriner literatüründe buzağı ve sığırlarda ilk kez değerlendirilen FCalp ve SCalp'in önemleri vurgulanmaktadır. Bu çalışmada, buzağılarda enfektif intestinal hastalıklarda, SCalp ve FCalp ile elde edilen verilerin ileride yapılacak çalışmalara ışık tutacağı, sahada kullanışlı bir parametre olarak yangısal sürecin monitarizasyonunda kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: calprotectin, serum amyloid a, buzağı, ishal

İNGİLİZCE ÖZET

Determination of The Relationships Between Serum Amyloid A, Serum Calprotectin And Fecal Calprotectin In Healthy And Infectious Diarrheic Calves and Their Diagnostic Significances as Inflammatory Markers

In this study, serum amyloid A (SAA), serum calprotectin (SCalp) and fecal calprotectin (FCalp) levels were investigated in neonatal calves with infectious diarrhea. Study groups were divided into *E. coli* (n = 17), *C. parvum* (n = 11), *C. Parvum* + viral (mix) (n = 8), viral (n = 19) and control group (n = 15) according to etiological diagnoses and a total of 70 calves were included in this study. Body temperature, respiration and pulsation numbers, stool, sucking and mental status scores of calves were recorded on the day 0, when diarrhea was first detected, and on the 7th day, after treatment. On these days, blood and stool samples were also taken. WBC counts and serum GGT values were measured from blood samples. SAA, SCalp and FCalp levels were measured with commercial ELISA kits. All calves with diarrhea were successfully treated and there was no calf loss. Statistically significant improvements were detected on the 7th day in all clinical parameters. Serum GGT concentrations on day 0 did not show a statistically significant difference for the diarrheal and control groups, therefore it was concluded none of the calves showed sign of passive transfer failure in both groups. Mean SAA concentrations on day 0 were measured as 0.54 (0.16 - 2.18) ng/ml and 38.40 (8.28 - 83.96) ng/ml for the diarrhea and healthy group, respectively. There was a statistical difference between the measurement day ($P < 0.001$). In the study presented, a statistically significant difference was obtained between the diarrheic (68.02 ng/ml) and control (24.05 ng / ml) groups in terms of SCalp levels on day 0 ($P < 0.001$). In addition, the cut-off value of SCalp was found to be ≤ 70.969 ng/ml (Sens: 94%, Spec: 62.5, AUC: 0.842, $P = 0.002$) in the ROC analysis performed to determine the power to distinguish bacterial and viral diarrhea cases. FCalp levels on day 0 were 98.23 ng/ml and 87.91 ng/ml in the healthy and diarrheal groups, respectively. Statistical difference was obtained between the two groups ($P = 0.01$). According to ROC analysis, the cut-off concentration of FCalp was found to be > 91.804 ng/ml (AUC: 0.694, $P = 0.0057$). In addition, as a result of the logistic regression analysis, it was seen that FCalp was able to identify animals with diarrhea with 6.316 times ($P = 0.009$). The highest levels of SCalp and FCalp measured on day 0 were found in *E. coli* group. As a result, the importance of FCalp and SCalp in diagnosing the status of infective diarrhea for the first time in the veterinary literature is emphasized.

Key words: calprotectin, serum amyloid a, calf, diarrhea

1. GİRİŞ

Enfektif ishaller neonatal buzağılarda süttten kesim yaşına kadar görülen en önemli sağlık problemlerindendir ve bu yaşa kadar olan buzağı ölümlerinin yaklaşık yarısından sorumludur. Bu durum ekonomik açıdan hayvancılıkta karı doğrudan düşürmekte ve işletmenin geleceğini olumsuz yönde etkilemektedir. Genel olarak enfektif ishallerine neden olan ana etkenler; ilk 7 günlük yaşta enterotoksijenik *Esheria coli* (ETEC), 7-21 günlük yaşta *Cryptosporidium parvum*, 0-28 günlük yaşta Rotavirus ve Coronavirus olarak sınıflandırılmaktadır.

Akut faz proteinleri (APP), immun sistemin enfeksiyon, inflamasyon veya travma durumlarına karşı verdiği yanıtın değerlendirilmesi amacıyla ölçümü yapılan kan proteinleridir. APP'lerin serum profilleri türler arasında farklılık göstermektedir. Sığırdaki temel major APP'ler: haptoglobin (Hp), serum amyloid A (SAA), seruloplazmin ve fibrinojen olmakla birlikte Hp ve SAA'nın sensitivite ve spesifitesinin daha yüksek olduğu ve sığırdaki bakteriyel enfeksiyonların tanısında biyobelirteç olarak daha sık kullanıldığı bildirilmektedir.

Lökosit kökenli sitozolik bir protein olan calprotectin, özellikle akut enfeksiyonlarda sayıları artan nötrofillerde büyük oranda bulunmakta ve bu sebeple inflamasyon kaynağında miktarları artış göstermektedir. İnsanlarda yangısal bağırsak sendromu (IBS)'nda klinik belirtiler ortaya çıkmadan önce bu proteinin değerlerinde artışlar tespit edilerek tedavinin erken başlanması ve dolayısıyla tedavinin başarısının arttığı bilinmektedir. FCalp düzeylerinin ayrıca neonatal bebeklerde sık karşılaşılan bakteriyel ve viral kökenli ishallerin non-enfektif ve gidai ishal ayırımında bir belirteç olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Çocuklarda yapılan çalışmalardada akut ishallerin bakteriyel ve viral kökeninin ayırımı FCalp seviyelerinin ölçümü ile başarılı şekilde yapılmıştır. İnsanlarda yapılan çeşitli çalışmalarda, SCalp konsantrasyonlarının özellikle

yangısel durumlarda artış gösterdiği ve önemli bir belirteç olarak kendine yer edindiği düşünölmektedir.

Bu çalışmada neonatal dönemdeki buzağılarda görölen enfekif ishal durumlarındaki serum calprotectin (SCalp) ve fekal calprotectin (FCalp)'in farklı ishal etiyojilerindeki değışimleri ve bu parametrelerin buzağılarda yeni bir fekal yangısal belirteç olarak tanısal kullanımının araştırılması amaçlandı. Diğer taraftan yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle; septisemik *E.coli* pozitif vakalarda SCalp ve FCalp değeri irdelenerek, septiseminin teşhisinde hassas bir belirteç olarak kullanılabileceği düşünölmektedir. Ayrıca bu parametrelerin, sığır spesifik akut faz proteinlerinden olan serum amyloid A (SAA) düzeyindeki değışimlerle olan ilişkisinin değerlendirilmesi ve bakteriyel ishaller başta olmak üzere enfektif ishallerde hastalığın diyagnoz ve prognozunda bir biyo-belirteç olarak kullanılabilirliğinin irdelenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Neonatal Buzağı İshalleri

Erken dönem buzağı ölümlerinin önemli bir kısmını enfektif ishaller ve solunum sistemi enfeksiyonları oluşturmakta ve kayıplar özellikle ilk 1 haftalık yaşta sık görülmektedir (Gulliksen, Lie & Token, 2009). Buzağı ishalleri temel olarak enfektif ve non-enfektif olarak iki kategoriye ayrılmakta ancak neonatal buzağı ishallerinin büyük bir kısmına enfektif ajanlar neden olmaktadır (Izzo et al., 2011). Enfektif kökenli neonatal buzağı ishalleri, sütten kesim öncesi görülen buzağı ölümlerinin yaklaşık %75'ine kadarını oluşturabilmekte ve erken yaşta oluşan buzağı kayıpları ve buzağının ileriki hayatında oluşan performans ve verim düşüşleri neticesinde büyük ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Donovan, Dohoo, Montgomery & Bennett, 1998; Svensson et al., 2003). Buzağı ishallerinden korunma ve tedavi için buzağı başına ortalama 33,46 USD ek bir maliyet ortaya çıktığı bildirilmektedir (Bendali, Sanaa, Bichet & Schelcher, 1999). Benzer bir kapsamlı çalışma yıllık ortalama 290.000 buzağının doğduğu Norveçte gerçekleştirilmiş ve neonatal buzağı ishallerini oluşturduğu buzağı kayıplarının, tedavi ve çeşitli masrafların yıllık 10 milyon USD zarar ortaya çıkarttığı saptanmıştır (Gulliksen et al., 2009). Yıllık ortalama 6 milyon buzağı doğumuna ev sahipliği yapan Türkiyede ise kapsamlı literatürel bir çalışma bulunmamasıyla birlikte araştırmacılar tarafından genel neonatal buzağı ölüm oranlarının %15'lere kadar çıkabildiği, enfektif ishal kaynaklı neonatal buzağı ölüm oranlarının ise %50'lere kadar çıkabildiği belirtilmekte, genel ölümlerinin ise 450 milyon avruluk bir zarara yol açabileceği belirtilmektedir (Elitok & Elitok, 2016). Bu durum ekonomik açıdan hayvancılıkta karı doğrudan düşürmekte ve işletmenin geleceğini olumsuz yönde etkilemektedir (USDA APHIS Veterinary Services National Animal Health Monitoring System, 1998).

Buzağı ishallerini oluşturan major enfektif ajanlar arasında *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Cryptosporidium parvum*, *Eimeria* spp., *Giardia* spp., Rotavirus, Coronavirus, Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) bulunmakta, yakın zamanda ishalin oluşmasında minor olarak rol alan Torovirus ve Calicivirus gibi etkenlerin varlığı da ortaya konmuştur (Foster & Smith, 2009; Cho & Yoon, 2014). Cho et al. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada ishallerin %80'inde en az bir enfektif ajan saptanmakta ve iki veya daha fazla ajanın tespit edildiği mix enfeksiyon oranının %50'yi aşabildiği bildirilmektedir. Genel olarak enfektif ishallerin neden olan etkenlerin gözlendiği yaş aralıkları; ilk 7 günlük yaşta enterotoksijenik *Escherichia coli* K99 (ETEC), ilk 1 aylık yaşta *Salmonella* spp., ilk 1 aylık yaşta *Clostridium perfringens*, 5-21 günlük yaşta *Cryptosporidium parvum*, 0-14 ve 0-28 günlük yaşta Rotavirus ve Coronavirus, 2 haftalık yaştan itibaren *Eimeria* spp. ve *Giardia* spp., özellikle ilk bir aylık yaş olmak üzere herhangi bir zamanda ise BVDV olarak belirtilmektedir (**Tablo 1**) (Foster & Smith, 2009; Blanchard, 2012).

Buzağılarda ishale yol açan etkenlerin prevalans oranları çeşitli araştırmacılar tarafından dünyanın pek çok farklı yerinde rapor edilmektedir. Etiyolojik çalışmalarda mix enfeksiyonların oransal olarak çok çeşitlilik gösterdiği çeşitli çalışmalarda görülmektedir. *C. parvum* kaynaklı ishallerin incelendiği bir çalışmada 218 buzağının %87'sinin *C.parvum* + viral vakalardan oluştuğu (De La Fuente et al., 1999), yine bir diğer çalışmada 1 aydan az yaştaki 203 ishallerin %17'sinin *C.parvum* + viral mix enfeksiyon olduğu rapor edilmektedir (Langoni et al., 2004). Angus (1983) tarafından yapılan bir çalışmada ise *C. parvum* + rotavirus mix enfeksiyonunun diğer bütün patojen kombinasyonlarına göre en sık rastlanan ikili enfeksiyon olduğu bildirilmektedir.

Türkiyedeki araştırmacılar tarafından yapılan çeşitli çalışmalarda ishallerin buzağılardan izole edilen enfektif patojen oranları farklılık gösterse de sıklıkla benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmalarda mono rotavirus teşhis oranları %17,4 – 53 arasında, mono coronavirus teşhis oranları %13,4 – 26,9 arasında, her iki viral etkenin kombine teşhis edildiği oranlar % 13,4 – 18,2 arasında, *E. coli*'nin mono veya diğer viral

ajanlarla olan miks enfeksiyon oranları % 13 – 60 arasında, *C. parvum* ise % 22 ile 35,8 arasında tespit edilmektedir (Al & Balıkçı, 2012).

Tablo 1. Enfektif ishale neden olan etiyolojik ajanlar ve gözleendiği yaş aralıkları (Foster & Smith, 2009; Blanchard, 2012).

Etken	Gözleendiği Ortalama Yaş Aralıkları
<i>Escherichia coli</i> K99(ETEC)	0 – 7 gün
<i>Clostridium perfringens</i>	Ortalama ilk 1 aylık yaş
<i>Salmonella</i> spp.	0 – 28 gün
Rotavirus	0 – 14 gün
Coronavirus	0 – 28 gün
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5 – 21 gün
<i>Giardia</i> spp.	2 haftalık yaş ve üzeri
<i>Eimeria</i> spp.	2 haftalık yaş ve üzeri
BVDV	Ortalama ilk 1 aylık yaş veya herhangi bir zaman

2.1.1. Neonatal Buzağı İshallerine Predispoze Edici Faktörler

Yenidoğan buzağuların ishale yakalanma ihtimali bir çok farklı değişkene bağlıdır. Genel olarak ishale hazırlayıcı nedenler arasında; pasif transfer durumu ve kolostrum yönetimi (Wells, Dargatz & Ott, 1996), beslenme rejimi, annenin ve buzağının aşılama statüsü (Windeyer et al., 2014), barınma şartları, genetik ve çevresel faktörler (Gulliksen et al., 2009) gibi yönetsel faktörler ve buzağıyı ishale predispoze hale getiren altta yatan enfektif ajanların varlığı (Lundborg, Svensson & Oltenacu, 2005) bulunmaktadır. Buzağuların enterik immun sistem gelişimi doğumdan sonra aşamalı olarak gerçekleşmekte ve kolostrum bu gelişimde direkt rol almaktadır. Annenin özellikle kuru dönemde sentezlediği kolostrumda yüksek oranda bir çok antimikrobiyal faktör, antikor, sitokin ve lökosit bulunmakta, özellikle enterik patojenlere karşı (*E.coli*, Rotavirus ve Coronavirus) annenin aşılması ile oluşan antikorlar kolostruma geçmekte, buzağının bu kolostrumu tüketmesi ile bahsi geçen spesifik antikorlar buzağının bağırsak lümeninde lokalize olarak potansiyel neonatal hastalıklara karşı ilk koruyucu bariyeri oluşturmaktadır (Stelwagen, Carpenter, Haigh, Hodgkinson & Wheeler, 2009).

2.1.1.1. Neonatal İmmunite, Pasif Transfer Yetmezliği ve Aşılama

Buzağuların immun sistemi erken fetal dönemde gelişmeye başlamaktadır. Fetal timus ortalama 40. günden, kemik iliği, dalak ve lenf nodülleri ise ortalama 60. günden, bağırsaktaki peyer plakları ise 175. günden itibaren gelişmeye başlamaktadır. Fötüs'ün antijenlere cevap verme yeteneği, lenfoid organlar geliştikten hemen sonra ortaya çıkar ancak tüm antijenler eşit derecede fetal lenfoid dokuyu uyarma yeteneğine sahip değildir. Buzağı fötüsünün sirkülasyonundaki B-lenfositler 45. günden itibaren immunglobulin M (IgM), 60. günden itibaren ise immunglobulin G (IgG) üretme yeteneği kazanırlar (Wilson, Zohnai, Rudas & Frenyo, 1996). Örneğin buzağı fötüsü'nun rotavirüse 73. günde, parvovirüse 93. günde, parainfluenza-3 virüsüne ise 120. günde antikor cevabı verebildiği rapor edilmektedir. Annenin plasental bağlantısı sayesinde doğuma kadar henüz yeterince immunkompetan olmayan fötüsün sahip olduğu immun sistemi “*innate (doğal)*” veya maternal immunité olarak adlandırılmaktadır. Bu doğal immunité, gebeliğin son dönemlerinde fetal kortizolün salınmaya başladığı periyoda kadar aktif kalmakta ve büyük oranda makrofaj ve nötrofil gibi fagositer hücreler tarafından oluşmakla birlikte antikor serokonversiyonu da savunmada rol oynamaktadır. T ve B lenfosit ve komplementlerin oluşturduğu humoral bağışıklık sistemi ise doğuma 1 ay kala hızlıca etkinliğini yitirmekte ve özellikle antikor üreten B lenfosit ve plazma hücrelerinin sayısal oranı doğum anında sağlıklı bir buzağının sirkülasyonundaki antikor oranının % 1-2'sine kadar azalmaktadır. Bu nedenle buzağular sirkülasyonlarında minimal bir antikor konsantrasyonu ile doğmalarına rağmen sıklıkla antikordan yoksun yani agamaglobulinemik doğmaktadır (Tierney & Simpson-Morgan, 1997; Kampen, Olsen, Tollersrud, Storset & Lund 2006; Cortese, 2009).

Sığır plasentasının yapısı nedeniyle, buzağı koruyucu immünoglobulinlere (Ig) sahip olmadan doğar ve bu nedenle özellikle maternal IgG'nin kolostrum ile pasif transferine ihtiyaç duyar. Çok sayıda çalışma, pasif transfer yetmezliğinin (PTY) buzağularda ishal ve diğer neonatal hastalıklarda morbidite ve mortaliteyi belirgin şekilde arttırdığını göstermiştir (Lorenz, Fagan & More, 2011; Godden, Lombard & Woolums, 2019). Kolostrum Ig içeriğinin yaklaşık %85'ini IgG oluşturmakta ve yüksek kalite bir

kolostrum içeriğinde ortalama 50 g/L IgG bulunmaktadır. Yeni doğan bir buzağının ilk 24 saat içerisinde vücut ağırlığının %10'u kadar kolostrum tüketmesi gerekmektedir. Buna göre ortalama 40-45 kg doğan bir Holstein-Friesian ırkı buzağının ilk 24 saatte tüketmesi gereken miktar en az 4 litre olmaktadır. Ancak kolostrum içeriğindeki IgG konsantrasyonları farklılık gösterdiği için bu formülasyon her zaman uygun olamamaktadır (Godden, 2008). Besser, Gay & Pritchett (1991), ilk tüketimde alınan toplam 100 g/L IgG'nin güvenli bir pasif transfer oluşturduğunu belirtmektedir. Ig'ler dışında kolostrum bir çok sitokin, büyüme faktörü, maternal lökosit, non spesifik antimikrobiyel faktörler de içermektedir (Godden et al., 2019). Buzağılarda bağırsakların aktif bir immun yanıt geliştirebilme yeteneği bu nedenle doğumdan sonra tüketilen kolostrum ile başlamaktadır. Kolostrumda bulunan IL-1 β , IL-6, TNF-alfa gibi çeşitli sitokinler buzağının bağırsak lümeninde lenfosit proliferasyonunu ve nötrofil ve makrofajların fagositer işlevlerini başlatarak ilk pro-inflamatuar yanıtın oluşmasını sağlamaktadır. Kolostrumun bir diğer işlevi ise içeriğinde doğrudan bulunan maternal makrofaj, lenfosit ve nötrofiller ve çeşitli antikorların buzağının bağırsak lümeninde lokalize olarak patojenlere karşı direkt bir savunma sağlamasıdır (Hagiwara et al., 2000; Liebler-Tenorio, Riedel-Casperi & Pohlenz, 2002). Buzağı tarafından özellikle ilk gün tüketilen kolostrum sayesinde bağırsak içeriğindeki enfektif mikrobiyel yük doğrudan elimine edilebilmekte, kolostrumun bağırsaktan emilmesinden sonra da hızlı bir humoral bağışıklık oluşmaktadır (Weaver, Tyler, VanMetre, Hostetler & Barrington, 2000). Kolostrum bankalarından veya sürüdeki enfekte hayvanlardan alınan kolostrum yoluyla buzağıya geçebilen önemli patojen etkenler bulunmaktadır. BVDV, bovine leukosis virus ve *Mycobacterium avium* subs. *paratuberculosis* etkenleri kolostral yol ile bulaşan başlıca önemli ajanlardır. Bu etkenler kolostrumun pastörize edilmesi ile çoğu zaman elimine edilememekte ve etkeni alan buzağıda immun sistemin zayıfladığı ve enfektif ishallerle yatkınlık geliştirdiği veya bu etkenlerin doğrudan hastalığa yol açtığı bildirilmektedir (Lundborg et al., 2005). PTY'nin ortaya konması için serum gamma-glutamil transferaz (GGT), serum IgG, serum total protein (TP) ve serum brix değerleri ölçülmektedir. Serum IgG ölçümleri altın standart olarak kabul edilmekte, kolostrumu tüketmiş ve ortalama 3 günlük yaştaki bir buzağı için serum IgG'nin 10 g/L'den düşük olması PTY'yi işaret

etmektedir (Hogan et al., 2015). Bunun yanında çeşitli araştırmacılar IgG konsantrasyonları ile serum GGT, serum TP ve serum brix (%) değerleri arasındaki ilişkiyi ortaya koyarak bu parametrelerdeki belirli cut-off değerleri ile PTY arasındaki ilişki ortaya koymuştur. Cuttance, Mason, Denholm & Laven (2017), 5 günlük yaş ve altındaki buzağılarda serum GGT'nin 250 U/L ve altında, serum brix değerinin %8.8 ve altında olmasının PTY'yi belirttiğini, ayrıca 5 ile 8 günlük yaştaki buzağılarda serum GGT'nin PTY için cut-off değerinin 210 U/L ve altı olduğunu belirtmektedir. PTY'nin ortaya konması için yapılan benzer çalışmalarda kolostrumu tüketmiş 1 günlük yaştaki buzağılarda serum IgG'nin 10 g/L ve üzerinde olmasının serum GGT'nin 200 U/L ve üzeri olmasına denk geldiğini, 4 ve 7 günlük yaştaki buzağılarda ise bu değerlerin sırası ile >100 U/L ve >75 U/L olduğu bildirilmektedir (Parish, Tyler, Besser, Gay & Krytenberg, 1997).

Buzağılarda patojenlere karşı yeterli immunitenin maksimize edilmesi için kullanılan canlı, ölü veya attenüe bir çok aşı bulunmaktadır. Bu bağlamda parenteral ve mukozal aşılama önemli yer edinmektedir. Annelerin gebeliklerinin özellikle son 2 ayında (kuru dönem) bakteriyel ve viral (*E. coli*, *Rotavirus*, *Coronavirus kombine aşıları*, *BVDV-BRSV-PI3 kombine aşıları*) ve toksoid (*Clostridial aşılar*) gibi kombine aşıların uygulanması ile kolostrumda patojen spesifik antikorların konsantrasyonu artırılmaktadır. Bunun yanında, doğan buzağının da çeşitli aşılar ile immunizasyonu sağlanabilmektedir. Özellikle *Clostridium perfringens* tip C suşu ile problemlili sürülerde, buzağılara 14 günlük yaştan sonra bu aşılar uygulanmaktadır. Ayrıca yaygın kullanımı olmasa da rotavirus ve coronavirus etkenlerine karşı buzağılarda oral ve intranazal aşılar da kullanılabilen ancak buzağının henüz gelişmemiş immun sistemi ve oluşabilecek antikorların maternal (kolostral) antikorlarla kros-reaksiyon verebilme ihtimali neticesinde çok tercih edilmemektedir (Barrington & Parish, 2001; Windeyer & Gamsjäger, 2019). Özellikle son yıllarda yenidoğan buzağı yönetiminde yaygın olarak kullanılan çeşitli hiperimmun serumlar mevcuttur. Bu preparatlar çeşitli spesifik bakteriyel etkenlere (*E. coli*, *Salmonella spp.*, *Mannheimia hemolytica*, *Pasteurella multocida vb*) karşı immunoglobulin içermekte ve enjeksiyon şeklinde buzağıya özellikle ilk 1-2 günlük yaşta deri altı uygulanmaktadır. Bu yöntem doğrudan PTY'yi engellemekle birlikte düzgün

bir kolostrum yönetimine ek olarak uygulandığında buzağılardaki antikor titrelerini artırabilmekte ve onları enfektif ishallerle karşı korumada yardımcı olabilmektedir (Aytekin, Kalınbacak & Tayer, 2011). Buzağının immun sistemini doğrudan etkileyen ve ishale hazırlayıcı çeşitli enfektif ajanlar bulunmakta, bunlardan en önemlileri arasında BVDV bulunmaktadır. BVDV'ye karşı uygulanan aşılama da optimal kolostral Ig oluşması için önemlidir (Lundborg et al., 2005). BVDV enfeksiyonları, patogene mekanizmaları, persiste enfekte buzağuların oluşması ve immun sistem üzerinde yaptığı etkiler neticesinde buzağuların neonatal hayatta enfektif ishal etkenlerine yakalanma ihtimalini artıran belki de en önemli predispoze edici ajan olmaktadır. BVDV'nin sürüden eradike edilmesi neticesinde neonatal ishal insidansının azaldığı belirtilmektedir (Lundborg et al., 2005). Buzağının BVDV etkenine maruz kalması ile nötrofilik fonksiyonların azaldığı, lenfositik proliferasyonların sekteye uğradığı ve oluşan persiste lökopeni neticesinde buzağının immun sisteminin baskılandığı ve buzağının enterik ve respiratorik enfektif ajanların oluşturduğu enfeksiyonlara daha açık hale geldiği belirtilmektedir (Trâvén, Alenius, Fossum & Larsson, 1991). Akut BVDV enfeksiyonları dışında, gebeliğin özellikle ilk 120.gününden önce non-sitopatojenik BVDV ile enfekte olan ineklerden doğan buzağular persiste enfekte (PI) olarak tanımlanmaktadır. Bu buzağular virüse karşı immuntolere olmakta ve doğumdan sonra aktif olarak virüsü saçabilmekte ve diğer buzağularda aktif BVDV enfeksiyonunun oluşmasına sebebiyet vermektedir. PI buzağular da, aktif BVDV enfeksiyonu geçiren buzağular gibi immunsuprese olmakta ve sekonder enfeksiyonlara, özellikle ishal yapan enfektif ajanlara açık hale gelmektedir (Larsson et al., 1994).

2.1.1.2. Yönetimsel Faktörler

Buzağının ishale yakalanma riskini artıran bir çok yönetimsel faktör mevcuttur. Bu faktörler temel olarak buzağulara ve annelere uygulanacak yönetimsel prosedürleri kapsamaktadır. Buzağuların doğduğu ve dış çevre ile ilk kez karşılaştığı yer olan doğum localarının temiz olması kolay uygulanabilen, efektif ve önemli bir prosedürdür. Buzağının, barındığı bölmedeki altıklarda, annenin dışkısında ve çevrede bulunan patojenlere maruz kalmasının tamamen önlenmesi teknik olarak mümkün olmasa da bu

mikrobiyel yükün önemli oranda azaltılması locaların doğum öncesi dezenfekte edilmesi, temiz altlık serilmesi gibi yöntemlerle doğrudan ilişkili olmaktadır. Buzağının kolostrumu tüketmeden önce yoğun mikrobiyel yüke maruz bırakılması kısa sürede enfektif ishallerin oluşmasına zemin hazırlamaktadır (Larson et al., 2004). Buzağuların doğumdan sonra bireysel bölmelerde ve birbirlerinden uzak olacak şekilde barındırılmaları, altlıkların kuru ve her gün temizlenmesi, çiftlikte çalışan işçilerin dezenfeksiyona önem vermesi, buzağuların beslendiği biberonların temizlenmesi ve mümkünse her buzağı için ayrı biberon kullanılması gibi basit önlemler buzağuların enfektif ishallerle yakalanma insidansını önemli oranda azaltmaktadır (Gulliksen et al., 2009). Kolostrumun ve sonraki periyotta sütün vücut sıcaklığına paralel bir sıcaklıkta verilmemesi, sütün biberon ile çok hızlı verilmesi veya sütün suluk gibi bir kaptan buzağıya içirilmesi buzağının özofago-retikuler kanal refleksini uyaramayacağı için süt abomasuma geçemeyecek ve emilemeyerek buzağının beslenmesinin önüne geçecektir. Bunun yanında sütün rumene sızması neticesinde rumende fermentasyon ve kokuşma gerçekleşerek buzağıyı sekonder enfeksiyonlara predispoze edebilmektedir (Besser et al., 1991; Godden et al., 2019). Güç doğum (dystocia) buzağuları çevresel patojenlere daha duyarlı hale getirebilmekte ve buzağının ileriki yaşamında da düşük verim performansına sahip olmasına neden olabilmektedir. Güç doğan buzağularda, amniyotik sıvıların aspirasyonu ve kafada oluşan ödem ve şişkinlik neticesinde kolostrumu yeterli miktarda alamamaları ve dolayısıyla pasif transfer yetmezliğine yatkın hale geldikleri bildirilmektedir (Moore, Tyler, Chigerwe, Dawes & Middleton, 2005). Stres her memelide olduğu gibi buzağıda da immunsupresyona neden olmaktadır. Çeşitli stresörler kortikosteroidlerin hızlıca salınmasına neden olarak buzağının sirkülasyonunda minimal düzeyde bulunan lenfositlerin baskılanmasına neden olarak buzağuları kolayca enfeksiyonlara hazır hale getirebilmektedir. Neonatal buzağıda çevresel stressörler arasında hava şartları, boynuz köreltme, kastrasyon, aç kalma, erken yaşta süttan kesilme, kalabalık barındırılma gibi çeşitli nedenler yer almaktadır (Barrington & Parish, 2001; Cortese, 2009). Neonatal buzağular özellikle ilk bir aylık yaşlarında vücut sıcaklıklarını efektif olarak ayarlayamamaktadır. Düşük hava sıcaklıkları, yağmur ve kar, rüzgar, yüksek nemli ve havasız ortamlarda buzağular hipotermi veya hipertermiye girebilmekte bu da doğrudan

immün sistemin baskılanmasına yol açarak buzağuları enfektif ishale predispoze edici hale getirmektedir (Larson & Tyler, 2005). Doğumdan sonra buzağının umbilikal kordunun antiseptiklerle temizlenmemesi, çevredeki mikrobiyel yükün çok olması gibi hijyen kaynaklı problemler omfaloflebitise yol açabilmektedir. Sıklıkla gözden kaçabilen bu prosedürlerin uygulanmaması neticesinde buzağuların %5 ile 15'inde özellikle *Arcanobacter progenes*, *Fusobacterium necrophorum* kaynaklı omfaloflebitis oluşabilmekte, bu buzağının büyüme geriliğine, immün sisteminin zayıflamasına, karaciğer apselerinin ve septik artritlerin oluşmasına ve pnömoni ve enterit gibi sekonder enfeksiyonlara ve en önemlisi de sepsise yatkın hale gelmesine sebep olabilmektedir (Bozukluhan ve diğerleri, 2018; Mee, 2008). Neonatal buzağularda, enfektif ishallerden korunma profilaksisinde yaygın olarak kullanılan çeşitli ticari preparatlar mevcuttur. Bunlar doğrudan enfektif ishallerin tedavisinde kullanılabile de profilaktik olarak koruyucu amaçla da kullanılmaktadır. Bu bağlamda özellikle *Cryptosporidium parvum* kaynaklı ishallerin profilaksisinde halofuginon lactate ve paromomycin sıklıkla tercih edilmektedir. Bu preparatlar profilaktik amaç ile 5-7 gün arasında per os olarak kullanılmakta ve *C. parvum* oookist sayısını önemli ölçüde azaltarak klinik hastalık görülmesinin önüne geçmektedir. Aminoglikozit grubuna ait bir antibiyotik olan paromomycin'in ayrıca buzağının ilk 7 günlük yaşlık periyodunda profilaktik olarak kullanılması ile *Escherichia coli* ve *Salmonella* spp. kaynakları bakteriyel ishallerin önlenildiği de rapor edilmektedir (Constable, 2009; Aydoğdu ve diğerleri, 2018).

İneğe uygulanan çok çeşitli direkt ve indirekt yönetimsel prosedürlerin buzağuları neonatal enfektif ishallerde predispoze edici etkileri bulunmaktadır. Kuru periyottaki (doğuma 2 ay kala) ineğin yüksek vücut kondisyon skoruna (VKS) sahip olması, karaciğer yağlanması, ketosis metritis ve güç doğum gibi durumlara sebep olabilirken düşük VKS'ye sahip ineklerin ise fütal retardasyon, prematür doğum ve düşük kalite kolostrum üretmesi gibi sonuçlar doğurabilmektedir (Kasap, Temizel, Akgül & Şentürk, 2018). Doğum yapacak ineğin özellikle son 1 aylık kuru dönem beslenmesi de önem arz etmektedir; rasyona eklenecek lizin, metiyonin, B₁₂, propilen glikol gibi supplementasyonlar fütal gelişimi desteklemekte ve buzağının doğum anında optimal bir

canlı ağırlığa ve immun sisteme sahip olmasını sağlamaktadır. Vitamin E ve selenyum plasentadan çok az miktarda buzağıya geçmekte bu nedenle kuru dönemde rasyona eklenerek veya ineğe doğrudan enjekte edilecek vitamin e ve selenyum içerikleri kolostrumu zenginleştirecek ve yeni doğan buzağının sağlığını doğrudan etkileyecektir (LeBlanc et al., 2002). Hem anne hem de buzağı için uygulanacak yönetimsel faktörler arasında belkide en önemli prosedür annenin kuru dönemde aşılmasıdır. Bu bağlamda özellikle neonatal buzağıda enfektif ishale yol açan etiyolojik nedenlerden rotavirus, coronavirus ve *E. coli* etkenlerini içeren kombine aşılar kuru dönemde anneye 2 doz uygulanmakta ve kolostrumun Ig düzeyi büyük oranda zenginleştirilmekte ve doğum sonrası bu kolostrumu tüketen buzağılarda belirtilen hastalıklara yakalanma insidansı azalmaktadır (Al Mawly et al., 2015). İneğin doğumdan yaklaşık 2-3 hafta önce bireysel bir doğum bölmesine alınması ve bu bölmenin temiz olması, buzağının doğum anında karşılaşacağı enfektif mikrobiyel yükü önemli oranda azaltarak buzağının ishale yakalanma riskini dolayısıyla mortalite oranlarını azaltabilmektedir (Bendali et al., 1999; Bewley, Palmer & Jackson-Smith, 2001).

2.2. Bakteriyel Kökenli Neonatal Buzağı İshalleri

Buzağılar, doğum anında; annenin doğum kanalı, vulvası ve takriben doğduğu altlıklar dahil bir çok potansiyel enteropatojenin bulunduğu yoğun bir mikrobiyel yük olan ortam ile tanışır. Bu mikrobiyel yükü oluşturan elemanların bir çoğu gastrointestinal sistemin normal gelişimi ve içerisindeki floranın oluşması için gerekli olsa da, potansiyel patojenleri de ihtiva etmektedir (Mukhtar, Mamo, Tesfaye & Berlina, 2015). Buzağının yaşamının özellikle ilk 24 saatinde gastrointestinal geçirgenliğin yüksek olması sebebiyle, yeterli kolostrumu almayan veya yoğun patojenik mikrobiyel yüke maruz kalan buzağılarda bu enteropatojenler hızlıca bağırsakları ve takribinde kan sirkülasyonunu invaze edebilmektedir. Bahsedilen invazyona neden olan ve özellikle buzağının ilk 7 günlük yaşamında şiddetli dehidrasyon, metabolik asidoz, şiddetli ishal, septisemi ve menenjit gibi durumlara yol açabilen önemli major bakteriyel etkenler arasında *Escherichia coli* ve *Salmonella* spp., bulunmaktadır (Fecteau, Smith & George, 2009; El-Seedy et al., 2016). Ayrıca bakteriyel kökenli diğer enteropatojenler arasında *Clostridium*

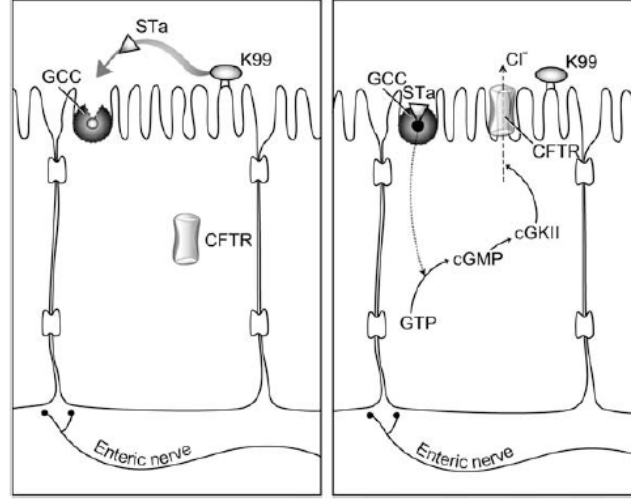
perfringens ve *Campylobacter* spp. türleri de bulunmaktadır. Bahsedilen enfektif ajanlar detaylı olarak aşağıdaki alt başlıklarda irdelenecektir.

2.2.1. *Escherichia coli* İshalleri

Escherichia coli (*E. coli*), gram negatif (-), çubuk şekilli, değişken motilite özelliği olan, fakültatif anaerobik, spor oluşturmeyen ve Enterobakter ailesine ait bir bakteridir (Cho et al., 2014). *E. coli* türleri gastrointestinal sistemin doğal bir üyesidir ve çevrede de yoğun şekilde bulunur. *E. coli* ailesine ait birçok suş, K vitamini üretmek ve diğer enteropatojenlerin üremesini inhibe etmek gibi işlevlere sahip ve sağlıklı bağırsak florasını oluşturan saprofitik türlerdir (Hudault, Guignot & Servin, 2001). İshale neden olan patojenik *E. coli* türleri, konakçının immunsupresyon, bağırsak duvarının zedelenmesi veya bakteriyel yükün artması gibi nedenlerle klinik hastalıklara sebebiyet vermektedir (Lofstedt, Dohoo & Duizer 1999). Patojenik *E. coli* türleri farklı virülens mekanizmaları neticesinde bir çok farklı kategoriye ayrılmakta ve özellikle dört tanesi buzağılarda neonatal ishale yol açmaktadır. Bunlar arasında enterotoksijenik *E. coli* (K99 - ETEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC) ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC) bulunmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar ETEC ishallerinin enfektif *E. coli* ishallerinden sorumlu en baskın suş olduğunu ortaya koymakta ve ishale ortalama ilk 4 günlük yaşta ortaya çıktığı, daha büyük buzağılarda ve yetişkin sığırlarda ise ishale nadir olarak yol açtığı bildirilmektedir (Foster & Smith, 2009). Doğumdan hemen sonra bu fekal coliform bakterileri oral olarak sindiren buzağıda bu bakteriler doğrudan bağırsakların son kısımlarına doğru gider. Bu esnada bakteri yükünün fazla olması ve aynı oral yol ile ETEC etkenlerinin sindirilmesi de gerçekleşmektedir (Foster & Smith, 2009). ETEC etkenleri, kolonizasyon faktörleri olarak da adlandırılan ve anatomik yapılarının bir parçası olan fimbriyaları ile ince bağırsak lümenine yapışırlar (Gomes et al., 2016). İntestinal lümenine invaze olan ve fimbriyaları ile mukozaya bağlanan enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) suşları ürettikleri shiga-benzeri toksinler (Sx) ve ısıya dayanıklı toksin (STa) ile veya doğrudan lipoolisakarit (LPS) yapıları ile inflamasyonu oluşturmakta ve bağırsak mukozasındaki enterositlere K99 (F5) fimbriyaları ile bağlanarak sekretorik enfektif ishal oluşmasına neden olmaktadır (Foster & Smith, 2009). K99 fimbriyaları ile

epitellere bağlanmanın, optimal olarak pH'nın 6.5 ve altı olduğu ortamlarda mümkün olmakta ve bakterinin kolonizasyonu sıklıkla ince bağırsaklardan ileuma kadar olan kısımda gerçekleşmektedir. ETEC'in ince bağırsak lümenine bağlanma yoğunluğu yaş ile bağlantılı olmakta ve ortalama 2 haftalık yaşa kadar olan periyotta, bağlanma yoğunluğu dereceli olarak azalmaktadır (Argenzio, 1985; Foster & Smith, 2009). Yapılan çalışmalarda ishali buzağılarda K99 fimbriaya sahip ETEC'in mukozal yüzeye bağlanma oranının %80'lere kadar çıkabildiği ve bu oranın sağlıklı buzağılarda yalnızca %10-20 arasında değiştiği belirtilmektedir (Cho et al., 2014). ETEC'in ishale neden olan patofizyolojik mekanizması çok komplikedir. ETEC, bağlandığı genç villuslarda doğrudan bir hücre hasara yol açmamakta, çeşitli hücre sel sinyalizasyonları tetikleyerek ishale yol açmaktadır. İnsanlarda yapılan çalışmalarda ETEC suşlarının villusa bağlandığında ürettiği STa ve Sx toksinleri intraselüler siklik adenozin monofosfatın (cAMP) doğrudan kistik fibrosis transmembran regülör sistemi aktive etmesi ile invaze edilen enterositin klor salgılamasına neden olmaktadır. Lümen sızan klor iyonları ozmotik basınç gereği beraberinde hücre içi ve hücreler arası suyun da bağırsak lümenine sızmasına sebebiyet vererek sekretorik ishal olarak adlandırılan mekanizmanın oluşmasına neden olmaktadır (Argenzio, 1985; Argenzio et al., 1990). Buzağılarda yapılan çalışmalarda benzer mekanizmalar mevcuttur. *E. coli*'nin ürettiği Sta, villus ve crypt hücrelerinin membranında bulunan guanil-siklaz-C (gCC)'a bağlanmaktadır. gCC, buzağılarda distal ince bağırsak ve ileum arasındaki immatür enterositlerin yüzeyinde yoğun olarak bulunmaktadır (Al-Majali et al., 2000). İnsan ve farelerde yapılan çalışmalarda bu reseptörün yoğunluğunun doğumdan sonra hızlı şekilde azaldığı bildirilmektedir (Giannella & Mann, 2003). Buzağılarda bu reseptörün yaşa bağlı olarak yoğunluğunun değişkenliği ile ilgili çalışmalar bulunmamakla birlikte deneysel olarak Sta'nın 15 günlük yaşa kadar olan buzağılarda ishali aktive edebildiği bildirilmektedir (Saeed, Magnuson, Gay & Greenberg, 1986). İnsanlarda tanımlanan cAMP mekanizmasına benzer olarak buzağılarda ilk aktivasyon Sta'nın GCC'ye bağlanarak guanil-monofosfat (cGMP)'ı aktive etmektedir. İkincil ulak olarak işlev gören cGMP ise protein-kinaz-2 (cGK2)'yi aktive etmekte bu da klorun hücre dışından bağırsak lümenine sızmasına yol açmaktadır. Bu da ozmotik basınç gereği klor'un suyu

beraberinde lümeneye çekmesine yol açarak sekreterik ishale neden olmaktadır (Şekil 1) (Golin-Bisello, Bradbury & Amen, 2005).



Şekil.1 - ETEC'in oluşturduğu sekreterik ishalin mekanizmasının şematize edilmiş hali (Golin-Bisello, Bradbury & Amen, 2005).

Sonuç olarak ETEC'in patofizyolojisi çok komplike mekanizmalar içermekte ve enfeksiyonun oluşması birçok faktöre bağlı olmaktadır. Etkene maruz kalınma ve fekal-oral bulaşmadan sonra ETEC, özellikle ilk 3 günlük yaşta pH'sı 6 ile 7 arasında değişen (5 günlük yaştan sonra abomasum pH'sı 2'nin altına inmekte, bu da patojenik *E. coli*'nin barsağa ulaşmasını büyük oranda engellemektedir) abomasumu aşmakta ve K99 fimbriyası ile immatür villuslara bağlanmakta, takriben STa ve Sx ile patofizyolojik mekanizmasını tamamlamaktadır (Ahmed, Constable & Misk, 2002). ETEC bakterileri bu mekanizma neticesinde bağırsak lümenine çok yoğun miktarda ve hızlı şekilde klor ve suyun çekilmesine neden olmaktadır. Klor ile oluşan asidik ortamın dengelenmesi için ise bikarbonat (HCO_3) da lümeneye salgılanmakta ve dolayısıyla şiddetli bir sulu ishal, dehidrasyon ve metabolik asidoz gelişmektedir (Argenzio, 1985; Foster & Smith, 2009).

Enteroinvazif *E. coli* (EIEC), *Shigella* spp. benzeri mekanizmaya sahiptir. Özellikle kalın bağırsaklardaki olgun epitel hücreleri doğrudan invaze ederek onların parçalanmasına neden olmakta ve ülseratif kolit, fibrinösuppuratif inflamasyon gibi durumlara sebebiyet vermektedir (Cho et al., 2014). EPEC ve EHEC suşları özellikle

insanlardan izole edilen patojenik suşları ihtiva etmektedir. İnsanlarda klasik olarak hemorajik kolitis yapan O157:H7 suşu bir EHEC suşudur. EHEC yüksek miktarda verotoksin üretmektedir. Verotoksin genel olarak Vero hücrelerine bağlanıp onları haraplayan toksinlerin genel bir adının ve Shigella spp. olmak üzere bir çok bakteri türü tarafından üretilebilirler. Bu toksin henüz tanımlanamayan mekanizmalar ile ETEC'e benzer bir takım hücrel sinyalizasyon mekanizmaları ile ishale neden olmaktadır (Dean-Nystrom, Bosworth, Cray & Moon, 1997). ETEC ve EHEC'in ortak özelliklerinden biri de intestinal epitellerde oluşturdukları lezyonlar sebebiyle bağlanan ve imha eden *Escherichia coli* (*Attaching Effacing Escherichia coli* – AEEC) olarak tanımlanmalarıdır (Dean-Nystrom et al., 1997; Gomes et al., 2016). Bağlanma sıklıkla immature villus epitel hücrelerde şekillenmekte, intestinal lümeneye fazla sıvı ve elektrolit çekilmekte ve ishal oluşmaktadır. Non-patojenik *E.coli*'nin bağırsaklarda çok yaygın bulunması nedeniyle bu iki virulans faktörünün varlığı gösterilemediği sürece ETEC ve diğer patojenik *E.coli* suşlarının teşhisinin bakteriyel kültür testleri ile yapılması zorlaşmaktadır (Foster & Smith, 2009). *E. coli* kaynaklı enfeksiyonlarda klinik belirtiler sıklıkla ayırt edicidir. Özellikle ilk 4 günlük enfeksiyonlarda şiddetli dehidrasyon, depresyon, ayağa kalkamama, yüksek ateş (>40,5 C) ve beyazdan kahverengiye kadar değişebilen renklerde (genelde sari) sulu ishal bulguları mevcuttur (Mukhtar et al., 2015). Bakterinin sirkülasyona olan translokasyonu neticesinde buzağılarda sıklıkla septisemi veya yaygın kullanılan bir tabir olan koliseptisemi gelişmektedir. Fekal-oral yol ile alınan *E. coli* nasal mukoza ve orofarinks gibi noktalardan sirkülasyona karışabilse de genellikle bağırsak lümeni enfeksiyon başlangıcı için primer odak olmaktadır. Ayrıca antiseptisi sağlanamamış umbilikal kordon da bakterinin sirkülasyona girişinde rol oynayabilmektedir (Fecteau et al., 2009) Gram (-) bakterinin dış katmanında bulunan endotoksin (lipopolisakkarit), mannoz, glikoprotein gibi kısımlar doğrudan makrofaja bağlanarak primer inflamasyon odağını oluşturmaktadır. Tümör necrosis faktör, interlökin 1-2-4-6, prostaglandin E₂ ve I₂, bradykinin vb. yangısal mediyatörler olarak da adlandırılan sitokinlerin bu hücrelerden salınması ile akut faz reaksiyonu tetiklenmekte ve bu çalışmanın ileriki bölümlerinde daha detaylı şekilde anlatılacak akut faz proteinlerinin üretimi aktive edilmektedir. Bu yangısal mediyatörlerin vücutta birçok komplike görevi

olmakla birlikte kontrolsüz üretimleri sonucu sepsis ortaya çıkmaktadır (Ng & Lam, 2006). Bahsedilen mediyatörler genel olarak vücutta endotelial permeabilite artışı, miyokardiyal depresyon, hipovolemi, hipotansiyon ve respiratorik yetmezliğe yol açabilen reaksiyonları tetiklemekte, bunun neticesinde septiseminin klinik bulguları gözlenmektedir. Buzağılarda *E. coli* kaynaklı septisemi (koliseptisemi)'nin klinik bulguları ilk 2 ile 6 günlük yaşta sıklıkla belirmektedir. Mental statüde değişimler, depresyon ve koma belirtileri, emme refleksinde azalma veya hiç olmaması, ayağa kalkamama veya sallantılı yürüyüş, hipotermi/ateş, taşikardi/taşipne, mukoz membranlarda hiperemik görünüm, kapillar dolum süresinde azalma, bradikardi, soğuk ekstremiteler, idrar çıkışının olmaması gibi bir çok semptom görülebilmektedir. Bu semptomlara ishal sıklıkla eşlik etse de bazı durumlarda ishal görülmeyebilmektedir (Fecteau et al., 2009).

2.2.2. Bakteriyel Kökenli İshallerin Teşhisi

E. coli, *Salmonella* spp., *C. perfringens*, *Camylobacter* spp. ve diğer bakteriyel kökenli ishallerin teşhisinde çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar arasında antijen tespitine olanak sağlayan direkt, indirekt, flörosan ve yarı kantitatif hızlı ELISA test yöntemleri, konvansiyonel ve real-time PCR; mikrobiyolojik olarak etkenin izolasyonunun yapıldığı bakteriyel kültür yöntemleri yer almaktadır (Cho & Yoon, 2014). Bakteriyel kökenli ishallerde teşhis için kullanılan “*altın standart*” yöntem bakteriyel izolasyon ve kültür yöntemidir (Blanchard, 2012). Bu bağlamda özellikle *E. coli* izolasyonu için kanlı agar ve MacConkey agar tercih edilmektedir. Saha şartlarında buzağıdan alınan kan ve dışkı örneklerinin laboratuvara hızlı şekilde ve tercihen soğuk olarak ulaştırılması gerekmekte, ayrıca özel transport solüsyonları ve özel dışkı kapları gibi ekipman gerekebileceğinden dolayı bu teşhis yöntemi sıklıkla tercih edilmemektedir (Izzo et al., 2011). Pratik olarak en sık kullanılan teşhis yöntemi ELISA olmakta, dışkı ve özellikle septisemi durumlarında serumdan antijenik yapının doğrudan tespit edilmesi ile hızlı ve güvenilir bir yöntem olmakta ancak laboratuvar ortamında çeşitli ekipmanlara ve tecrübeli personele ihtiyaç duyulması neticesinde uygulanabilirliği saha şartlarında pek mümkün olamamaktadır. Son yıllarda antikor ve antijenlerin tespitine dayanan, sandviç

ELISA protokolünü kullanan ve saha şartlarında buzağılarda enfektif ishal etkenlerinin hızlı teşhisinde hekimlerin kolayca kullanabildiği hızlı teşhis kitleri yaygınlaşmaktadır. Bu testlerde tespit edilen etkenler, ticari markalar arasında farklılık gösterebilse de temel olarak *E. coli* K99 suşu, *Giardia* spp., *C. parvum*, rotavirus ve coronavirus gibi etkenleri içermektedir (O'Leary, Corcoran & Lucey, 2009; Jang, Han, Kang & Na, 2015). Her ne kadar bu testlerin analitik sensitivitesinin altın standart olan bakteriyel kültür ve PCR kadar yüksek olmadığı belirtilse de, ticari üreticiler (Bovid-5, Anigen, Güney Köre) bu testlerin sensitivite ve spesifitesinin sırası ile %99 ve %98 olduğunu belirtmektedir.

2.3. Viral Kökenli İshaller

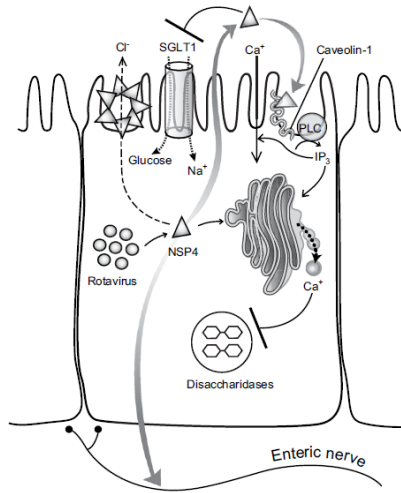
Buzağı ishalleri temel olarak kompleks bir sendrom olarak ele alınmaktadır. İshalin oluşumu sıklıkla multifaktöriyel etiyolojileri bir arada içermekte bu bağlamda viral, protozoer, bakteriyel etkenler mono halde veya bir arada seyredilmektedir (Torres-Medina, Schlafer & Medus, 1985). Neonatal buzağı ishallerine yol açan viral etkenler arasında; Rotavirus, Coronavirus, Torovirus, Parvovirus, Calicivirus, Reovirus ve Astrovirus gibi bir çok etken rol almakta (Deng et al., 2003) ancak genel olarak oluşturduğu patolojik değişimlere ve izole edilme sıklıklarına göre Rotavirus ve Coronavirus kendilerine daha önemli yer edinmektedir (Mayameei, Mohammadi, Yavari, Afshari & Omidi, 2010). Rotavirus ve Coronavirus yüksek morbidite rakamlarına ulaşabilen salgınlara yol açmakta, çeşitli araştırmacıların bulgularına göre bir aylık yaşın altındaki buzağılarda en sık rastlanan patojen olmaktadır (Torres-Medina et al., 1985; Holland, 1990).

2.3.1. Rotavirus İshalleri

Bovine rotavirus, ishale yol açan viral ajanlardan tespit edilen ilk etkenlerden biridir ve çocuklarda ve buzağı gibi bir çok neonatal memelide ishale yol açtığı tespit edilmiştir (Ramig, 2004). Rotavirus, reoviridae üstfamilyasına ait çift sarmallı bir RNA virusudur. Virus'un tespit edilen 7 farklı serotipi bulunmakla (A-G arası) birlikte grup A rotavirusu neonatal buzağı ishallerinde en sık (<%95) izole edilen tip olmakta, grup B ve C daha büyük buzağılardan ve yetişkin sığırlardan izole edilmektedir (Fenner et al., 2011). Bir çok çalışmada rotavirus etkeninin yol açtığı ishal insidansının arttığı periyotlar kış

mevsimine denk gelmekte, düşük sıcaklık ve nemin rotavirusun varlığını sürdürmesinde pozitif bir etken olduğu bildirilmektedir (Fields et al., 1995). Viruse karşı oluşan antikorlar aşılammış sığırların %90'ında görülebilmekte ve yapılan bir çalışmada ilk 2 haftalık yaştaki buzağuların %94'ünden virus izole edilmiştir (Muñoz, Lanza, Alvarez & Carmenes, 1995). Buzağular etkeni kontamine dışkıdan, anneni memesinden ve altlıklardan fekal-oral yol ile almakta, enfeksiyon sıklıkla 3 haftalıktan küçük buzağularda oluşmakta ve ortalama olarak 6 günlük yaşta şiddetli enfeksiyona neden olabilmektedir (Argenzio, 1985). Virus çok kısa bir inkubasyon periyodunun (12-24 saat) ardından perakut ishali tetikleyebilmektedir. Enfekte buzağular virusu 5-7 gün boyunca dışkıları ile saçabilmektedir. Hastalığı hafif veya asemptomatik atlatan buzağular, çevredeki diğer buzağular için rezervuar kaynağı olabilmektedir (Cho & Yoon, 2014). Virus tarafından oluşturulan ishal malabzortif ve sekretorik olmak üzere iki farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir. Malabzortif ishal mekanizmasında; virus, kript hücrelerinden ziyade olgun enterositlere reseptörleri vasıtasıyla invaze olarak hücre içi replikasyonunu tamamlamakta ve konak hücrenin parçalanmasına dolayısıyla da villöz hasara neden olmaktadır. Yoğun şekilde ve hızla parçalanan bağırsak lümeninde biriken ve emilemeyen şeker ve diğer karbonhidratlar ortamın ozmotik basıncını artırmakta, dolayısıyla interstisyel ve intraselüler alandan bağırsak lümenine hızlı bir su geçişi olmaktadır. Oluşan bu malabzorbisyon ve maldigesyon ve lümene lokalize olan sıvı neticesinde oluşmaktadır (Torres-Medina et al., 1985; Ramig, 2004; Foster & Smith, 2009). Bağırsaklarda oluşan histolojik değişimler, ishalin şiddetinin her zaman değişken olması ve oluşan ishalin tamamıyla enterosit hasarına dayalı olamayacağı ve ishalin patogenezinde farklı mekanizmaların rol da olabileceği son zamanlarda belirtilmektedir. Virusun invaze ettiği hücreye ürettirdiği bir viral protein olan nonstructural-glikoprotein-4 (NSP4)'in ishalin oluşma şiddeti ile doğrudan bağlantılı olabileceği belirtilmektedir. Bu protein, bir önceki bölümde *E. coli*'nin ishal oluşturma patogenezinde rol alan cAMP, cGMP ve CFTR gibi hücresel bir sinyalizasyon mekanizmasını uyarmaktan ziyade enfekte hücre tarafından üretilmekte veya hücre parçalandığında ortaya çıkmaktadır. Üretilen bu NSP4 otokrin etki yaparak hücre içi kalsiyumun bağırsak lümenine sızmasına neden olmaktadır. NSP4 ayrıca henüz aydınlatılamayan bir mekanizma ile sodyum ve glukozun hücre içine

girmesini engellerken klorun hücre dışına çıkmasına sebep olmaktadır. *E. coli* kısmında tarif edilen benzer mekanizma neticesinde, lümene sızan kloru dengelemek için ortama sodyum bikarbonat ve beraberinde su da salınmaktadır. Bu da sekretorik ishalin oluşmasına neden olmaktadır (Ball, Tian, Zeng, Morris & Estes, 1996; Zhang, Zeng, Morris & Estes, 2000). Hücre dışına sızan klorun bir diğer nedeninin de enterik sinir sisteminin (ENS) virus tarafından aktive edilmesi olduğu düşünülmekte ancak bu mekanizma henüz aydınlatılmamıştır (Lorrot, Benhamadouche-Casari & Wasseur, 2006). Özellikle ENS'nin inhibe edildiği ilaçların kullanımında, rotavirus tarafından oluşturulan ishal semptomunun şiddetinin azalttığı kanıtlanmıştır. Ayrıca bağırsak lümeninde gelişen inflamasyon neticesinde ortamdaki prostaglandin ve diğer yangısal mediyatörlerin de ENS'yi uyarabileceği rapor edilmektedir (Orris, 1997; Foster & Smith, 2009).



Şekil 2. Rotavirus'un yol açtığı ishalin henüz tam olarak aydınlatılmayan parogenezinin şematize edilmiş hali. Lumene sızan klor'un, ENS'nin uyarılması ve hücre için NPS4'ün salınımı görülmekte (Ball, Tian, Zeng, Morris & Estes, 1996).

2.3.2. Coronavirus İshalleri

Bovine coronavirus, betacoronavirus 1 ailesine ait tekil sarmal RNA yapısında bir virustur. Coronavirus'un sığırlarda yol açtığı üç tipik klinik sendrom bulunmaktadır; neonatal buzağılarda oluşan ishal, yetişkin sığırlarda akut hemorajik ishal ile karakterize kış dizanterisi ve bovine respiratorik hastalık kompleksinde (BRDC) rol oynayan

respiratorik enfeksiyonlar (Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2007). Coronavirüs ishallerinin oluşumu, rotaviral ishal etkenine benzerlik göstermekte ve virus hem sağlıklı hem de hasta buzağuların dışkılarından izole edilebilmektedir (Cho et al., 2014). Etken kontamine dışkılarda bulunmakta ve fekal-oral bulaşım göstermektedir. Tipik olarak ilk 3 haftalık yaşta hastalık oluşturmakta ve ilk 7-10 günlük yaşta hastalık daha şiddetli seyredebilmektedir. Coronavirus etkeni, rotavirüse benzer şekilde kış aylarında artan insidansa sahiptir (Radostits ve ark., 2007). Buzağulardaki rotavirus enfeksiyonlarından diyagnostik yöntemlerle ayrılmadığı sürece benzer semptomlar gösteren coronavirus ishallerinde semptomlar aniden başlayarak, depresyon, ateş, neredeyse tamamen sıvı ve yer yer mukoz kıvamda fazla hacimli ishal saptanır. Yetişkinlerde görülen ve kış dizanterisi olarak adlandırılan hastalıktada ani başlayan depresyon, süt veriminde keskin düşüşler, ateş ve hemorajik olabilen ishal tablosu ortaya çıkmaktadır. Bunun yanında hem kış dizanterisi hem neonatal coronavirus ishallerinde (özellikle 2 ila 16 haftalık yaşlarda) orta şiddetli solunum yolu enfeksiyonları da oluşabilmektedir (Fenner et al., 2011). Viral enfeksiyon ince bağırsakların proksimal kısımlarında başlar ve kolona kadar uzanabilir. Etkilenen villus ve kriplerde atrofi ve nekroz gerçekleşmekte bu da kanlı ve mukuslu ishalin klinik olarak gözlenmesine neden olmaktadır. Virus, yüzeyinde bulunan S ve hemaglutinin-esteraz proteinleri sayesinde özellikle olgun enterosit yüzeylerine yapışarak bu intestinal epitel hücrelerin içine girmektedir. Hücre içinde replike olan viral partiküller çoğunlukla hücre lizisine neden olarak bir sonraki enterositi enfekte etmektedir (Schultze, Gross, Bossmer & Herrler, 1991) Hastalığın klinik belirtileri ve iyileşme periyodunun rotavirus'a göre daha uzun sürmesinin nedeni bağırsaktaki lamina propria katmanında doğrudan oluşan nekrozun geç iyileşmesi neticesindedir (Cho & Yoon, 2014).

2.3.3. Viral Kökenli İshallerin Teşhisi

Viral antijenlerin tespiti için; virus izolasyonu, direkt-indirekt ELISA ve PCR yöntemleri kullanılmaktadır. Viral partikülün doğrudan tespit edildiği virus izolasyon yönteminin altın standart olduğu bildirilmekte ancak pahalı laboratuvar ekipmanları, tecrübeli personel gerektirmesi ve ekonomik olmaması neticesinde saha şartlarında viral kökenli ishallerin tespitinde tercih edilmemektedir. Bakteriyel kökenli ishallerin teşhisi

bölümünde bahsedildiği üzere viral kökenli ishallerin teşhisinde sıklıkla hızlı ELISA teşhis yöntemleri kullanılmaktadır. Ticari olarak piyasaya sunulan bu kitler yalnızca coronavirus ve rotavirus etkenlerinin teşhisine olanak sağlamakta, norovirus, parvovirus, torovirus gibi insidansı daha düşük olan etkenler için herhangi bir hızlı ELISA teşhis kiti henüz bulunmamaktadır (Blanchard, 2012; Cho & Yoon, 2014).

2.4. Protozoer Kökenli İshaller

2.4.1. Cryptosporidium parvum İshalleri

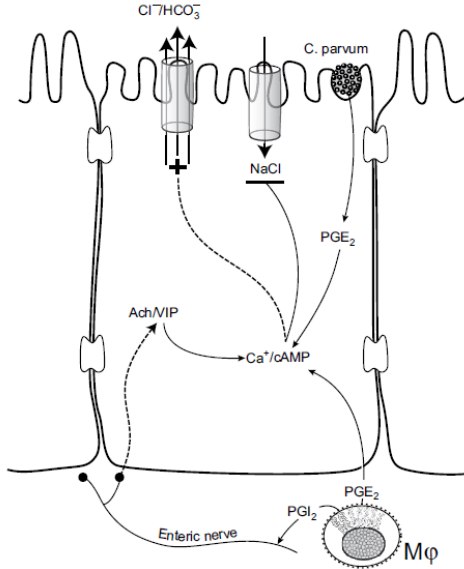
Cryptosporidium spp. buzağılardan ve immun yetmezliği olan insanlardan en sık izole edilen gastrointestinal patojenlerden biri olmakta ve bulaşma fekal-oral yol ile gerçekleşmektedir (Mac Kenzie et al., 1995). *Cryptosporidium spp.*'nin tanımlanmış 24 farklı türü bulunmakla birlikte sığırlarda enfektif öneme sahip olan türler arasında *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* ve *C. andersoni* bulunmaktadır (Chalmers, Smith, Elwin, Clifton-Hadley & Giles, 2011). Enfeksiyon, ookistlerin fekal-oral yol ile alınması ve bağırsaklara invaze olması ile gelişmekte ve 30 adet kadar az sayıda ookistin bile bir buzağıyı enfekte etmede yeterli olacağı bildirilmektedir (De Graaf et al., 1999; O'Handley & Olson, 2006b). *C. parvum* etkeni neonatal ruminantlarda primer olarak duodenum, ileum ve kolonun proximal kısımlarında kolonize olmaktadır (O'Handley & Olson, 2006a). *C. parvum* ookistleri 3 günlük yaştan itibaren saçılabilmekte ancak hastalık sıklıkla 2 haftalık yaştan sonra görülmekte ve 3 aylık yaştan sonra nadiren enfeksiyon oluşturmaktadır (Harp, Woodmansee & Moon, 1990; De Graaf et al., 1999). İnce bağırsaklara ulaşan ookistler bağırsak lümeninde açılmakta ve ortaya çıkan sporozoitler spesifik reseptörleri ile enterositleri invaze eder. Sporozoitler sırası ile aseksüel (tip 1 meront) ve seksüel (tip 2 meront) üreme evrelerini tamamlayarak makrogametosit ve mikrogametositleri oluştururlar. Mikrogametlerin makrogametleri döllemesi ile oluşan zigot daha sonra kistlenerek ince ve kalın duvarlı ookiste dönüşür ve sporogoni evresi tamamlanır. Oluşan ince duvarlı ookist enfektif niteliği ile bağırsakta otoenfeksiyonu tetiklerken, kalın duvarlı ookist dışkı ile saçılarak diğer hayvanları enfekte etme özelliğine kavuşmuş olur. Dışkı ile dış ortama atılan ookist bir çok dezenfektana dayanıklı olmakta,

nemli ve güneş ışığı olmayan ortamlarda aylarca enfektif niteliğini koruyabilmektedir (O'Handley & Olson, 2006a).

Tam olarak patogenezi açığa kavuşmamış olsa da *C. parvum* bağırsaklarda şiddetli villöz atrofiye yol açmaktadır (Argenzio et al., 1990). Enfeksiyon ile oluşan malabzorpsiyon ve bağırsak lümeninde sıvı artışı gibi patolojik değişimlerin, oluşan atrofi neticesinde geliştiği belirtilmektedir. Etken villöz atrofiye, villöz yapışmaya, kript hiperplazisine ve yoğun inflamatuvar infiltratların birikmesine yol açmaktadır (Koudela & Jiří, 1997). Bu durum intestinal yüzeyin haraplanmasına ve malabzorpsiyon, elektrolit dengesizliği, emilim bozuklukları ve intestinal enzim kayıplarına yol açmaktadır. Buna ek olarak parazitin ürettiği kolera-benzeri toksinin de sekretorik ishale yol açtığı bildirilmektedir (Koudela & Jiří, 1997). Etkenin ayrıca bağırsak epitellerinde apoptozisi indüklediği ve epitelyal tight junctionları bozarak bağırsakların bariyer görevini yitirmesine neden olduğu bildirilmektedir (Adams et al., 1994). Sonuç olarak rotaviral ve coronaviral ishallerde olduğu gibi malabzorpsiyon ve maldigestif ishal gelişmektedir (Foster & Smith, 2009).

Son yıllarda yapılan araştırmalarda elde edilen yeni bulgulara göre, *C. parvum*'un bağırsakta oluşturduğu tahribatın tamamiyle doğrudan enterosit parçalanması ve kript hasarına bağlı olmadığı, prostaglandinlerin ve bağırsak sinir sisteminin (ENS) aktive edildiği kompleks bir sistemin de patogeneizde rol aldığı bildirilmektedir (Foster & Smith, 2009). *C. parvum* tarafından enfekte edilen bağırsak epitel hücrelerinden prostaglandin E₂ (PGE₂) ve prostaglandin I₂ (PGI₂) salınarak bağırsak lamina propria katmanındaki makrofajların aktive olması tetiklenir. Bu reaksiyon aynı zamanda zincirleme şekilde mezenşiyel hücrelerin de PGE₂ ve PGI₂ salmasına yol açar. PGI₂, ENS'yi uyararak asetilkolin salınmasına ve intestinal mukozadaki hücrelerin uyarıldığı kolinerjik motor nöronların aktivasyonuna yol açar. Sonuç olarak enterositler bu sistem ile aktive edilmekte ve *E. coli* ve rotavirus bölümünde detaylı anlatılan cAMP'nin rol aldığı hücre için çeşitli sinyalizasyon sistemlerinin aktive olmasına yol açarak hücre dışına klor ve bikarbonatın ve suyun çıkışına yol açarak bağırsak lümeninde sıvı birikmesine yol açar. cAMP'nin rol aldığı sistem aynı zamanda ENS aktivasyonu olmaksızın PGE₂ tarafından da benzer

şekilde aktive edilebilmektedir. Bu karışık mekanizma neticesinde herhangi bir villöz atrofi oluşmaksızın sekreterik bir ishal gelişir (Şekil 3).



Şekil 3. *C. parvum*'un neden olduğu sekreterik ishalin gelişim mekanizması. Makrofaj ve mezenşiyel hücrelerden salınan PGE₂ ve PGI₂'nin rol aldığı mekanizmada hücre içinden bağırsak lumenine klor ve bikarbonat çıkışı görülmekte (Foster & Smith, 2009).

C. parvum enfeksiyonlarında klinik belirtiler çoğu ruminant türünde benzer seyretmekte; ishal sıklıkla sarı, yumuşak kıvamda olmakta, kan ve mukus içerebilmektedir (O'Hara & Chen, 2011). Ayrıca letarji, anoreksi ve dehidrasyon da gelişebilmekte, nadiren de olsa belirtilerin devamında metabolik asidoz, sepsis ve ölüm gelişebilmektedir (de Graaf et al., 1999). *C. parvum* tekil olarak orta ve şiddetli belirtilere yol açabilse de sıklıkla diğer ishal etkenleri ile birlikte seyrederek patojeniteyi artırmaktadır (Anderson, 1998). Bunun yanında enfeksiyonun şiddetli seyretmesinde ookist yükü, sürü immunitesi, aşılama, beslenme ve diğer eş zamanlı enfeksiyon yükü önem arz etmektedir (Olson, O'Handley, Ralston, McAllister & Thompson, 2004).

2.4.2. Protozer Kökenli İshallerin Teşhisi

Protozoer ajanların teşhisinde kullanılan yöntemler arasında; dışkıdan ookist tespiti ve sayımına olanak sağlayan fekal boyama, flotasyon, sedimentasyon gibi parazitolojik yöntemler ve antijen tespitinin yapıldığı ELISA ve PCR gibi yöntemler bulunmaktadır. Fekal flotasyon yöntemi, parazitlerin yumurta ve ookistlerinin doğrudan tespit edilebildiği ve saha şartlarında dahi en sık kullanılan teşhis yöntemidir. Asit-duyarlı veya Ziehl-Neelsen gibi boyama yöntemleri ile *C. parvum* ookistleri mikroskopik sahada tespit edilebilmektedir. Mikroskopta x400 büyütmede, 4-6 µm olan ookistler kırmızı veya mor renkli ve oval şekilli kümeler halinde tespit edilebilmektedir. Yapılan bir araştırmada 1 gram dışkıda 500.000'den az ookist olması durumunda mikroskopik sahada ookistlerin varlığı konfirme edilemeyebilmekte, bu sebeple ookist sayım yöntemlerinin sensitivitesinin düşük olduğu belirtilmekte ve da subklinik enfeksiyonların gözden kaçmasına neden olabilmektedir (Fischer, Taraschewski, Ringelmann & Eing, 1998). Klinik enfeksiyonun şiddeti ile ookist sayısı arasındaki ilişkinin irdelendiği bir çalışmada, 1 gram dışkıda $>10^6$ sayıda ookist tespit edilmesi ile ishal bulgusunun görülme ihtimalinin 6 kat arttığı belirtilmektedir (Trotz-Williams et al., 2007). Parazitolojik yöntemler her ne kadar ekonomik ve çok tecrübe gerektirmeyen metodlar olsa da saha şartlarında *C. parvum* etkenlerinin tespiti için hızlı ELISA teşhis kitleri en çok tercih edilen yöntemlerden biri olmaktadır.

2.5. Akut Faz Reaksiyonları

Lokal inflamasyon, çok çeşitli endojen ve ekzojen uyaranlara karşı vücutun verdiği ilk immun reaksiyondur. Bu ilk non-spesifik reaksiyonlar, “akut faz reaksiyonları” veya “inflamasyona verilen sistemik yanıt” olarak adlandırılmaktadır (Ceciliani, Ceron, Eckersall & Sauerwein, 2012). Akut faz reaksiyonları; enfeksiyon, inflamasyon veya travma gibi durumlarda non-spesifik savunma sisteminin ilk hattını oluşturan ve patojenlere karşı hızlı bir yanıt gelişmesi için özellikle savunma sistemi hücreleri tarafından sitokinlerin (interleukin 1-6, tumor necrosis factor α vb.) üretilerek vücutta çeşitli metabolik, immunolojik, fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonların tetiklenmesi ile karakterizedir (Fearon & Locksley, 1996; Gruys, Toussaint, Nierwold &

Koopmans, 2005). Etkilenen çok farklı sistemler neticesinde ateş, depresyon, lökositozis/lökopeni, taşikardi/taşıpnea gibi çok değişken ve spesifik olmayan klinik yansımalar görülmektedir (Murata, Shimada & Yoshioka, 2004). İnflamasyonun oluşmasına neden olan reaksiyonlar, eksternal (patojen bağlantılı moleküller – PAMP) ve internal (hasarlı hücre bağlantılı moleküller – DAMP) moleküller tarafından tetiklenmektedir. Patojen bağlantılı molekülleri çoğunlukla Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin ekzo ve endotoksinleri, yüzeylerinde lipopolisakkarit ve mannan yapıları, ek olarak virusların ve mantarların yüzey antijenleri oluşturmaktadır. Hasarlı hücre moleküllerini ise, patojen tarafından veya apoptozis gibi nedenlerle parçalanan doku ve hücrelerden ortaya çıkan mitokondri, nükleus, endoplazmik retikulum vb. hücre içi komponentler oluşturmaktadır. Sirkülasyondaki PAMP'lar, lipopolisakkarit bağlayıcı proteinler (LBS) tarafından bağlanır ve makrofaj ve diğer inflamatuvar hücrelerin yüzeyindeki CD14 reseptörlerine bağlanır (Brodsky & Medzhitov, 2009; Krysko et al., 2011). Bu reaksiyon neticesinde başta makrofaj ve nötrofiller olmak üzere inflamatuvar hücreler tarafından pro-inflamatuvar sitokinler salınır. Sistemik inflamatuvar yanıtı oluşturan en temel üç sitokinin interlökin 1 β (IL_{1 β}), tümör nekroz faktör alfa (TNF-alfa) ve interlökin 6 (IL₆) olduğu bildirilmektedir. Pro-inflamatuvar sitokinler çeşitli reaksiyonları tetiklemektedir; a) inflamasyon bölgesindeki lokal endotel hücreler tarafından selektinlerin salınması ve bölgeye daha fazla inflamatuvar hücrelerin kemotaksisinin sağlanması, b) bölgeye çağırılan inflamatuvar hücrelerin aktive edilmesini ve komplement reseptörlerinin ortaya çıkartılmasını sağlamak, c) diğer sitokinlerin bu hücreler tarafından üretilmesini sağlamak (Ceciliani et al., 2005). Pro-inflamatuvar sitokinlerin tetiklediği sonraki reaksiyon ise akut faz proteinlerinin (APP) üretimidir. Başta karaciğerdeki hepatositler olmak üzere, yüzey antijenlerine sitokinlerin bağlanması ile APP'lerin hızlı şekilde üretimi tetiklenmektedir (Eckersall & Bell, 2010).

2.5.1. Akut Faz Proteinleri

Pro-inflamatuvar sitokinlerin rol aldığı akut faz reaksiyonlarının en önemli etkilerinden biri, başta karaciğer hepatositlerinden olmak üzere, APP'lerin üretimidir. APP'ler temel olarak immün sistemin enfeksiyon, inflamasyon veya travma durumlarına

karşı verdiği yanıtın değerlendirilmesi amacıyla ölçümü yapılan kan proteinleridir (Murata et al., 2004; Tóthová, Nagy & Kovac, 2013). Bu proteinler genel olarak pozitif ve negatif faz proteinleri olarak ikiye ayrılırlar ve akut inflamasyon durumlarında konsantrasyonunda artış görülenler ‘pozitif’ (C-reaktif protein, serum amyloid a, haptoglobin vb), azalma görülenler ise ‘negatif’ (albumin, transferrin vb.) akut faz proteini olarak ayrılır (Ceciliani et al., 2005; Petersen, Nielsen & Heegard, 2004). Pozitif akut faz proteinleri ise verdikleri yanıtın hızına ve şiddetine göre major, orta yanıt ve minor olarak 3 kategoriye ayrılırlar. Major yanıt veren proteinler sağlıklı organizmada çok düşük (>1 µg/L) konsantrasyonlarda bulunurlar ve akut inflamasyon durumlarında 100 ile 1000 kat olarak artarlar ve 24 ile 48 saat arasında kan serumunda pik yaparlar. Orta derecede yanıt veren APP’ler ise 5 ila 10 kat artış gösterirler ve 2-3 gün içerisinde pik konsantrasyona ulaşırlar, minor yanıt veren proteinlerin ise belli belirsiz arttığı bildirilmektedir (Eckersall & Bell, 2010). APP’lerin temel fonksiyonları farklılık göstermektedir; sirkülasyonda oluşan DAMP ve PAMP’lara bağlanarak onların elimine edilmesini sağlayanlar (SAA, CRP, Haptoglobin vb), patojenlerin veya diğer hücrelerin parçalanması sonucu açığa çıkan proteolitik enzimleri inaktive eden anitoproteolitik etkisi olanlar (α1-antitripsin vb) ve doğrudan antibakteriyel etkisi olanlar (α1-asit-glikoprotein vb) gibi katerogizasyon yapmak mümkündür (Tóthová et al., 2013). Akut faz proteinleri tür bazında farklılık göstermekle beraber ruminantlar için haptoglobin (Hp), serum amyloid a (SAA), α1-acid-glikoprotein, seruloplazmin ve fibrinojenin (**Tablo 2**) major yanıt veren proteinlerden olduğu ve mastitis, enteritis, peritonitis, pneumoni, endometritis gibi enfeksiyonlarda arttığı rapor edilmiştir (Murata et al., 2004; Petersen et al., 2004). Akut faz protein konsantrasyonları, bir çok hastalıkta artmasına rağmen etiyolojik ayırım ve teşhis için primer bir araç olarak kullanılamaz ancak subklinik enfeksiyonların durumu veya hayvanın tedaviye verdiği yanıtın ve prognozun değerlendirilmesi durumlarında sensitivitesi oldukça yüksek bir testtir (Heegaard et al., 2000; Cerón, Eckersall & Martinez-Subiela, 2005).

Tablo 2. Hayvan türlerine göre değişen major, orta ve minor etkili APP'ler (Murata et al., 2004; Ceciliani et al., 2012).

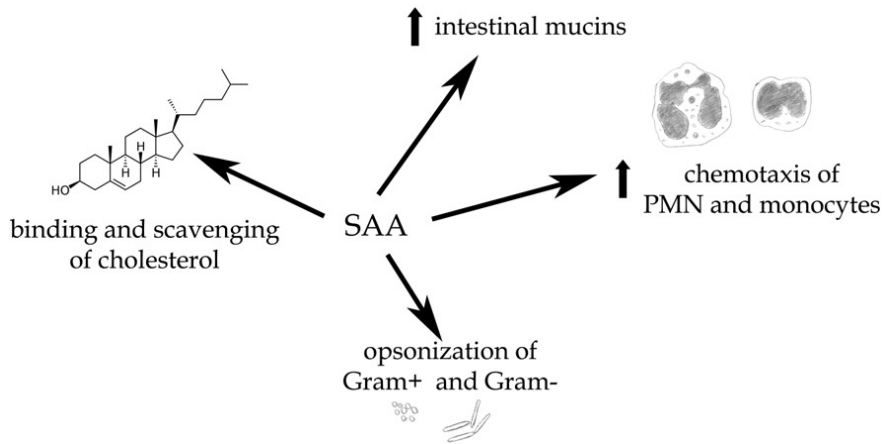
Hayvan Türü	Major Etkili APP	Orta Etkili APP	Minor Etkili APP
Sığır	Haptoglobin Serum Amyloid A	alfa ₁ -asit-glikoprotein Seruloplazmin Lipopolisakkarit Binding Protein (LBP)	Fibrinojen C-reaktif Protein
At	Serum Amyloid A	Haptoglobin alfa ₁ -asit-glikoprotein	Fibrinojen
Kedi	Serum Amyloid A	alfa ₁ -asit-glikoprotein Haptoglobin	Fibrinojen
Köpek	C-reaktif Protein Serum Amyloid A	alfa ₁ -asit-glikoprotein Haptoglobin	Fibrinojen
Domuz	Serum Amyloid A Haptoglobin	C-reaktif Protein	Fibrinojen alfa ₁ -asit-glikoprotein

2.5.1.1. Serum Amyloid A

Serum amyloid A (SAA), plazmada bulunan 14 kD büyüklüğünde yüksek dansite lipoprotein grubuna ait bir akut faz proteinidir ve temel olarak karaciğerde üretilir (Steel & Whitehead, 1994). İnsan ve veteriner tıbbında akut enfeksiyonların bir belirteci olarak yaygın kullanıma sahip olan SAA konsantrasyonu özellikle ilk 24-48 saat arasında 100 ile 1000 kat artabilmektedir (Eckersall & Bell, 2010). İnsan genomunda temel olarak üç farklı SAA üretim geni olduğu saptanmakta, SAA-1 ve SAA-2'nin sirkülasyondaki yoğunluğunun en fazla olduğu belirtilmektedir. Buna ek olarak SAA-3 ekstrahepatik hücrelerde de üretilmektedir (Ceciliani et al., 2012). Bağırsak epitel hücreleri, yangısal mediyatörlerin (TNF-alfa, IL-6, IL-8 ve IL-1) stimülasyonu sonucunda SAA açığa çıkartabilmektedir (Vreugdenhil et al., 1999). Bu durumun bağırsaktaki endotoksin detoksifikasyonunda rol alabildiği düşünülmektedir (Murata et al., 2004). Sığırlarda, atlarda ve koyunlarda meme dokusu-ilişkili SAA'nın (M-SAA3) varlığı ortaya konmuştur. M-SAA3'ün kolostrumdaki konsantrasyonu özellikle doğum sonrası ilk 4 günde normal süte kıyasla daha fazla olmakta, bunun yeni doğan buzağının özellikle

bağırsak lümenindeki immunolojik aktivasyonu tetikleyebileceği ve bakteriyel kolonizasyonu inhibe edebileceği düşünülmektedir (McDonald, Larson, Mack & Weber, 2001).

SAA'nın vücut savunmasındaki rolü kesin olarak netleştirilmemiş olsa da; kolesterola bağlanma, immunomodülatör etki, endotoksin detoksifikasyonu, lenfosit ve endotel hücre profilerasyonu, T-lenfosit adhezyon stimülasyonu ve bakterilerin opsonizasyonu gibi (Şekil 4) pek çok rolde görev aldığı rapor edilmiştir (Urieli-Shoval, Linke & Matzner, 2000). SAA; *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Vibrio cholera*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi çok geniş yelpazeye sahip Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin yüzey membran proteinlerine doğrudan bağlanarak onları opsonize ederek inaktivasyonlarını sağlamaktadır. SAA'nın opsonizasyonu, inflamasyon bölgesine makrofaj ve nötrofil akışını indükleyerek özellikle *E. coli* gibi Gram (-) bakterilerin fagosit edilmesini sağlamaktadır (Hari-Dass, Shah, Meyer & Raynes, 2005; Shah, Hari-Dass & Raynes, 2006). SAA, ayrıca inflamasyon bölgesindeki kolesterole bağlanarak onun elimine edilmesinde de rol almaktadır. Bu mekanizma sayesinde hücrelerden sirkülasyona salınacak kolesterole bağlanan SAA, aterosklerotik plakların oluşumuna engel olmaktadır (Pruzanski et al., 1995). SAA konsantrasyonunun kantitatif ölçümleri, indirekt ELISA, non-kompetitif enzim immunoassay ve latex aglütinasyon gibi testlerle başarılı şekilde yapılmaktadır (Murata et al., 2004).



Şekil 4. SAA'nın temel fonksiyonlarının şematize edilmiş hali (Ceciliani et al., 2012).

2.5.1.2. Serum Amyloid A ve Enfektif İshal İlişkisi

Sığırlarda, akut faz reaksiyonlarının tetiklendiği çok çeşitli yangısal, metabolik, fizyolojik değişimler ve hücre hasarlarının SAA üzerine olan etkisinin incelendiği bir çok çalışma mevcuttur. Sığırlarda SAA konsantrasyon değişimlerinin irdelendiği çalışmalar çok geniş bir yelpazede kategorize edilebilse de genel olarak abomasum deplasmanı, subakut ruminal asidoz, akut ruminal asidoz, ketozis gibi metabolik patolojik bozuklukların irdelendiği çalışmalar ve mastitis, respiratorik enfeksiyonlar, enteritis, pericarditis gibi doğal enfeksiyonların araştırıldığı çalışmalar ve deneysel olarak indüklenen *Mannheimia hemolytica*, BRSV, BVDV gibi enfeksiyonlarda değişen SAA konsantrasyonları araştırılmıştır (Murata et al., 2004; Gånheim, Alenius & Persson Waller, 2007; Eckersall & Bell, 2010).

SAA konsantrasyonunun gastrointestinal enfeksiyonlarda anlamlı oranda artış gösterdiği bir çok çalışma mevcuttur. Bağırsak lümeninde kolonize olan Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin ekzo ve endotoksinleri, yüzeylerinde lipopolisakkarit ve mannan yapıları, virusların ve protozoonların yüzey antijenleri lokal fagositer hücreleri aktive etmekte ve ortaya çıkan yangısal mediyatörlerin (TNF-alfa, IL-6 ve IL-1) bağırsak epitel hücrelerini uyarması ile SAA açığa çıkartabilmektedir (Vreugdenhil et al., 1999). Jawor, Steiner, Stefaniak, Baumgartner & Rzasz (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, ishali buzağuların SAA, haptogloblin ve fibrinojen düzeyleri tedavi öncesi, tedavi sırasında ve sonrasında ölçülmüş ve iki APP'nin de düzeylerinin azalma eğilimi gösterdiği saptanmıştır. Bu iki APP'ye kıyasla SAA'nın tedavi öncesinde çok yüksek konsantrasyonlarda olduğu ve tedavi sırasında konsantrasyonunun çok yüksek seyretmeye devam ettiği ancak tedavi bitiminde normal düzeylere eriştiği bu sebeple akut enfektif ishal vakalarında sensitivitesi yüksek bir marker olabileceği düşünülmektedir. Yine Tóthová et al. (2011)'in yaptığı bir çalışmada ishal belirtileri gösteren 10 buzağının SAA düzeylerinin sağlıklı buzağulara göre daha yüksek olduğu ancak Hp ve fibrinojen düzeylerinin hasta ve sağlıklı buzağular arasında herhangi bir fark göstermediği tespit edilmiştir. Bu sebeple akut enfektif ishallerde SAA'nın daha iyi bir marker olabileceği görüşü güç kazanmaktadır. Sığır spesifik major akut faz proteinlerinden olan Hp ve

SAA'nın enfektif ishaller ve sağlıklı buzağılardaki serum konsantrasyonları başka bir çalışmada irdelenmiştir. Bu çalışmaya göre *E. coli K99*, *Rotavirus*, *Coronavirus* ve *Eimeria* spp. kaynaklı neonatal buzağı ishallerindeki serum Hp ve SAA konsantrasyonları ölçülmüştür (Balıkcı & Al, 2014). *Eimeria* spp. ve *E. coli K99*'lu hayvanlardaki APP düzeyleri rotavirus ve coronavirus pozitif hayvanlara göre daha yüksek ölçülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı farklar ortaya konmuştur. Ayrıca ishalleri dört gruba APP düzeyleri sağlıklı buzağılara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Pourjafar, De Beer, De Beer, Stefanski & Vadas (2011) tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir. ETEC ishalleri buzağılarda SAA konsantrasyonları sağlıklı ve viral ishalleri gruplarına göre istatistiksel önem arz edecek şekilde çok daha yüksek bulunmuştur.

Bir diğer çalışmada ishaller ve sağlıklı neonatal buzağuların klinik sağlık skorlandırması yapılmış ve genel durum bozukluğu, ateş, dehidrasyon ve mental statü'nün şiddetinin APP (SAA, Hp, fibrinojen, seruloplazmin) konsantrasyonlarındaki değişimlerle olan ilişkisi irdelenmiş ancak ishallerin etiyolojik teşhisi yapılmamıştır (Hajimohammadi et al., 2013a). Buna göre ishalleri hayvanların Hp ve SAA düzeyleri sağlıklı gruba göre yüksek bulunmuştur ($p < 0.001$). Diğer APP'lerde anlamlı farklar elde edilmemiştir. Ayrıca ateş, dehidrasyon derecesi ve depresyonun daha şiddetli olduğu ishalleri hayvanlarda, bu klinik skorların daha hafif seyrettiği ishalleri hayvanlara göre APP düzeyleri daha yüksek bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda, SAA konsantrasyonlarının çeşitli inflamatuvar durumlarda artışı ortaya konmakla birlikte kesin bir referans aralığı ortaya konamamakta ve çalışmalarda spesifik cut-off değerleri ortaya çıkartılmakta, bunun yanında kullanılan ticari ELISA kitlerinin sunduğu farklı ünite değerleri de bulunmaktadır. SAA ve Haptoglobinin sağlıklı buzağılarda ölçülen normal referans aralıklarının belirtildiği bir çalışmada bu değerler sırası ile 80-200 mg/L ve 100-200 mg/L olarak sunulmaktadır (Orro et al., 2008a). Seppä-Lassila, Orro, LePage & Soveri (2013) tarafından yapılan kapsamlı bir çalışmada 120 sağlıklı ve 67 umbilikal kordon enfeksiyonlu buzağıda SAA için referans değerleri ortaya konmuştur. Çalışmaya dahil edilen 5 ile 55 günlük yaş arasındaki buzağılarda genel olarak SAA'nın cut-off değerinin < 178 mg/L olduğu, 14 günlük yaş

altı ve üzeri olarak kategorize edilen buzağılarda ise cut-off değerlerinin sırası ile 83 mg/L ve 32 mg/L olduğu belirtilmektedir. Başka bir çalışmada SAA konsantrasyonun sağlıklı sığırlarda sunulan referans değerinin < 8.8 mg/dL olduğu belirtilmektedir (Horadagoda et al., 1999). Başbuğ, Yurdakul & Yüksel (2020) tarafından yapılan çalışmada sağlıklı ineklerde SAA konsantrasyonlarının ortalama $72,71 \pm 5,95$ µg/ml olduğu, aynı çalışmada subklinik mastitis, theileriosis ve akut metritis durumlarında SAA konsantrasyonlarının sırası ile $162,19 \pm 6,81$ µg/ml, $218,44 \pm 7,97$ µg/ml ve $227,50 \pm 7,49$ µg/ml olduğu belirtilmektedir. İshalli ve sağlıklı buzağılarda SAA konsantrasyonları çeşitli çalışmalarda sunulmuştur. İshalin etiyolojik kökeninin ortaya konmadığı ve buzağılarda SAA konsantrasyonlarının incelendiği bir çalışmada sağlıklı ve ishallerde ölçülen SAA değerleri sırası ile $14,43 \pm 3,29$ µg/ml ve $42,23 \pm 6,14$ µg/ml olarak bulunmuştur ($P < 0,001$) (Erkiliç ve diğerleri, 2019). Coronavirus kaynaklı enfektif ishallerde yapılan bir çalışmada ise sağlıklı ve ishallerde ölçülen SAA değerleri sırası ile $28,5 \pm 7,4$ mg/L ve $46,2 \pm 7,6$ mg/L olarak bulunmuştur ($P < 0,01$) (Chae et al., 2019).

2.5.1.3. Serum Haptoglobin

Sığır serum haptoglobin (Hp), iki adet 20 kD ve iki adet 35 kD büyüklüğündeki peptidin birleşimiyle oluşan ve karaciğerde üretilen büyük bir kan proteindir. Hp, alfa-globulin alt kategorisinde yer alır ve hemoliz sonucunda ortaya çıkan; toksik, oksidatif hasara yol açabilen ve pro-inflamatuar nitelikteki serbest hemoglobini (Hb) bağlayarak elimine edilmesini sağlayan bir proteindir. Sirkülasyonda oluşan Hp-Hb kompleksi, özellikle makrofajların yüzeyinde bulunan CD163 reseptörü ile tanınarak fagosite edilmektedir (Wagener et al., 2001).

Hp'nin temel bakteriyostatik etkisi sirkülasyondaki Hb'ye bağlanmak sureti ile gerçekleşir. *E. coli* gibi bakterilerin proliferasyonu için gerekli olan demirin potansiyel bir kaynağı olan Hb'nin sirkülasyondan elimine edilmesini sağlayan Hp, bakteriyostatik bir etki göstermektedir (Ceciliani et al., 2012). Akut faz reaksiyonlarında indüklenen Hp üretiminin yanı sıra, Hp'nin çeşitli immunmodülatör etkileri de tanımlanmıştır. Hp-Hb kompleksine bağlanan makrofajlar anti-inflamatuar mediyatörler olan hem-oksijenaz-1 ve interlökin-10 (IL10) açığa çıkartır. Henüz açıklığa kavuşmamış kompleks mekanizmalar

neticesinde bu mediyatörler ile granülosit kemotaksis inhibisyonu, mast hücre proliferasyon inhibisyonu, T-hücre proliferasyon inhibisyonu ve fagositozis inhibisyonu gibi etkiler oluşmaktadır (Rossbacher, Wagner & Pasternack, 1999; Murata et al., 2004). Haptoglobin sağlıklı sığırlarda serumda 100 µg/ml düzeylerinde seyretmektedir. Çeşitli bakteriyel enfeksiyonlara verilen cevap neticesinde haptoglobin seviyeleri normal değerlere göre 10 kat artış gösterebilmekte bu sebeple potansiyel olarak kullanışlı bir marker olabilmektedir (Godson et al., 1996).

2.5.1.4. Serum Haptoglobin ve Enfektif İshal İlişkisi

Sığırlarda yapılan pek çok çalışma, Hp'nin mastitis, pnömoni, enteritis, peritonit, endokardit, endometrit ve diğer doğal veya deneysel bir çok enfeksiyonda inflamatuvar yanıtların oluşumunu ve şiddetini ölçmek için klinik olarak yararlı bir parametre olarak önemini göstermiştir. Doğal ve deneysel olarak indüklenen BVDV (Gånheim et al., 2003), *Mannheimia hemolytica* ve BHV-1 (Godson et al., 1996), BRSV (Heegaard ve ark., 2000), çeşitli respiratorik, umbilikal ve *Eimeia* spp. (Seppä-Lassila et al., 2015) enfeksiyonlarında, Hp'nin istatistiksel anlamlı artışlar gösterdiği saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmaların hepsinde vakaların klinik durumu, hastalığın şiddeti ve Hp artışları arasında anlamlı korelasyonlar da tespit edilmiştir.

Enfektif ishallerde oluşan inflamasyon durumu ile Hp konsantrasyonları arasındaki artış arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu çeşitli birçok çalışma (Murray et al., 2014; Kabu, 2016) mevcut olmakla birlikte Hp ve SAA'nın birlikte kıyaslamalı incelendiği çalışmaların sonuçlarının yer yer tutarsız olabildiği, Hp'nin SAA kadar sensitivesinin yüksek bulunmadığı çalışmalar mevcuttur. Buna göre, iki parametrenin enfektif ishallerde buzağılarda birlikte incelendiği çalışmalarda; SAA'nın Hp'ye göre istatistiksel hassasiyetinin daha güçlü olduğu (Jawor et al., 2008; Tóthová et al., 2011) ve SAA ve Hp hassasiyetinin benzer etki gösterdiği (Hajimohammadi ve ark., 2013; Balıkcı ve Al, 2014; Erkiliç ark., 2019) gibi farklı sonuçlar saptanmıştır. Orro et al. (2008a) tarafından yapılan bir çalışmada sağlıklı buzağılarda serum haptoglobin'in referans değerlerinin 100-200 mg/l olduğu belirtilmektedir. İshallerde yapılan bir çalışmada ise serum haptoglobin değerlerinde anlamlı artışlar tespit edilmiş, sağlıklı ve

ishalli hayvanlarda bu konsantrasyonlar sırası ile $0,068 \pm 0,014$ ve $0,30 \pm 0,02$ olarak ölçülmüştür (Erkılıç ve diğerleri, 2019).

2.5.1.5. Diğer Akut Faz Proteinleri ve Enfektif İshal İlişkileri

Sığırlarda yaygın kullanıma sahip major APP'lerden SAA ve Hp'ye kıyasla kullanımları daha dar olan ve orta şiddette değişim gösteren diğer APP'ler arasında alfa₁-asit-glikoprotein, seruloplasmin ve lipopolisakkarit binding protein (LBP) yer almaktadır. Alfa₁-asit-glikoprotein (AGP), hepatositler tarafından üretilen, 41-43 kD büyüklüğünde ve temel görevi albumine benzer olarak, sirkülasyonda ilaç ve çeşitli metabolitlerin taşınmasını sağlayan bir glikoproteindir. Ayrıca AGP'nin nötrofil aktivasyon inhibisyonu, IL-2 reseptör antagonist salınımı ve doğrudan LPS'lere bağlanarak onları inactive etmek gibi immunomodülatör özellikleri de bulunmaktadır (Fournier, Medjoubi & Porquet, 2000; Murata et al., 2004). Seruloplazmin, temel olarak serbest halde toksik etkisi olan ferröz demirin, toksik olmayan ferrik formuna okside edilmesinden sorumlu ve bakır içeren bir proteindir. Dokuların serbest radikaller tarafından hasarlanmasına engel olarak antioksidan etki göstermeenin yanında nötrofillerin endotel hücrelere yapışmasına engel olarak immunomodüler etki de göstermektedir (Patel, Panchal & Dubinsky, 2002). LBP özellikle bakterilere karşı oluşan immune yanıtın bir parçası olan, 50 kD büyüklüğünde bir glikoproteindir. LBP'nin temel fonksiyonu, bakteriyel endotoksine (LPS) bağlanarak onu makrofaj ve nötrofil gibi immune sistem hücrelerinin yüzey reseptörü olan CD14'e taşımaktır (Murata et al., 2004).

Buzağılarda Rotavirus kaynaklı ishali çeşitli APP'ler üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada AGP ve seruloplazminin sağlıklı gruba kıyasla istatistiki olarak anlamlı farklar oluşturmadığı belirtilmektedir (Rocha et al., 2016). Hajimohammadi et al. (2013) yaptığı bir çalışmada ise ishali buzağılarda çeşitli APP'lerin ölçümü yapılmıştır. Hp, SAA, Seruloplazmin ve fibrinojen konsantrasyonları ishali ve sağlıklı buzağılarda kıyaslanmakta, dört parametrede de saptanan değişimlerin istatistiki olarak anlamlı olduğu ancak seruloplazmin ve fibrinojenin diğer iki parametreye göre sensitivitesinin daha düşük bulunduğu belirtilmektedir.

2.5.2. Potansiyel Bir Yeni Akut Faz Proteini: Serum Calprotectin

Calprotectin, özellikle nötrofil ve makrofajların sitozolünün %45 ile %60'ı kadarını oluşturan, 35 kDa boyutunda, kalsiyum ve çinkoyu bağlayıcı özelliği olan bir polipeptittir (Tibble & Bjarnason, 2001; Olafsdottir, Aksnes, Fluge & Berstad, 2002). Calgranulin A (S100A8) ve calgranulin B (S100A9) kompleksi, calprotectini oluşturan temel iskelet olarak yangısal süreçte hücrenin sitozolünden hücre membranına doğru hareket ederek inflamasyon bölgesine ulaşan nötrofilden hücre dışına salınmaktadır (Voganatsi et al., 2001). İnflamasyon bölgesinde; makrofaj, nötrofil ve monosit gibi inflamatuvar hücreler tarafından salınan sitokinler (IL_{1B}, TNF-alfa, IL₆) bölgeye diğer inflamatuvar hücrelerin çağırılmasına ve hızlıca calprotectinin ortama salınmasını sağlamaktadır (Stríž & Trebichavský, 2004). Çeşitli patojenlerin tetiklediği inflamasyon durumunda, enfeksiyon odağına lokalize olan inflamatuvar hücrelerden ortama salınan calprotectinin konsantrasyonu ile enfeksiyonun şiddeti arasında ilişki bulunduğu belirtilmektedir (Aadland & Fagerhol, 2002). Calprotectin'in antimikrobiyal ve apoptozisi uyarıcı etkileri bulunmaktadır. Calprotectin, ortamdaki serbest çinkoya bağlanarak inflamasyona yol açan patojen etkenlerin proliferasyonunu, kanser hücre proliferasyonu ve doku hasar oluşumlarını doğrudan inhibe edebilmektedir.

Serum calprotectin konsantrasyonlarının özellikle inflamatuvar durumlarda artış gösterdiği çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir. Genel olarak nötrofil, makrofaj ve monosit gibi fagositer hücreler calprotectini ekstraselüler sahaya salgılar veya bu hücrelerin doğrudan parçalanması ile kan dolaşımındaki calprotectin konsantrasyonları artış göstermekte, ek olarak deri, akciğer, bağırsak gibi bazı dokular da calprotectini eksprese edebilmektedir (Rammes et al., 1997; Voganatsi et al., 2001). Calprotectin, vasküler sistemdeki endotel hücrelerle etkileşime geçerek diğer inflamatuvar infiltrat hücrelerin inflamasyon sahasına gelmesini indüklemektedir (Srikrishna et al., 2001). Calprotectin, çinko ile kompetitif olarak yarışarak mikrobiyal üremeyi engellemektedir (Loomans, Hahn, Li, Phadnis & Sohnle, 1998). 50-250 µg/ml arasındaki calprotectin konsantrasyonlarının, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* bakterilerinin gelişimini inhibe ettiği, ayrıca 4-32 µg/ml gibi daha düşük

konsantrasyonların da *Candida albicans*'ın gelişimini inhibe ettiği rapor edilmiştir. Ek olarak calprotectin üretimini eksprese edebilen hücrelerin *Listeria monocytogenes* ve *Salmonella Typhimurium* invazyonlarına karşı direnç gösterdiği bildirilmiştir (Nisapakultorn, Ross & Herzberg, 2001). Bu sonuçlar doğrultusunda calprotectin'in yüksek derece antimikrobiyal etkinliği olduğu bildirilmektedir.

İnsanlarda major akut faz proteinlerinden olan c-reaktif protein (CRP)'in yarı ömrünün calprotectine kıyasla daha yüksek olması sebebiyle (sırasıyla 18 ve 5) anlık inflamatuvar statünün şiddetinin daha dinamik ve hızlı olarak serum calprotectin düzeyleri ile belirlenebileceği belirtilmektedir (Bhandari, 2014). Serum calprotectin düzeylerindeki yükselmeler insanlarda bir çok hastalıkta ortaya konmuştur. Romatoid artrit, tuberküloz, tifo, akut melioidosis, post-operatif sepsis, travma sonrası sekonder bakteriyel enfeksiyon, HIV ve yangısal bağırsak hastalığı (IBD) gibi çok farklı kategorilerde ele alınabilecek hastalıklarda serum calprotectin artışları anlamlı bulunmaktadır (Bartáková et al., 2019).

2.5.2.1. Serum Calprotectin ve Enfektif İshal İlişkisi

İnsanlarda yapılan çalışmalarda; ishalle seyreden yangısal bağırsak hastalığı (IBD), ülseratif kolit ve Crohn hastalığı olan hastalarda, hastalığın nüks ettiği periyotlarda fekal ve serum calprotectin düzeylerinin artışı ve bu parametrelerin insanlarda klasik olarak kullanılan APP olan CRP arasında yüksek korelasyonların belirlendiği çalışmalar mevcuttur (Cury et al., 2013; Meuwis et al., 2013; Kalla et al., 2016).

Serum calprotectinin ishal ile olan ilişkisi insanlarda bir çok çalışmada ortaya konmakla beraber veteriner literatüründe yalnızca IBD'li köpeklerde fekal ve serum calprotectin düzeylerinin irdelendiği çalışmalar mevcuttur. IBD'li köpeklerde serum calprotectin düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada istatistiksel anlamlı artışlar saptanmakta ve hastalığın tanısının konabilmesi için belirlenen cut-off değerinin > 296 $\mu\text{g/L}$ olduğu belirtilmekte ve calprotectinin ishal durumunda ortaya çıkan inflamasyonun statüsünü belirlemede yeni bir belirteç olabileceği belirtilmektedir (Heilmann et al., 2012; Grellet et al., 2013; Heilmann et al., 2018). Belirtilen hastalıkların tanısı için altın standart olarak kullanılan ancak invazif yöntemlerden olan endoskopi ve histopatolojik yöntemlere

kıyasla serum ve fekal calprotectin ölçümleri non-invazif, daha ucuz ve daha isabetli sonuçlar veren bir yöntem olarak güncel literatürde kendisine yer edinmektedir (Herrera, Christensen & Helms, 2016).

2.5.2.2. Serum Calprotectin ve Neonatal Sepsis İlişkisi

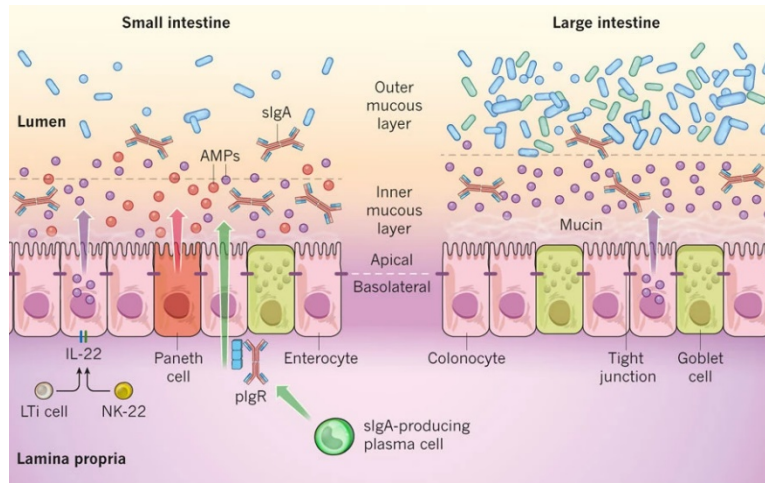
Serum calprotectin (SCalp) ve sepsis ilişkisi güncel bir çok çalışmada ele alınmakta ve sonuçlar calprotectin konsantrasyonlarının sepsis belirlemede tutarlı ve güçlü bir biyobelirteç olduğunu ortaya sermektedir. Septik inflamasyona yanıt olarak, CRP konsantrasyonlarının sistemik sirkülasyonda kademeli olarak artması, inflamatuvar yanıtın derecesinin belirlenmesinde gecikmelere yol açabilmektedir (Klein Klouwenberg & Bont, 2008). Ancak SCalp gibi antimikrobiyal peptid karakterli proteinlerin patojenlerle olan etkileşimi sonucunda inflamatuvar yanıt çok daha hızlı oluşmaktadır (Stríž & Trebichavský, 2004; Ng, 2014).

Decembrino et al. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada sepsisli neonatal bebeklerin SCalp düzeyleri irdelenmiştir. Klinik parametrelere göre sepsis olduğu şüphelenilen ve bakteriyel kan kültürü pozitif çıkan 41 bebekte ölçülen SCalp değerleri sağlıklı bebeklere göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek farklar içermekte ve optimal cut-off konsantrasyon değerinin 2.2 µg/mL (Sensitivite: % 62,5; Spesifite: % 69,7) olduğu belirtilmektedir. Bu sonuçlara göre SCalp'ın sepsisi belirlemede kan kültürüne göre daha hızlı bir sonuç verdiği ve tedaviye daha erken başlanabilmesine olanak sağlayacağı düşünülmektedir. Aynı bir çalışmada sepsis kriterlerini karşılayan ve kan kültürleri pozitif çıkan bebeklerde, SCalp düzeyleri non-septik ve sağlıklı bebeklere kıyasla artış gösterdiği belirlenmiş ve sırası ile bu konsantrasyonlar ortalama 3.1 µg/mL, 1,1 µg/mL ve 0,9 µg/mL olarak bulunmuştur. Bu çalışmada SCalp artışlarının sepsisi belirleme gücünün ölçülmesi amacıyla yapılan ROC analizlerinde sensitivite ve spesifite değerleri sırası ile % 89 ve % 96 olarak bulunmuştur. Çalışmada ayrıca SCalp artışlarının WBC ve serum CRP artışları ile korelasyon içinde bulunduğu da belirtilmektedir (Canani et al., 2011). Bakteriyel sepsisli yetişkin insanlarda serum calprotectin düzeylerinin irdelendiği bir çalışmada ise, sepsisin tanısında rutin olarak kullanılan lökosit sayımları, CRP düzeyleri ve procalcitonun düzeyleri ile SCalp konsantrasyon artışları kıyaslanmıştır. Bakteriyel

sepsis, viral enfeksiyon ve sağlıklı gruplarda ölçülen SCalp değerleri sırası ile ortalama 7441,15 ng/mL, 1801,15 ng/mL ve 847,45 ng/mL olarak bulunmuştur. Yapılan ROC analizlerine göre SCalp'ın sensitivite değerinin diğer parametrelere göre üstün olduğu (Sensitivite: % 90) ve bakteriyel sepsisin belirlenmesinde serum calprotectinin çok daha güçlü bir belirteç olduğu belirtilmektedir (Bartáková et al., 2019).

2.6. Buzağlarda İntestinal İnflamasyon ve Oluşan İmmun Yanıt

Enterik mukoza, buzağının özellikle enterik patojenlere karşı sağladığı ilk koruma bariyerini oluşturmaktadır. Bağırsak mukozasını oluşturan goblet hücreleri ve enterositlerden, lümeni kaplayan ve fiziksel bir bariyer oluşturan müsün, antimikrobiyal peptinler (AMP) ve konak defans proteinleri (HDP) salgılanmakta, ayrıca mukozanın lamina propriya katmanındaki plazma hücreleri de immunglobulin A (IgA)'yı sentezleyerek antikor bağımlı mukozal bir immün yanıt oluşmasına katkıda bulunmaktadır. Bağırsak lümeninde; müsün, AMP, HDP, IgA ve inflamatuvar hücrelerin oluşturduğu kompleks katmana "kill zone" ismi verilmektedir (Şekil 5) (Maynard, Elson, Hatton & Weaver, 2012; Maldonado-Contreras & McCormick, 2011).



Şekil 5- Bağırsak lümeninden bir kesit. Kill zone, enterositler, IgA, müsün, AMP görülmekte. Maynard et al. (2012)'dan modifiye.

Çeşitli parazitler, bakteriyel, viral, fiziksel, kimyasal vb hasarlarda, enterik bariyerin zedelenmesi ile bir takım immunolojik sistemler aktive olmaktadır. Bu sistemi

oluşturan temel elemanlar arasında lökositler (makrofaj, monosit, dendritik hücreler, eozinofil, mast hücreleri ve natural killer hücreler), komplementler ve pro-inflamatuar sitokinler (IL-1 β , IL-6 ve TNF-alfa) yer almaktadır. İnflamatuar aktivasyonda ilk görev alan hücre sıklıkla makrofaj olmakta, pro-inflamatuar sitokinleri hızlıca salarak ortama diğer lökositlerin kemotaksisini tetiklemektedir. Enfeksiyonun şiddetli olması veya mikrobiyal yükün bağırsak lümeninde fazla olması neticesinde pro-inflamatuar sitokinlerden özellikle TNF-alfa, miyozik 2 kinaz mekanizmasını (MLCK) aktive ederek tight junction'ların (enterosit ve diğer hücreleri oluşturan sıkı bağlar) zedelenerek bağırsak bariyerinin daha da zedelenmesine neden olabilmektedir. İmmunolojik reaksiyonlar neticesinde lökositlerden ve çevre hücrelerden proteolitik enzimler ortama salınarak patojen etkenlerle savaş idame ettirmekte ancak yer yer enterik bariyerin de zedelenmesini şiddetlendirebilmektedir (Villena, Aso & Kitazawa, 2014; Chase, 2018). Nötrofiller; calprotectin, calgrenilin, myeloperoksidaz, elastaz gibi bir takım antimikrobiyal proteinleri içeren ve “nötrofil ekstraselüler kapani” (NET) adı verilen kompleks oluşumu ekstraselüler sahaya salgılayarak, özellikle fagositoza dirençli bakteri, virus ve mantar etkenler ile ekstraselüler sahada proteolitik bir savaş başlatmaktadır. NET sistemi, nötrofilin fagositer aktivitesi kadar güçlü olabilen ve fungisidal, parazitisidal, virusidal ve bakterisidal etkileri olan bir sistem olmaktadır (Urban et al., 2009; Apel, Zychlinsky & Kenny, 2018; MacQueen et al., 2016). Enterik inflammatuar reaksiyonların ikinci adımında ise natural killer (NK) hücreleri rol almaktadır. Akut olarak inflamasyonun ilk dalgasından sonra ortaya çıkan NK hücreleri, hasarlı veya patojen ile enfekte enterositlerin ve çevre dokuların apoptoz veya doğrudan fagositoz ile imha edilmesini sağlamakta, ayrıca inflammatuar sitokin sentezi de yaparak inflammatuar reaksiyonun devam ettirilmesini de sağlamaktadır (Maynard et al., 2012).

Enterik sistemdeki inflammatuar reaksiyonlar, bağırsak-ilişkili-lenfoid-doku (GALT) kontrolü altında gerçekleşmektedir. Bağırsak lümeninde ve mukozasındaki lökositlerden özellikle B ve T lenfositler ve dendritik hücreler (DC) antijenlerini bu bölgelerde sunarak adaptif immün yanıtın gelişmesine olanak vermektedir. Özellikle DC'lerin antijen sunma özellikleri neticesinde GALT'ta patojenlerin, kommensal ve

probiyotik bakterilerin tanınması ve ayrımının yapılması ile immunolojik reaksiyonların buna göre şekillenmesi sağlanmaktadır. GALT dokuda çeşitli antijenlere tanınırlığı artan ve olgunlaşan B ve T lenfositler ise inflamasyon anında mukozal IgG'lerin üretilmesi sağlanmaktadır (Fries, Popowych, Guan & Griebel, 2011; Chase, 2018).

İntestinal lümenine invaze olan ve fimbriaları ile mukozaya bağlanan enteropatogenik (EPEC) ve enterohemorajik (EPEC) *Escherichia coli* suşları ürettikleri shiga-benzeri toksinler (Sx) ve ısıya dayanıklı toksin (STa) ile veya doğrudan lipoolisakkarit (LPS) yapıları inflamasyonu oluşturmakta ve ishale sebebiyet vermektedir (Moxley ve Smith, 2010). EHEC ve EPEC'in ortak özelliklerinden biri de intestinal epitelde oluşturdukları lezyonlar sebebiyle bağlanan ve imha eden *Escherichia coli* (*Attaching Effacing Escherichia coli* – AEEC) olarak tanımlanmalarıdır (Dean-Nystrom et al., 1997; Gomes et al., 2016). Bağlanma sıklıkla immature villus epitel hücrelerde şekillenmekte, intestinal lümenine fazla sıvı ve elektrolit çekilmekte ve ishal oluşmaktadır.

Hall et al. (1985) tarafından yapılan bir çalışmada *E coli*'nin bağırsak mukozasında oluşturduğu patolojik değişiklikler incelenmiştir. Nekropsis incelemesinde kolon ve rektum'un mukozal duvarının kalınlaştığı, bu bölgelerde hemorajik lezyonların olduğu ve intestinal lümeninde kırmızı renkli sulu kıvamda içerik olduğu saptanmıştır. Mikroskopik incelemede ise enterositlerin lümenine döküldüğü ve lamina propria bölgesinde nötrofilik infiltratların artmış olduğu rapor edilmiştir. Moxley et al. (2010) tarafından yapılan bir diğer çalışmada AEEC, rotavirus ve coronavirus pozitif bir hayvanda nekropsis bulguları kayıt edilmiştir. İleum ve kalın bağırsaklarda multifokal bakteriyel kolonizasyon saptanmış ve bu bölgelerde nekrotik lezyonlarla birlikte villöz atrofi saptanmıştır. Lamina propriya'daki inflamatuvar değişiklikler ve ödem ile birlikte şiddetli nötrofilik infiltrasyon göze çarpmıştır. Pearson et al. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada 3 haftalık bir buzağıda proksimal jejunum, ileum, sekum ve colon'da etkilenen bölgelerde villöz atrofi, villöz yapışma, inflamasyon ve yoğun nötrofilik ve plazma hücre karakterleri yangısal infiltratlar saptanmıştır. Çeşitli diğer çalışmalarda *E. coli* enfeksiyonlarında lamina propriyadaki patolojik değişiklikler incelenmiş ve genel olarak, hemoraji, hiperemi, vilöz atrofi, ödem ile birlikte akut nötrofilik infiltrate içeren

inflamasyon saptanmış, sonuç olarak oluşan nötrofilik infiltrate'ların fekal calprotectin konsantrasyonlarında artışının sebebi olduğu belirtilmektedir (Dean-Nystrom et al., 1997; Pearson et al., 1999; Sandhu & Gyles, 2002; Nart et al., 2008).

2.6.1. Fekal Markerlar

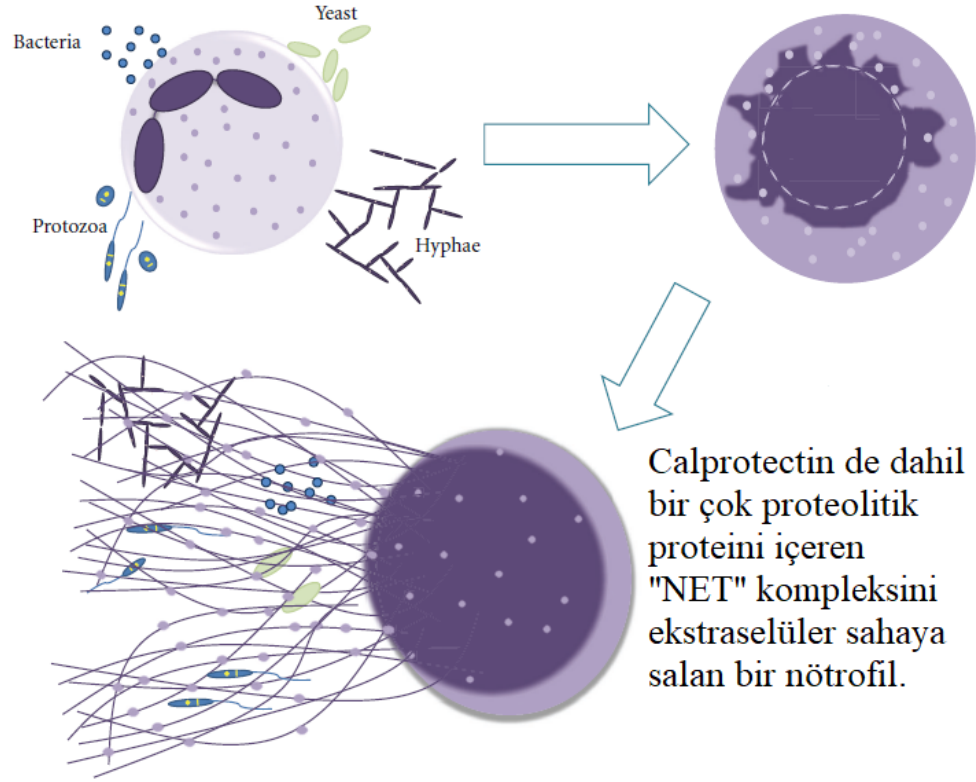
Gastrointestinal inflamasyonun etiyolojik karakterinin hızlı şekilde ortaya konması için son yıllarda non-invazif ve ekonomik bir yöntem olan fekal marker konsantrasyon ölçümleri yapılmaktadır. Özellikle insan hekimliğinde, yangısal bağırsak hastalığı (IBD), ülseratif kolitis, Crohn's hastalığı gibi bağırsakta inflamatuvar değişimlere yol açan sendromların, ve enfektif kökenli bakteriyel, viral, protozoer ve parazitler gibi enfeksiyonların hızlı şekilde teşhislerinin yapılması için fekal marker ölçümleri yapılmaktadır. Özellikle ishale yol açan enfeksiyöz patojenlerin identifikasyonu için yapılan bakteriyolojik kültür, PCR, viral partikül tespiti gibi analizlerin sonuç vermesi günler sürebilmekte ve yüksek maliyetli olabilmektedir (Gonzalez, Wilen & Burnham, 2015; Siddiqui et al, 2017). Bu bağlamda, intestinal lümende inflamasyon sonucunda ortaya çıkan ve lökosit kökenli proteinler olan elastaz, esteraz, myeloperoksidaz, laktoferrin ve calprotectin inflamasyonun bio-marker'ı olarak non-invazif şekilde ölçülmektedir. Ek olarak dışkı örneklerinden direkt lökosit sayımı ve gizli kan ölçümleri de inflamasyonun statüsü hakkında bilgi verebilmektedir. (Limburg et al., 2000; Costa et al., 2003).

2.6.1.1. Fekal Calprotectin

Calprotectin; özellikle nötrofil, makrofaj ve monosit gibi lökositlerin sitoplazmasında bulunan protein yapıların %60'ı kadarını oluşturan 35 kDa boyutunda bir polipeptittir (Tibble & Bjarnason, 2001; Olafsdottir et al., 2002). Calgranulin A (S100A8) ve calgranulin B (S100A9) kompleksi, calprotectini oluşturan temel iskelet olarak yangısal süreçte hücrenin sitozolünden hücre membranına doğru hareket ederek inflamasyon bölgesine ulaşan nötrofilden hücre dışına salınmaktadır (Voganatsi et al., 2001). Calprotectin, çinko ile kompetitif yarışarak çinko içeren enzimlerin inhibisyonunu dolayısıyla bakteriyel çoğalmanın önleminde rol almaktadır. Calprotectin ayrıca endojen olarak hücre hasarı veya patojenlerin dokulara verdiği hasarlarda ortaya çıkan

DAMP'lara tutunarak onların sirkülasyondan elimine olmasını da sağlamaktadır. Mukozal permabilite artışı, doku hasarı ve enfeksiyon durumlarında nötrofillerin odak noktasına olan akışı nedeniyle calprotectin konsantrasyonunun artması beklenmektedir (Aadland ve Fagerhol, 2002). Bu sebeple inflamasyon durumlarında yangı bölgesine nötrofil akışını dolayısıyla enfeksiyonun şiddetinin ölçülmesinde bir marker olarak kullanılmaktadır (Olafsdottir et al., 2002; Langhorst et al., 2008). Özellikle bağırsak mukozasına invaze olan Gram (-) bakterilerin lipopolisakkarit (endotoksin) yapısı sebebiyle inflamasyon bölgesine yoğun bir nötrofil artışı olduğu ve bu durumun calprotectin seviyesinde de artışa neden olduğu bildirilmektedir (Røseth, Fagerhol, Aadland & Schjonsby, 1992).

Calprotectin; calgrentin, myeloperoksidaz, histon, lactoferrin ve defensin gibi bir takım antimikrobiyal polipeptidlerin bir arada bulunduğu bir kompleks ağ şeklinde nötrofil sitozolünden inflamasyon bölgesine salınmaktadır. Bu komplekse “*nötrofil ekstraselüler kapani*” (NET) adı verilmektedir. Fagositoz özelliği bulunan nötrofiller, sitozolündeki bu protein yapıları ekstraselüler sahaya salarak fagositoze dirençli virus, bakteri, mantar gibi patojenlerle olan immunolojik savaşı daha güçlü hale getirmektedir (**Şekil 6**) (Urban et al., 2009; Apel et al., 2018; MacQueen et al., 2016). Calprotectin dış ortamdaki oda sıcaklığındaki dışkı içerisinde 7 güne kadar stabil kalmakta ve bağırsak içeriğindeki Ca^{+2} iyonları sayesinde proteolizise dayanıklı olduğu düşünülmekte ve diğer markerlara kıyasla calprotectin'in dayanıklı yapısı onu daha stabil bir marker yapmaktadır (Costa et al., 2003). Ayrıca calprotectin 2-8 °C arasındaki sıcaklıklarda 10 güne kadar, - 20 derecede dondurulduğunda ise 1 yıla kadar dışkı içinde stabil kalabilmektedir (Oyaert, Van den Brent, Beol, Bossuyt & Van Hoovels, 2017).



Şekil 6 - Calprotectin, histon, elastaz, lactoferrin, defensin gibi bir çok proteolitik sitozolik enzimi içeren “NET” kompleksi ekstraselüler sahaya salan bir nötrofilin şematize hali. Bu reaksiyon, bakteri, virus, protozoa ve mantar gibi patojen etkenlerin antijenik yapılarını nötrofilin doğrudan tanınması veya IL₁₈, TNF-alfa, IL₆ gibi sitokinlerle uyarılması neticesinde oluşmaktadır (Urban et al., 2009).

İnsan hekimliğinde, fekal calprotectin (FCalp) ölçümleri temel olarak IBD'nin tanısında kullanılmaktadır (Langhorst et al., 2008). IBD'nin tanısı klasik olarak invaziv bir yöntem olan endoskopi ile yapılmakta ancak son yıllarda hastalığın tanısında serum c-reaktif protein (CRP), serum interleukin 1 ve 6 (IL-1,6), fekal laktoferrin ve calprotectin gibi non-invaziv olarak ölçülebilen markerlar değerlendirilmektedir (Solem et al., 2004). Shastri et al. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, 2185 akut ishalleri yetişkin bireyden dışkı örnekleri alınmış, bu örneklerden bakteriyolojik kültür analizi yapılarak fekal calprotectin, laktoferrin ve gizli kan seviyeleri ölçülmüştür. Daha önce IBD, gastrointestinal tümör ve siroz tanısı konulan hastalar çalışma dışında bırakılmıştır. *Shigella* spp, *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp, *E.coli*, *Yersinia* spp ve *Clostridium*

difficile bakterileri için identifikasyon ve bakteriyel kültür analizleri yapılmıştır. Bu bakterilerden en az birinin identifiye edildiği (n=195) dışkı kültürlerinden yapılan FCalp ölçümleri 0-994 mg/L (ortalama 142.84 mg/L) çıkarken bakteriyel kültür negatif çıkan (n=196) dışkı ölçümlerinde FCalp 0.1-204 mg/L (ortalama 16.8 mg/L) olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlara göre FCalp'ın laktoferrin ve gizli kan ölçümlerine kıyasla akut bakteriyel ishallerin tanısında çok daha güçlü bir marker olduğu ve bu üç testin sensitivite ve spesifitesi sırasıyla %83 - %87, %78 - %54 ve %38 - %85 olarak belirlenmiştir. Akut bakteriyel ishallerin tanısında altın standart olarak belirtilen bakteriyel kültür analizlerinin vakit alması, maliyetinin yüksek olması ve tanı konmasını geciktirmesi gibi nedenlerle daha hızlı ve pratik testlerin varlığına ihtiyaç duyulmaktadır (Bauer et al., 2001; Shastri et al., 2008). Tanıda dışkıda gizli kan bakılması, dışkının mikroskopik olarak incelenmesi ve laktoferrin düzeylerinin ölçülmesi de ayrıca kullanılan yöntemlerdendir (Bardhan et al., 2000). Ancak bu testlerin sensitivitesi ve spesifitesinin çok değişkenlik gösterdiği ve güvenilir sonuçlar vermediği, FCalp'ın bu testlere kıyasla daha güçlü sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Shastri et al., 2008).

Akut viral ve bakteriyel kökenli ishallerin ayırımında ayrıca FCalp ölçümünün de kullanılabileceği çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Chen, Huang, Chen & Kong (2012) tarafından 153 çocuk üzerinde yapılan bir çalışmada, dışkılarında viral patojen (n=91) ve bakteriyel patojen (n=62) tespit edilmiş ve FCalp düzeyleri ölçülmüştür. Bakteriyel kökenli enfeksiyonlarda (ortalama 745 mg/g) viral enfeksiyonlara (ortalama 89 mg/g) kıyasla FCalp seviyesinde anlamlı artış (p<.05) tespit edilmiştir. 66 çocukta yapılan bir diğer çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir (Sýkora, Siala, Huml, Varvarovksa, Schwarz & Pomahaova, 2010). Bu çalışmada ayrıca viral patojen pozitif dışkılarıdaki FCalp seviyeleri ile sağlıklı çocuklardan alınan örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu çalışmaya ek olarak, akut ishalleri yetişkin insanlarda da benzer sonuçların elde edildiği, FCalp'ın sensitivite ve spesifitesi'nin sırasıyla %87 ve %68 olduğu rapor edilmiştir (Weh et al., 2013). FCalp'ın bakteriyel kökenli ve viral kökenli enfektif ishalleri ayırt etme özelliğinin ortaya konması için yapılan çeşitli ROC analizlerinde oldukça yüksek değerler bulunmuştur. Shastri et al. (2008), optimal cut-off

değerinin 200 mg/kg ve sensitivite ve spesifitenin sırası ile % 83 ve % 87 olduğunu belirtirken, Sýkora et al. (2010) cut-off değerinin 103,92 µg/g, sensitivite ve spesifitenin de sırası ile % 89 ve %98 olarak bulmuştur. Bu sonuçlar ele alındığında FCalp'ın bakteriyel kökenli akut ishallerde hem viral kökenli ishallerde hem de sağlıklı gruplara kıyasla anlamlı artışlar gösterdiği ve ishalin etiyolojik kökeninin belirlenebildiği ancak bakterinin türünü belirlemede etkili olmadığı sonucu çıkartılmaktadır.

Grellet et al. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, kronik ishallerde köpeklerdeki FCalp düzeyleri incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen 27 adet kronik ishallerde (3 haftadan fazla ishal belirtisi gösteren) köpeğe endoskopi ve histolojik yöntemler kullanılarak IBD tanısı koyulmuş, yine aynı çalışmada hiçbir gastrointestinal sistem belirtisi göstermeyen 69 sağlıklı köpek ise çalışmaya kontrol grubu olarak dahil edilmiştir. FCalp düzeyleri, kronik ishallerde grupta (ortalama 35.1 µg/g), sağlıklı gruba göre (ortalama 11 µg/g) 3.2 kat daha yüksek bulunmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı farklar elde edilmiştir (p=0.002). Bu çalışmada insanlarda IBD hastalığında bir marker olarak kullanılan FCalp ölçümünün, bağırsaktaki yangısal durumun bir göstergesi olabileceği köpekler üzerinde de kanıtlanmıştır. Çalışmada ayrıca diğer inflamatuvar durumlar olan viral ve bakteriyel enfeksiyonlar ve neoplazilerin etiyolojik tayini yapılmamakla birlikte insandakine benzer olarak bu durumlarda da FCalp'ın bir biyo belirteç olarak kullanılabileceği önerilmiş ve ileride bu konuyla ilgili çalışmalar yapılması gerektiği vurgulanmıştır.

Salman, Ali, Abdu & Abdul (2017) tarafından yapılan bir çalışmada çeşitli protozoer etkenlerin bağırsak hasarı ile olan ilişkisi ve bu enfeksiyonlardaki FCalp düzeyleri irdelenmiştir. Bu çalışmaya göre insanlarda en yaygın gastrointestinal protozoonlardan olan *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Blastocystis hominis*, *Dientamoeba fragilis*, *Chilomastix mesnili* pozitif insanların FCalp düzeyleri ölçülmüştür. 91 adet örnekten *Entamoeba histolytica* (38) ve *Giardia lamblia* (10) pozitif vakalarda FCalp saptanmakla birlikte *Dientamoeba fragilis* ve *Chilomastix mesnili* pozitif vakalarda FCalp saptanmamıştır. Bu sonuçlar eşliğinde insanlarda bazı protozoer enfeksiyonlarda FCalp seviyelerinin artmış olduğu gözlenmekle birlikte, IBD ve *Helicobacter pylori* gibi çeşitli co-enfeksiyonlar neticesinde de FCalp seviyelerinin mono protozoer enfeksiyonlara

kıyasla daha çok artmış olduğu gözlenlenmiş ve protozoer enfeksiyonların FCalp konsantrasyonunu tek başına da artırabileceği sonucu ortaya çıkmıştır.

Dışkıda homojen şekilde dağılım gösteren FCalp düzeylerindeki artış veya azalışlar, inflamasyon dışındaki bazı durumlara da bağlı olabilmektedir. Mekanizmaları henüz açıklığa kavuşmuş olmasa da bazı mono çalışmalarda non-steroidal antiinflamatuvar ve kortizon gibi steroid ilaçların kullanımının FCalp konsantrasyonlarını artırdığı sonucu çıkmakta, bu ilaçların mide ve bağırsak çeperindeki enterik bariyerin hasarlanmasına, mukozal kanamaların tetiklenmesine ve dolayısıyla calprotectin artışına yol açabildiği düşünülmektedir. Ek olarak mide koruyucu özelliği olan proton pompası inhibitörü ilaçların da FCalp konsantrasyonlarını artırdığı belirtilmektedir (Poullis, Foster & Mendall, 2003; Ayling & Kok, 2018). Ayrıca salazoprine, metronidazole, azathioprine ve çeşitli multivitamin ilaçların calprotectin konsantrasyonları üzerine olan değişimleri irdelenmiş, bu ilaçların konsantrasyonları etkilemediği ortaya konmuştur (Tøn et al., 2000).

FCalp ölçümleri ELISA, flöro-enzim, flow krotmotografik ve turbidimetrik immunoassay gibi bir çok yöntem ile kantitatif olarak yapılabilmektedir. Literatürde sunulan çalışmalarda FCalp konsantrasyonları, µg/g veya mg/kg olarak sunulmaktadır (Gonzalez et al., 2015). Son yıllarda bir çok ticari medikal firmasının piyasaya sunduğu hızlı calprotectin tanı kitleri mevcuttur. Özellikle IBD'li hastalarda, aktif inflamasyon statüsüne giren ve hastalığın nüks ettiği düşünülen periyotlarda hızlı ve evde kullanım imkanı sunan yarı-kantitatif hızlı ELISA tanı kitleri geliştirilmiştir. Bu testler ayrıca yaygın olarak yeni doğan bebeklerdeki ishal durumlarında kullanılmakta, ishalin bakteriyel – nutrisyonel ayrımı hızlıca yapılmaktadır (Ayling & Kok, 2018).

2.6.1.2. Fekal Calprotectin ve Akut Faz Proteinleri Arasındaki İlişki

Akut faz proteinlerinden olan C-reaktif protein (CRP), insanlarda çeşitli akut bakteriyel ve viral enfeksiyonlarda, doku nekrozlarında, neoplazi vb. durumlarında artış göstermektedir (Vermeire, 2004). Weh et al. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada bakteriyel ve viral gastroenteritis vakalarında ve sağlıklı kontrol grubunda FCalp ve

lactoferrin seviyeleri ile CRP düzeylerindeki değişimler ve üç grup arasındaki farklar ortaya konmuştur. Buna göre bakteriyel ishallerde fekal lactoferrin ve FCalp, viral ishallerde ve sağlıklı gruba göre anlamlı düzeyde artış göstermiş, buna ek olarak CRP düzeylerinde de bakteriyel ishallerdeki artışın diğer iki gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı farklar içerdiği tespit edilmiştir. IBD'li hastalarda FCalp ve CRP arasındaki ilişkinin irdelendiği bir çalışmada, hastalığın klinik şiddeti ile FCalp arasında güçlü istatistiksel ilişki bulunurken CRP'nin ise FCalp kadar güçlü istatistiksel sonuçlar vermediği bildirilmektedir (Mosli et al., 2015). Ayrıca bu çalışmada FCalp'in, yaygın olarak kullanılan bir fekal marker olan fekal laktoferine kıyasla daha güçlü olduğu belirtilmektedir. Enfektif ishallerde çocuklarda yapılan bir çalışmada ise, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., rotavirus, adenovirus ve norovirus etkenlerinin ortaya çıkarttığı klinik yansımaların şiddeti ile FCalp ve CRP arasındaki ilişkiler irdelenmiştir. FCalp düzeyleri, bakteriyel kökenli ishallerde viral kökenli ishallerde göre çok daha yüksek bulunurken bu artışlar ile CRP arasında da korelasyon tespit edilmiştir (Chen et al., 2012).

Veteriner literatüründe FCalp ve SCalp yalnızca bir kaç çalışmada köpeklerde araştırılmıştır. Köpeklerde yapılan bir çalışmada, idiyopatik IBD'li köpeklerde SCalp düzeyleri, tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçülerek klinik parametrelerle olan ilişkisi irdelenmiştir. SCalp'nin tedavi öncesi olan baseline ölçümleri IBD'li ve sağlıklı köpekler arasında anlamlı farklar göstermekte, sensitivite ve spesifite değerlerinin sırası ile % 82,4 ve % 65,6 olduğu belirtilmektedir. Araştırmacılar, SCalp konsantrasyonunu 296 µg/L ve üzeri olduğu durumlarda köpeklere IBD tanısının konabileceğini belirten bir cut-off noktası da sunmuşlardır. Ayrıca SCalp düzeylerinin tedavi sonrası anlamlı şekilde azaldığı ancak SCalp düzeylerinin serum CRP düzeyleri ile korelatif anlamlar sunmadığı da belirtilmektedir (Heilmann et al., 2012). Aynı araştırmacıların 2018 yılında yaptığı bir diğer çalışmada kronik enteropatili köpeklerde FCalp, serum CRP, histopatolojik lezyonları ve klinik parametreler arasındaki ilişkiler araştırılmıştır. Kronik enteropatili köpeklerde hastalığın klinik şiddeti ile FCalp artışları ve histopatolojik lezyonların nitelikleri arasında anlamlı korelasyonlar bulunurken fekal calprotectin ve serum CRP arasında ilişki tespit edilememiştir.

2.6.1.3. Diğer Bazı Fekal Markerlar

Fekal markerların veteriner tıbbında kullanımı henüz yaygınlaşmaya başlamakla birlikte literatürde yalnızca IBD, kronik enteropatili ve akut hemorajik diyare sendromlu köpeklerde bazı fekal markerlar değerlendirilmiştir. Alfa₁-proteinaz-inhibitörü (A₁-PI) karaciğer tarafından üretilen bir proteinaz inhibitörüdür. Sıklıkla protein kayıplı enteropatilerde fekal konsantrasyonları ölçülmekle birlikte henüz netleştirilmemiş olsa da köpekte bir akut faz reaktanı ve inflamasyonun fekal marker olma potansiyeli bulunmaktadır. Akut hemorajik diyare sendromlu köpeklerde yapılan bir çalışmada ishal, dehidrasyon ve yaygın intestinal inflamasyon bulguları olan köpeklerde calprotectin ve A₁-PI konsantrasyonları oldukça yüksek bulunmakla birlikte A₁-PI'in potansiyel bir fekal marker olabileceği araştırmacılar tarafından belirtilmektedir (Heilmann et al., 2017).

Fekal lactoferrin (FL), nötrofil, makrofaj ve monosit gibi fagositer hücrelerin sitoplazmasında bulunan demir bağlayıcı bir proteindir. FL, nötrofillerin ekstraselüler sahaya saldığı antimikrobiyel kompleks olan NET'in yapısında da bulunmaktadır. FL, fekal calprotectin ile beraber IBD'li insanlarda bir çok çalışmada ölçülmüştür. Aktif inflamasyonun bir belirteci olabilen FL'nin sensitivitesinin fekal calprotectin kadar yüksek olmadığı belirtmektedir (Pang, Leach, Katz, Day & Ooi, 2014; Gonzalez et al., 2015) Ayrıca bakteriyel enfektif ishallerde çocuklarda yapılan bir çalışmada, FL konsantrasyon değişimlerinin ishallerin bakteriyel kökenli olup olmadığının ayırımının ortaya konmasında kullanışlı bir marker olamayacağı ortaya konmuştur (Ashraf et al., 2007).

İnsanlarda yaygın olarak kullanılan diğer bazı markerlar arasında alfa ve beta defensin, osteoprotegerin ve cathelicidin bulunmaktadır. Defensinler NET'in yapısına katılarak direkt antimikrobiyel ve diğer lökositlerin inflamasyon bölgesine kemotaksisine aracı olmaktadır. Defensin konsantrasyonları insan tıbbında özellikle IBD, ülseratif kolitis ve enfektif ishal gibi inflamatuvar durumlarda dışkıda artmaktadır (Pang et al., 2014). Benzer inflamatuvar durumlarda artan diğer protein yapıları ise osteoprotegerin ve cathelicidin olmaktadır. Özellikle osteoprotegerin konsantrasyonlarının, *Cryptosporidium parvum* kaynaklı ishal vakalarında dışkıda arttığı

belirtilmekte, cathelicidin'in ise *Shigella* spp. kaynaklı enfektif ishal durumlarında artış gösterdiği bazı çalışmalarda sunulmaktadır (Pang et al., 2014; Siddiqui et al., 2017).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali ve Gruplandırma

Çalışma materyalini <12 günlük yaşta toplam 70 adet Holstein-Friesian ırkı buzağı oluşturdu. Çalışma, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma Uygulama Merkezinde, Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesinde ve özel bir çiftlikte yapıldı. Doğumlarının ardından yeterli kolostrumla beslenmiş ve 2. günden itibaren bireysel buzağı bölmelerinde barındırılan buzağılar çalışmaya alındı.

3.1.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışma materyalini oluşturan buzağılar çalışma (n=55) ve kontrol grubu (n=15) olacak şekilde iki gruba ayrıldı. Doğum anı itibarıyla başlayan neonatal dönem boyunca ishal belirtisi gösteren buzağılar (n=55) çalışma grubuna dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen bütün buzağuların yaş aralıklarının homojen ve paralel olması sağlandı. Çalışma grubunu oluşturan buzağular; sığır spesifik hızlı ELISA tanı kitleri (Bovid-5, Bionote, Güney Kore) kullanılarak etken teşhisi yapılmasının ardından çalışma grubuna dahil edildi ve ishalin ilk saptandığı an 0. gün olarak kayıt altına alındı. Enfektif ishalleri buzağuların etiyolojik dağılımları homojen olarak dizayn edildi. Bu bağlamda septisemik *E.coli* (n=11) ve non-septisemik (n=6) *E.coli*, *C.parvum* (n=11), *C. Parvum* + viral (mix) (n=8) ve viral (n=19) olacak şekilde çalışma grubu oluşturuldu. Kontrol grubuna dahil edilen buzağular ise doğum anını takiben klinik skorlandırmalar ışığında hiçbir hastalık belirtisi göstermeyen ve ishal olmamış buzağılardan (n=15) seçilerek çalışmaya dahil edildi. SAA, serum calprotectin (SCalp) ve fekal calprotectin (FCalp) parametrelerinin ishalleri ve kontrol grubunda değerlendirilirken hayvanların aynı yaş aralığında olması sağlandı.

Çalışma grubuna dahil edilen hayvanların klinik muayeneleri 0. gün ve 7. günlerde yapılarak sağlık durumları ve dışkı skorlandırmaları buzağı sağlık gözlem formlarına

kaydedildi. Sağlık formu, Wisconsin-Madison Üniversitesi'nin standartize edilmiş buzağı sağlığı gözlem skorlamasından modifiye edilerek hazırlandı (Medrano-Galarza et al., 2018). Bu form temelinde; buzağuların vücut sıcaklığı (°C), respirasyon sayısı (/dk), kalp frekansı (/dk), emme refleksi skoru (1-3 arası), dışkı skoru (1-4 arası), mental statüsü (1-3) kayıt altına alındı. Buzağularda klinik parametreler için referans değerleri; vücut sıcaklığı için 39,0 – 40,2 °C, respirasyon sayısı için 30 – 60 /dk ve kalp frekansı için 100 – 140 /dk olacak şekilde değerlendirildi (Smith, 2020). Ayrıca, *E. coli* pozitif buzağular, Fecteau et al. (1997)'in buzağular için belirlediği septisemi kriterleri [Lökositozis (>12000/µl) veya lökopeni (<4000/µl), hipotermi (<37.5 °C) veya ateş (>39.5 °C), taşipnea (<60/dk) veya taşikardi (>100/dk), hipopnea (<20/dk) veya hiperpnea (>60/dk)] neticesinde septisemik *E. coli* (n=11) alt grubuna dahil edildi. Wisconsin-Madison buzağı sağlığı skorlama sisteminde belirtilen emme refleksi, mental statü ve dışkı skorlamaları **Tablo 3'**de sunuldu. Çalışma esnasında farklı bir sisteme ait enfeksiyonla ilişkili klinik bulgu belirtisi gösteren (respiratorik enfeksiyonlar, omfaloflebitis, ortopedik problem vb.) buzağular çalışma dışı bırakıldı.

Tablo 3: Wisconsin-Madison buzağı sağlığı skorlama sistemine göre dışkı, emme refleksi ve mental statü skorlaması (Medrano-Galarza et al., 2018).

Parametre	Puanlama			
	1	2	3	4
Dışkı Skoru	Normal	Yarı katı, macun kıvamlı	Sıvı ancak altlığın üzerinde kalabiliyor	Tamamen sıvı formda
Emme Refleksi Skoru	Zayıf	Orta	Güçlü	
Mental Statü Skoru	Alert	Depresif	Komatöz	

Kontrol grubuna dahil edilen hayvanlar tamamıyla sağlıklı olan ve ishal bulgusu göstermeyen hayvanlar arasından seçildi. Çalışma grubuna dahil edilen hayvanların tedavileri yapılarak sağaltımları gerçekleştirildi (**Şekil 7**). İshalli hayvanların tedavi protokolünde bir örneklilik sağlanması için, ishali başlangıç anından itibaren etiyoloji farketmeksizin Trimetoprim+Sulfadoksin (Bakteral®, Topkim İlaç) kombinasyonu içeren ticari antibiyotik preparatı 3ml/50kg dozda intramuskuler yol ile 5 gün boyunca

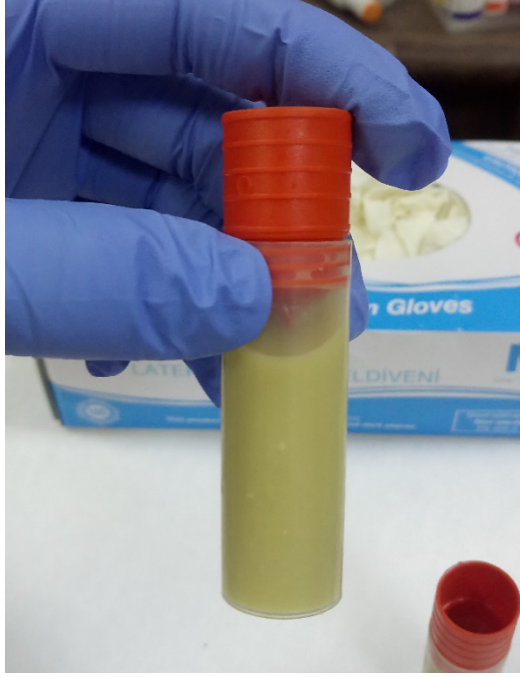
kullanıldı. Buna ek olarak dehidrasyon statüsünün şiddetine (%5 ile 8) göre ayakta ve alert olan ve emme refleksi mevcut olan buzağılara biberon ile oral rehidrasyon solüsyonu (Baymix®, Bayer) günde 2 paket olacak şekilde sabah ve akşam verildi. Klinik skorlandırma neticesinde depresif olduğu saptanan ve şiddetli dehidrasyon belirtileri gösteren (%8 ve fazlası) ve ayağa kalkamadığı görülen hayvanlara ise intravenöz yol ile sıvı sağaltımı uygulandı. Verilecek sıvı (L) = [dehidrasyon derecesi (%) x vücut ağırlığı (kg)]/100 ve devam eden kayıplar için 80 ml/kg günlük doz kombinasyonu formülize edilerek 50 ml/kg/saat hızında uygulandı. Uygulanan sıvılar %5 Dekstroz + %0.9NaCl ve %0.9 NaCl içine katılmış %8.4'lük NaHCO₃ içeren (Karbomin®, Arma İlaç) preparat dehidrasyon statüsüne göre 3-5 mEq/kg (3-5 ml/kg) dozunda hesaplanarak uygulandı. Hızlı tanı kiti ile *Cryptosporidiosis* tanısı koyulan buzağılara ise ek olarak Halocur® (MSD Animal Health) günde tek sefer 10 cc per os yol ile 7 gün boyunca uygulanarak hastalığın sağaltımı yapıldı.



Şekil 7. Septisemik *E. coli* tanısı konulan ve tedavisi yapılan ishalli bir buzağı.

3.2. Örneklerin Alınması

Kan örnekleri, 0. ve 7. günlerde olmak üzere buzağuların vena jugularislerinden asepsi ve antisepsi kuralları çerçevesinde vacutainer iğneler ile 3'er adet 10 ml'lik EDTA'lı ve antikoagülansız kuru tüplere alındı. Serum ve plazmalar vakit geçirmeksizin santrifuj cihazında (NF200, Nüve, Türkiye) 5 dakika ve 5000 rpm devirde ayrılarak vida kapaklı cryotüplerde (2 ml, Biosigma, İtalya) analiz gününe dek -80°C'de saklandı. Dışkı örnekleri ise yine belirtilen günlerde rektal tuşe yöntemi ya da spontane dışkılama beklenecek 30 gramlık miktarlar halinde dışkı numune kabına (Polipropilen Steril Numune Kabı, Fırat, Türkiye) alındı ve analiz gününe dek -20 °C'de dondurulacak saklandı (Şekil 8).



Şekil 8- Wisconsin-Madison buzağı sağlığı skorlama sistemine göre dışkı skoru 4 olan bir dışkı örneği.

3.3. Laboratuvar Analizleri

İshalin başladığı gün (0. gün) alınan ilk dışkı örneğinden Bovid-5 marka (BioNote, Güney Kore) (immunokromatografik yöntem ile kalitatif analiz; sensisitivite ve spesifite oranları % 98 ve % 99) hızlı elisa kiti ile etiyolojik etkenler tespit edildi (*Escherichia coli*

K99, Cryptosporidium parvum, Rotavirus, Coronavirus, Giardia spp) (Şekil - 9). Ayrıca 0. ve 7. günlerde alınan dışkı örnekleri dondurulmadan önce dışkıların parazitolojik muayeneleri yapıldı. Bu amaçla modifiye Ziehl–Neelsen (mZN) boyama tekniği kullanıldı. Etil-asetat çöktürme yöntemi sonrası yayma preparat hazırlanarak, lam 5 dakika boyunca alev yardımıyla alttan ısıtılıp, boyanın fazlası dökülerek çeşme suyu ile yıkandı. %5’lik sülfürik asit ile 30-60 saniye dekolizasyon uygulandı. Hazırlanan preparatlar mikroskop altına incelenerek özellikle hızlı teşhis kiti ile *Cryptosporidium parvum* pozitif vakalarda ookistlerin varlığı konfirme edildi ve ookist sayımı gerçekleştirildi.



Şekil – 9. Bovid-5 marka hızlı ELISA etiyolojik tanı kiti ile *E. coli* K99 pozitif çıkan bir vaka örneği.

Hematolojik analizler EDTA’lı kanlardan yapıldı. Bu bağlamda Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Merkez Laboratuvarında otomatik kan sayım cihazı (VH3, Hasvet, Türkiye) ile total lökosit (WBC) düzeyleri ölçüldü. Serum GGT konsantrasyon ölçümleri Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Hastanesi Merkez Laboratuvarında yapıldı. Ticari olarak satışı yapılan tek kullanımlık stripler ile serum biyokimyasallarının tekil olarak ölçümüne olanak veren Reflotron® Plus (Roche Diagnostics, İsviçre) cihazı ile ölçümleri yapılan GGT enzimlerinin sonuçları U/L olarak

belirlendi. Pasif transfer yetmezliğinin belirlenmesi için ishalleri buzağular 0. gün yaşlarına göre kategorize edildi, bu bağlamda 0-3 günlük, 3-5 günlük, 5-7 günlük ve 7+ günlük yaşta olacak şekilde gruplandırıldı. Yapılan çalışmalarda GGT'nin sunulan cut-off referans aralıkları; ≤ 3 günlük yaş, 3-5 günlük yaş ve 5 – 7 günlük yaştaki buzağular için sırası ile 200 U/L, 100 U/L ve 75 U/L olacak şekilde değerlendirildi (Tyler et al., 1996; Cuttance et al., 2017).

Çalışma grubu ve kontrol grubundan alınan dışkı örneklerinden bakteriyel identifikasyon yapıldı. *E. coli* konfirmasyonu amacıyla numuneler Colombia Kanlı Agar (%7 koyun kanı ilaveli), MacConkey Agar, Eosin Methilen Blue Agar (EMB)'a inokule edildi. İlgili besiyerleri yüzeyinde *E. coli* yönünden şüpheli koloniler identifikasyon amacıyla tazelenerek saflaştırıldı. Ertesi gün 18 saatlik taze koloniler spektrofotometre yardımıyla 0.5 Mac Farland düzeyinde ayarlanarak BD Phoenix Panel PX NMIC/ID kiti kullanılarak, BD Phoenix™ 100-Otomatik Bakteri İdentifikasyon ve Antibiyotik Duyarlılık Cihazında identifiye edildi.

Serum amyloid A (SAA), serum calprotectin (SCalp) ve fekal calprotectin (FCalp) konsantrasyonları, ticari ELISA kitleri ile ölçüldü (**Şekil - 10**). Analizler Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı. -80°C'de saklanan serum örnekleri analizden bir gün önce +4°C'de çözündürüldü. SAA konsantrasyonlarının ölçümleri sığır türü spesifik ticari ELISA kitleri (SAA Bovine, SEA885Bo 96 Test, USCN®, Wuhan, Çin) kullanılarak ölçüldü. Laboratuvarda serum numuneleri kit prosedürü doğrultusunda, double-antikor sandviç ELISA tekniği ile çalışılarak Biotek Epoch® marka plate reader ile ölçümler gerçekleştirildi. SAA ölçümlerinde test kiti prosedürlerine göre standart konsantrasyon aralığının en yükseği 80 ng/ml; en düşüğü ise 0.156 ng/ml olduğu kaydedildi. (80, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25 ve 0.625 ng/ml). SAA değerlerinin ölçümünde ise standart konsantrasyonların en yükseği 600 ng/ml; en düşüğü 37.5ng/ml olarak hesaplanmıştır (600, 300, 150, 75, 37.5 ng/ml). SAA analizlerinde standart grafiğinin R² değeri %88 (çalışmanın % olarak doğruluğu) olarak bulundu.

SCalp konsantrasyonlarının ölçümleri sığır türü spesifik ticari ELISA kitleri (Bovine Calprotectin, 201-04-3115 kodlu 96 Test, SunRedBio, Shanghai®, Çin) kullanılarak ölçüldü. Laboratuvarında serum numuneleri kit prosedürü doğrultusunda, double-antikor sandviç ELISA tekniği ile çalışılarak Biotek Epoch® marka plate reader ile ölçümler gerçekleştirildi. SCalp ölçümlerinde test kiti prosedürlerine göre standart konsantrasyon aralığının en yükseği 240 ng/ml; en düşüğü ise 15 ng/ml olarak değerlendirildi (240, 120, 60, 30 ve 15 ng/ml). SCalp analizlerinde standart grafiğinin R² değeri %100 (çalışmanın % olarak doğruluğu) olarak bulundu.

FCalp analizleri için daha önce dondurulmuş dışkı örnekleri oda sıcaklığında çözdürüldü. FCalp konsantrasyonlarının ölçümleri sığır türü spesifik ticari ELISA kitleri (Bovine Calprotectin, MBS020907 kodlu 96 Test, MyBioSource®, San Diego, ABD) kullanıldı. Ticari test kitinin sağladığı bilgiler doğrultusunda oda sıcaklığında çözdürülen dışkılar (10 mg dışkıya karşılık 100 µl PBS gelecek şekilde) PBS ile homojen şekilde karışması için tüp içerisinde çalkalandı. Elde edilen tüp 3000 rpm'de 30dk boyunca santrifüj edildi ve karışımda üst kısmında biriken süpernatant ELISA testlerinde kullanıldı. Double-antikor sandviç ELISA tekniği ile çalışılarak Biotek Epoch® marka plate reader ile ölçümler gerçekleştirildi. FCalp ölçümlerinde test kiti prosedürlerine göre standart konsantrasyon aralığının en yükseği 200 ng/ml; en düşüğü ise 6.25 ng/ml değerlerindedir (200, 100, 50, 25, 12.5 ve 6.25 ng/ml). FCalp analizlerinde standart grafiğinin R² değeri %100 (çalışmanın % olarak doğruluğu) olarak bulundu.



Şekil – 10. SAA, SCalp ve FCalp konsantrasyonlarının ELISA yöntemi yapılan analizleri.

3.4. Sonuçların İstatiksel Değerlendirilmesi

Elde edilen verilerin normalite testleri Shapiro-Wilk yöntemi ile yapıldı. Verilerin betimleyici istatistiksel çıktıları normal dağılan veriler için $\text{mean} \pm \text{SE}$ olarak verilirken normal dağılmayan veriler için median (min-max) olarak verildi. 0. ve 7. gün verilerinin kıyaslanması amacı normal dağılan veriler için paired-t test, normal dağılmayan veriler için ise non-parametrik test Wilcoxon methodu uygulandı. Verilerin normal ve normal dağılmamalarına göre sırası ile error bar ve boxplot grafikleri oluşturuldu. Verilerin gruplar arası farklarının ortaya konması amacıyla normal dağılan veriler için t testi, normal dağılmayan veriler için ise Mann-Whitney-U testleri uygulandı. 0. gün ve 7. gün tekrarlı ölçümlerde etiyolojik gruplar arasın kıyaslamalarda tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) methodu kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlı farklar sunan grupların kıyası için post hoc testlerinden Dunn ve Tukey methodları uygulandı. Parametreler arasındaki ilişkilerin saptanması amacı ile Pearson korelasyon ve Spearman rank korelasyon testleri uygulandı. Serum amyloid A, serum calprotectin ve fekal calprotectin konsantrasyonlarının ishalleri hayvanları tespit etme gücü ROC analizi ile yapıldı. Bu bağlamda belirtilen parametreler için cut-off değerleri, sensitivite ve spesifisite oranları belirlenerek çıktıları ROC eğrisi ve nokta dağılım grafikleri şeklinde verildi. Cut-off değerleri Youden's J indeksine göre saptanırken istatistiksel farklar AUC (Area under curve) değerleri cinsinden verildi (Fluss, Faraggi & Reiser, 2005). Ayrıca elde edilen cut-off değerleri ışığında yapılan backward lojistik regresyon analizleri neticesinde istatistiksel olarak anlamlı olan OR (Odds Ratio) değerleri sunuldu. İstatistiksel analizler SPSS v22 ve MedCalc V19 programları ile uygulandı.

Bu çalışma, Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 2019-04-02 numarası ile onaylanmıştır. Ayrıca bu çalışma Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar ve Proje birimi'nin (BAP) OUAP(V) – 2020/1 sayılı projesi ile desteklenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Parametreler

Çalışma (n=55) ve kontrol (n=15) grubunu oluşturan holstein-friesian ırkı buzağuların (n=70) cinsiyet dağılımları, gruplara göre etiyolojik etkenlerin dağılımları, 0. gündeki (ishalin ilk başladığı gün) yaşları ve bu yaşların etiyolojilere göre dağılımları ve yüzdesel oranları **Tablo 4**'de sunulmuştur. Çalışma grubunu oluşturan ishallerli buzağuların etiyolojik kategorizasyonu; *E. coli* (n=17), *C. parvum* (n=11) *C. parvum* + viral (n=8) ve viral (n=19) olarak yapıldı. Viral grubu oluşturan buzağuların 11 tanesinde coronavirus tespit edilirken 8 tanesinde ise rotavirus tespit edildi. *C. parvum* + viral grubu oluşturan grupta ise 5 adet rotavirus ve 3 adet coronavirus tespit edildi. İshallerli buzağuların cinsiyet dağılımları; 27 dişi (% 49) ve 28 erkek (% 51), kontrol grubunu oluşturan buzağuların cinsiyet dağılımları ise 9 dişi (% 60) ve 6 erkek (% 40) olarak saptanmıştır. İshallerli grubu oluşturan buzağuların 0. günlerdeki saptanan ortalama yaşları 5,73 (2 – 12) gün (mean, min-max) olarak bulundu. Kontrol grubunu oluşturan buzağuların 0. gün ortalama yaşları ise $5,86 \pm 0,27$ (mean \pm SE) olarak tespit edildi. İshallerli ve kontrol grubu buzağuların 0. gün yaşları arasında herhangi bir istatistiksel fark tespit edilmedi ($P = 0,440$). *Escherichia coli* kaynaklı ishal vakalarının tamamının ele alındığı (n=17) 0. günlerdeki ortalama yaşlar $3,88 \pm 0,31$ gün olarak tespit edilirken, bu grup septik ve non-septik olarak kategorize edildiğinde 0. gün ortalama yaşlar sırası ile $3,81 \pm 0,46$ ve $4,00 \pm 0,36$ olarak tespit edildi. *Cryptosporidium parvum* nedenli ishal vakalarının 0. gün ortalama yaşları $8,77 \pm 1,02$, *C. parvum* + viral vakaların 0. gün ortalama yaşları 5,87 (4 – 7) ve viral vakaların 0. gün ortalama yaşları ise 5,89 (4 – 9) gün olarak bulundu.

Tablo 4. İshalli buzağuların (n=55) ve sağlıklı buzağuların (n=15) ishali ilk saptandığı an olan 0. gündeki ortalama yaşları, cinsiyetleri ve ishali buzağuların etiyolojik kategorizasyonu ve vakaların yüzdesel oranları.

Parametreler	Ortalamalar (mean ± SE/min-max ve %)
Toplam Kontrol Grubu	15
Toplam İshal Grubu	55
<i>E. coli</i>	17 (% 32)
Septisemik <i>E. coli</i>	11 (% 20)
Non-septisemik <i>E. coli</i>	6 (% 11)
<i>C. parvum</i>	11 (% 18)
<i>C. parvum</i> + viral	8 (% 14)
Viral	19 (% 36)
İshalli Grup Yaş (0. gün)	5,73 (2 – 12)
<i>E. coli</i>	3,88 ± 0,31 ^a
Septisemik <i>E. coli</i>	3,81 ± 0,46
Non-septisemik <i>E. coli</i>	4,00 ± 0,36
<i>C. parvum</i>	8,77 ± 1,02 ^a
<i>C. parvum</i> + viral	5,87 (4 – 7)
Viral	5,89 (4 – 9)
Kontrol Grubu Yaş (0. gün)	5,86 ± 0,27
İshalli Grup Cinsiyet	
Erkek	28 (% 51)
Dişi	27 (% 49)
Kontrol Grubu Cinsiyet	
Erkek	6 (% 40)
Dişi	9 (% 60)

a-a: P < 0,001

0. ve 7. günlerde ishaller ve kontrol grupları için Wisconsin-Madison buzağı sağlığı skorlandırma sistemine göre skorlandırılması yapılan dışkı (1-4), mental statü (1-3) ve emme refleksi skor (1-3 arası) sonuçları **Tablo 5**'de sunuldu. İshaller grubun 0. gün ve 7. gün dışkı skorlandırmaları sırası ile 3,38 (2 – 4) ve 1,61 (1 – 2) olarak tespit edilirken aralarında istatistiksel anlamlı farklar elde edildi ($P < 0,001$). Kontrol ve ishaller grup arasında 0.gün ($P < 0,001$) ve 7.gün ($P < 0,001$) ortalama dışkı skoru kıyaslamasında istatistiksel farklar elde edildi. Ayrıca dışkı skorlamalarının etiyojik etkenlere göre olan istatistiksel farkları da **Tablo 5**'de sunuldu. İshaller grubun 0. gün ve 7. gün mental statü skorlandırmaları sırası ile 1,82 (1 – 3) ve 1,04 (1 – 2) olarak tespit edilirken tekrarlı ölçümlerde aralarında istatistiksel anlamlı farklar elde edildi ($P < 0,001$). Kontrol ve ishaller grup arasında 0.gün ($P < 0,001$) ortalama mental statü skor kıyaslamasında istatistiksel fark elde edildi. Ayrıca mental statü skorlamalarının etiyojik etkenlere göre olan istatistiksel farkları da **Tablo 5**'de sunuldu. İshaller grubun 0. gün ve 7. gün emme refleksi skorlandırmaları sırası ile 1,70 (1 – 3) ve 2,97 (2 – 3) olarak tespit edilirken tekrarlı ölçümlerde aralarında istatistiksel anlamlı farklar elde edildi ($P < 0,001$). Kontrol ve ishaller grup arasında 0.gün ($P < 0,001$) ortalama emme refleksi skoru kıyaslamasında istatistiksel fark elde edildi. Ayrıca emme refleksi skorlamalarının etiyojik etkenlere göre olan istatistiksel farkları da **Tablo 5**'de sunuldu.

Materyali oluşturan buzağılardan 0. ve 7. günlerde alınan dışkı örneklerinden *C. parvum* ookit sayımları yapıldı. Bu bağlamda hızlı elisa kiti ile 0. günde yapılan etiyojik teşhiste yalnızca *C. parvum* ve *C. parvum* + *viral* gruba dahil edilen dışkılarda ookitlerin varlığı konfirme edildi. *C. parvum* grubu için 0. gün ve 7. gün dışkı ookit ölçümleri sırası ile $389 (120 - 1062) \times 10^6/\text{gr}$ ve $211,12 \pm 49,83 \times 10^6/\text{gr}$ olarak bulunurken iki ölçüm arasında istatistiksel bir fark bulunmadı ($P = 0,22$). *C. parvum* + *viral* grupta 0. ve 7. gün ookit sayıları sırası ile $546,25 \pm 160,27 \times 10^6/\text{gr}$ ve $227,50 \pm 22,07 \times 10^6/\text{gr}$ olarak bulundu ve bu ölçüm günleri arasında da istatistiksel bir fark saptanmadı ($P = 0,06$).

Materyali oluşturan ishaller ve kontrol gruplarındaki buzağuların 0.gün ve 7.gün vücut sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$), respirasyon (dk) ve kalp frekansı (dk) ortalamaları ve tekrarlı ölçümlerdeki istatistiksel farklar **Tablo 6**'da sunuldu. İshaller grubun ($n=55$) vücut sıcaklıklarının 0.gün ve 7.günlerde ortalama ölçüm değerleri sırası ile 39,33 (37,6 – 41,4)

ve 38,61 (37,8 – 39,7) olarak saptandı ve aralarında istatistiksel fark olduğu görüldü ($P < 0,001$). Kontrol grubu ile ishalleri vakaların 0. gün ($P < 0,001$) ortalama vücut sıcaklıkları arasında istatistiksel farklar tespit edildi. İshalleri grubun respirasyon sayılarının 0. gün ve 7. günlerde ortalama ölçüm değerleri sırası ile 47,82 (24 – 92) ve 42,52 (28 – 68) olarak saptandı ve bu tekrarlı ölçümler arasında istatistiksel fark olduğu görüldü ($P < 0,05$). İshalleri grubun kalp frekansı sayılarının 0. gün ve 7. günlerde ortalama ölçüm değerleri sırası ile 97 (60 – 160) ve 93 (80 – 120) olarak saptandı ancak bu tekrarlı ölçümler arasında istatistiksel fark tespit edilmedi. Kontrol grubu ile ishalleri vakaların 0.gün ($P < 0,05$) ve 7. gün ($P < 0,001$) ortalama kalp frekans sayıları arasında istatistiksel farklar tespit edildi. Ayrıca vücut sıcaklığı, respirasyon sayısı ve kalp frekansı sayısı değişimlerinin etiyolojik etkenlere göre olan istatistiksel farkları da **Tablo 6**'da sunuldu. Klinik muayeneler ve skorlandırmalar neticesinde septisemik *E. coli* grubuna dahil edilen 11 buzağının 8 adetinde dışkı *E. coli* identifikasyonu için yapılan mikrobiyolojik analizlere göre pozitiflik tespit edildi.

Tablo 5. Dışkı skoru, emme skoru ve mental statü skorlandırmalarının 0. ve 7. gün değerleri ve iki ölçüm günü arasındaki istatistiki farklar (*Wisconsin-Madison Buzağı Sağlığı Skorlandırma Sisteminden modifiye, Medrano-Galarzo ve ark., 2018*).

	Dışkı Skoru (1-4)		Mental Statü (1-3)		Emme Skoru (1-3)	
	0.gün	7.gün	0.gün	7.gün	0.gün	7.gün
Kontrol Grubu	1,53 ^x (1 – 2)	1,22 ^x (1 – 2)	1,00 ^x (1 – 1)	1,00 (1 – 1)	3,00 ^x (3 – 3)	3,00 (3 – 3)
İshalli Vakaların Tümü	3,38 ^{a,x} (2 – 4)	1,61 ^{a,x} (1 – 2)	1,82 ^{a,x} (1 – 3)	1,04 ^a (1 – 2)	1,70 ^{a,x} (1 – 3)	2,97 ^a (2 – 3)
<i>E. coli</i>	3,75 ^a (3 – 4)	1,75 ^a (1 – 2)	2,42 ^a (2 – 3)	1,15 ^a (1 – 2)	1,28 ^a (1 – 2)	3,00 ^a (3 – 3)
Septisemik <i>E. coli</i>	3,81 ^a (3 – 4)	1,72 ^a (1 – 2)	2,66 ^b (2 – 3)	1,22 ^b (1 – 2)	1,11 ^b (1 – 2)	3,00 ^b (3 – 3)
Non-septisemik <i>E. coli</i>	3,60 ^a (3 – 4)	1,80 ^a (1 – 2)	2,00 ^a (2 – 2)	1,00 ^a (1 – 1)	1,60 ^b (1 – 2)	3,00 ^b (3 – 3)
<i>C. parvum</i>	2,77 ^b (2 – 3)	1,00 ^b (1 – 1)	1,22 (1 – 2)	1,00 (1 – 1)	2,22 ^b (1 – 3)	3,00 ^b (3 – 3)
<i>C. parvum</i> + viral	3,25 ^b (3 – 4)	1,75 ^b (1 – 2)	1,75 ^b (1 – 2)	1,00 ^b (1 – 1)	2,00 ^c (1 – 3)	2,85 ^c (3 – 3)
Viral	3,42 ^a (3 – 4)	1,78 ^a (1 – 2)	1,68 ^a (1 – 3)	1,00 ^a (1 – 1)	1,63 ^a (1 – 3)	3,00 ^a (3 – 3)

0.gün ve 7. Gün arasındaki tekrarlı ölçümlerin istatistiki farkları a, b ve c olarak; ishali ve kontrol grup arasındaki istatistiki farklar ise x ve y olarak sunulmuştur. Herhangi bir harf içermeyen ölçümler arasında istatistiki fark bulunmamaktadır.

a-a: P < 0,001; b-b: P < 0,05; x-x: P < 0,001; y-y: P < 0,05

Tablo 6. İshalli ve sağlıklı buzağuların 0. ve 7. günlerde ölçülen T (°C), R (dk) ve P (dk) değerleri ve iki ölçüm günü arasındaki istatistiksel farklar. Referans aralıkları: T:39,0 – 40,2 °C, R: 30 – 60 /dk, P: 100 – 140 /dk (Smith, 2020).

	T (°C)		R (dk)		P (dk)	
	0.gün	7.gün	0.gün	7.gün	0.gün	7.gün
Kontrol Grubu	38,58 ± 0,15 ^x	38,62 ± 0,15	48,80 ± 2,5	48,53 ± 2,53	115,2 ± 5,19 ^y	122,4 ± 5,7 ^x
İshalli Vakaların Tümü	39,33 ^{a,x} (37,6 – 41,4)	38,61 ^a (37,8 – 39,7)	47,82 ^b (24 – 92)	42,52 ^b (28 – 68)	97,00 ^y (60 – 160)	93,00 ^x (80 – 120)
<i>E. coli</i>	40,21 ± 0,19 ^a	39,03 ± 0,13 ^a	48,85 (32 – 60)	45,53 ± 2,05	93,14 ± 4,35	102,61 (80 – 140)
Septisemik <i>E. coli</i>	40,58 ± 0,18 ^a	39,01 ± 0,16 ^a	50,22 ± 3,2	47,11 ± 2,73	99,11 ± 5,72	108,22 (80 – 140)
Non-septisemik <i>E. coli</i>	39,54 ± 0,20	39,10 ± 0,24	42,00 (40 – 48)	47,00 (40 – 60)	82,40 (80 – 92)	90,00 ± 10,00
<i>C. parvum</i>	39,05 ± 0,15	38,68 ± 0,20	46,22 ± 4,37	42,88 (28 – 68)	89,33 ± 5,41	98,88 ± 5,87
<i>C. parvum</i> + viral	38,68 ± 0,09	38,45 ± 0,16	53,50 ± 2,71	52,57 (40 – 60)	86,50 (60 – 120)	89,42 ± 4,33
Viral	38,92 ± 0,15 ^b	38,31 ^b (37,8 – 39,7)	46,31 ± 4,19	38,18 (28 – 48)	108,94 ^a (80 – 160)	91,05 ± 3,05 ^a

0.gün ve 7. gün arasındaki tekrarlı ölçümlerin istatistiksel farkları a ve b olarak; ishalleri ve kontrol grubu arasındaki istatistiksel farklar ise x ve y olarak sunulmuştur. Herhangi bir harf içermeyen ölçümler arasında istatistiksel fark bulunmamaktadır.

a-a: P < 0,001; b-b: P < 0,05; x-x: P < 0,001; y-y: P < 0,05

4.2. Serum GGT ve Total Lökosit Düzeyleri

Serum GGT aktivitelevlerinin ishalin ilk saptandığı gün olan 0. gün ve kontrol grubu için de 0. günlerde ölçülen ortalama değerleri **Tablo 7**'de sunuldu. İshalli grup (n=55) ve kontrol grubu (n=15) ortalama GGT değerleri sırası ile 427,50 (15,20 – 2500) U/L ve 565,34 (140,20 – 1850) olarak tespit edilirken iki ölçüm değeri arasında istatistiksel fark elde edildi (P < 0,05).

İshalli vakaların etiyolojilerine göre kategorize edildiği hesaplama modelinde *E. coli* vakalarının tamamının (n=17), septisemik *E. coli* (n=11) ve non-septisemik *E. coli* (n=6) vakalarının değerlendirildiği ölçümlerde, GGT aktiviteleri sırası ile 741,45 (50,00 – 2500) U/L, 871,20 (50,00 – 2500) U/L ve 456,02 (59,60 – 1710) U/L olarak bulundu. *C. parvum*, *C. parvum* + viral ve viral vakalarda elde edilen ortalama GGT aktiviteleri ise sırası ile 317,86 (70,10 – 1600) U/L, 128,88 ± 21,59 U/L ve 340,77 (59,10 – 1540) U/L olarak bulundu. İshalli vakaların etiyolojilerine göre kategorize edildiği modelde ise gruplar arasında herhangi bir istatistiksel fark elde edilmedi.

İshalli buzağıların ishalin tespit edildiği an olan 0. gündeki yaşlarının ≤ 3 günlük yaş, 3 – 5 günlük yaş ve 5 – 7 günlük yaş aralıkları olacak şekilde kategorize edildiği modelde ortalama GGT aktiviteleri sırası ile; 964,12 (50 – 2500) U/L, 433,51 (15,2 – 1710) U/L, 292,39 ± 64,89 ve 138,86 ± 18,91 U/L bulundu. Yaşlara göre kategorize edilen bu gruplar arasında istatistiksel farklar elde edilmedi. Kontrol grubunu oluşturan buzağıların 0. gündeki yaşlarının 3 – 5 günlük yaş ve 5 – 7 günlük yaş aralıkları olacak şekilde kategorize edildiği modelde ortalama GGT aktiviteleri sırası ile 682,74 ± 144,53 U/L ve 242,50 ± 37,05 U/L bulundu. Bu iki grup arasında da istatistiksel fark elde edilmedi.

Yapılan hematolojik analizler neticesinde *E. coli* grubunda tespit edilen WBC düzeyleri 0. ve 7. gün için sırası ile 15775 ± 1048 x10⁶/µl ve 10325 ± 984 x10⁶/µl olarak bulundu. *C. parvum* grubunda ise 0. ve 7. günde sırası ile 9950 ± 1118 x10⁶/µl ve 8025 ± 689 x10⁶/µl bulunurken viral grup için sırası ile 10750 ± 914 x10⁶/µl ve 7587 ± 1090 x10⁶/µl olarak tespit edildi. Her üç grupta da WBC düzeyleri 7.günde azalma eğilimi

göstermekte ve istatistiksel farklar sunmaktadır (P = 0,002, 0,008, 0,008). Ayrıca gruplar arası kıyaslamalarda istatistiksel farklar saptandı. Buna göre *E. coli* ve viral grup arasında (P = 0,002) ve *E. coli* ve *C. parvum* grubu (P < 0,001) arasında 0.gün WBC ölçümleri arasında istatistiki farklar bulundu.

Tablo 7. Kontrol grubu ve ishali grubun etiyolojik ve yaş ayrımına göre sunulan 0.gün serum GGT değerleri.

	GGT (U/L)		GGT (U/L)
Kontrol Grubu	565,34 ^a (140,20 – 1850)	Kontrol Grubu	565,34 ^a (140,20 – 1850)
İshali Grup	427,50 ^a (15,20 – 2500)	3-5 gün yaş	682,74 ± 144,53 ^c
<i>E. coli</i>	741,45 (50,00 – 2500)	5-7 gün yaş	242,50 ± 37,05 ^b
Septisemik <i>E. coli</i>	871,20 (50,00 – 2500)	İshali Grup	427,50 ^a (15,20 – 2500)
Non-septisemik <i>E. coli</i>	456,02 (59,60 – 1710)	0-3 gün yaş	964,12 (50 – 2500)
<i>C. parvum</i>	317,86 (70,10 – 1600)	3-5 gün yaş	433,51 ^c (15,2 – 1710)
<i>C. parvum</i> + viral	128,88 ± 21,59	5-7 gün yaş	292,39 ^b ± 64,89
Viral	340,77 (59,10 – 1540)	7+ yaş	138,86 ± 18,91

a-a: P < 0,05 b-b: P < 0,01 c-c: P < 0,05

4.3. Serum Amyloid A Düzeyleri

Serum amyloid A (SAA), serum calprotectin (SCalp) ve fekal calprotectin (FCalp) konsantrasyonlarının ortalama değerleri ve istatistiksel farkları **Tablo 8**'de sunuldu. SAA konsantrasyonlarının 0. günde ölçülen ortalama değerleri ishali grup (n=55) için 38,40 (8,28 - 83,96) ng/ml, kontrol grubu (n=15) için ise 0,54 (0,16 – 2,18) ng/ml olarak bulundu ve iki grup arasında istatistiksel fark tespit edildi (P < 0,001). Ayrıca iki grubun 7.günlerdeki ölçümleri arasında da istatistiksel fark tespit edildi (P < 0,001).

SAA konsantrasyonlarının ishali gruptaki (n=55) ölçülen 0. gün ve 7. günlerdeki ortalama değerleri sırası ile ng/ml ve 38,40 (8,28 – 83,96) ve 19,96 (3,45 - 47,23) ng/ml olarak bulundu ve iki ölçüm günleri arasında istatistiksel fark elde edildi (P = 0,003). SAA'nın etiyolojik ishal ajanlarının kategorize edildiği ortalama konsantrasyon değerleri ve istatistiksel önemleri ise **Tablo 9**'da sunuldu. *E.coli* kaynaklı ishali vakaların (n=17) değerlendirildiği istatistiksel modelde yapılan tekrarlı ölçüm analizlerinde 0. gün ve 7. gün SAA konsantrasyonları sırası ile 37,97 (11,13-83,96) ng/ml ve 54,27 ± 11,76 ng/ml olarak bulundu. Sayısal olarak 0. gün ve 7. gün arasında artış olduğu görüldü ancak istatistiksel bir fark bulunmadı (P = 0,266). Ayrıca *E. coli* vakaları septisemik (n=11) ve non-septisemik (n=6) olarak kategorize edildiğinde 0. ve 7. Gün ölçümleri arasında herhangi bir istatistiksel fark elde edilmedi. *C. parvum* (n=11) ishallerinin değerlendirildiği analizlerde 0. gün ve 7. gün SAA konsantrasyonlarının sırası ile 33,03 ± 9,82 ng/ml ve 24,81 (11,57 - 46,51) ng/ml olduğu saptandı. Sayısal olarak 7. günde 0. güne kıyasla azalma tespit edildiği görüldü ancak istatistiksel bir fark bulunmadı (P = 0,419). *C. parvum* ve viral etiyolojilerin birlikte seyrettiği mix vakaların (n=8) değerlendirildiği analizlerde 0. gün ve 7. gün SAA konsantrasyonları sırası ile 26,44 ± 9,51 ng/ml ve 18,61 (4,22 - 47,23) ng/ml olarak bulundu. Sayısal olarak 7. günde 0. güne kıyasla azalma tespit edildiği görüldü ancak istatistiksel bir fark bulunmadı (P = 0,492). Viral vakaların (n=19) değerlendirildiği analizlerde 0. gün ve 7. gün SAA konsantrasyonları sırası ile 32,53 ng/ml (13,79-83,96) ve 16,33 (12,05-23,53) ng/ml olarak bulundu. Sayısal olarak 7. günde 0. güne kıyasla azalma tespit edildiği görüldü ancak istatistiksel bir fark bulunmadı (P = 0,118). SAA'nın 0. gün ve 7. gün etiyolojik gruplar arası kıyaslamalarında *E. coli* (n=17),

C. parvum (n=11), *C. parvum* + mix (n=8) ve viral (n=19) etiyolojileri arasında tek yönlü varyans analizleri sonucunda herhangi bir istatistiksel fark elde edilmedi (P = 0,365).

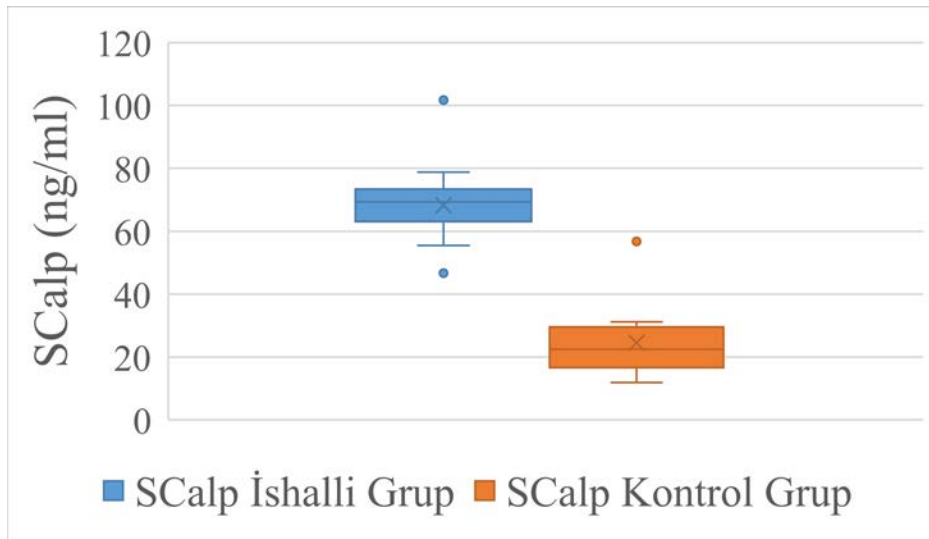
SAA konsantrasyonlarının kontrol grubunda (n=15) ölçülen 0. gün ve 7. günlerdeki ortalama değerleri sırası ile 0,54 (0,16 – 2,18) ng/ml ve 0,60 (0,15 – 3,29) ng/ml olarak bulundu ve iki ölçüm günleri arasında istatistiksel fark elde edilmedi (P = 0,647).

SAA'nın 0.gün ROC analizleri neticesinde elde edilen cut-off değeri >2,185 ng/ml (Sensitivite: % 100, spesifisite: % 100, AUC: 1,00, 95% CI: 0,93 – 1,00, P < 0,0001) olarak bulundu (**Tablo 10**). Ayrıca SAA ve FCalp ve SCalp arasında yapılan Spearman korelasyon testleri neticesinde herhangi bir ilişki saptanmadı.

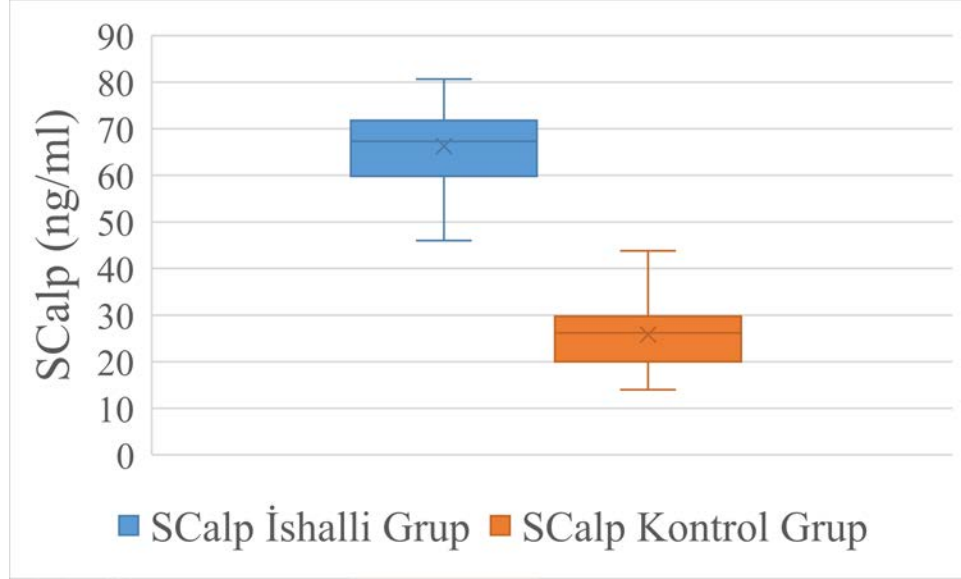
4.4. Serum Calprotectin Düzeyleri

SCalp konsantrasyonlarının 0. günde ölçülen ortalama değerleri ishali grup (n=55) için 68,02 (46,66 – 101,67) ng/ml, kontrol grubu (n=15) için ise 24,05 (11,92 – 56,78) ng/ml olarak bulundu ve iki grup arasında istatistiksel fark tespit edildi (P < 0,001). Ayrıca iki grubun 7. günlerdeki ölçümleri arasında da istatistiksel fark tespit edildi (P < 0,001). Her iki ölçümün ortalama konsantrasyon kıyaslamaları ayrıca boxplot grafiği olarak sunuldu (**Grafik 1-2**).

Grafik 1 – İshali ve kontrol grubunda 0.günde ölçülen ortalama SCalp düzeyleri.

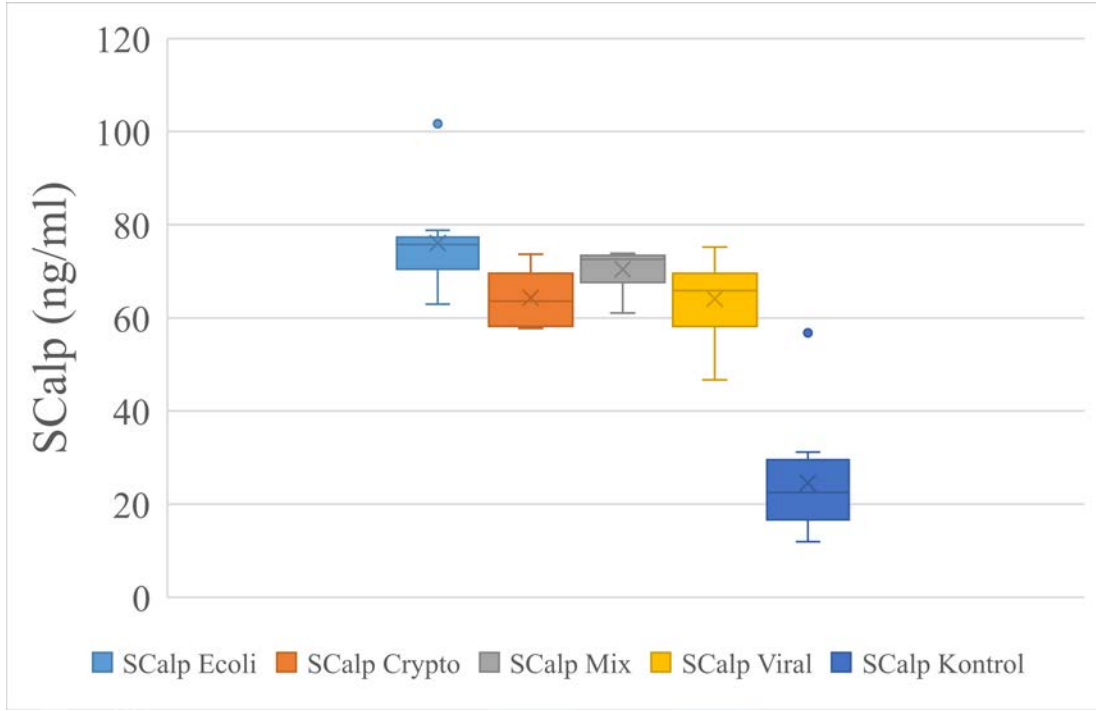


Grafik 2 – İshalli ve kontrol grubunda 7.günde ölçülen ortalama SCalp düzeyleri.

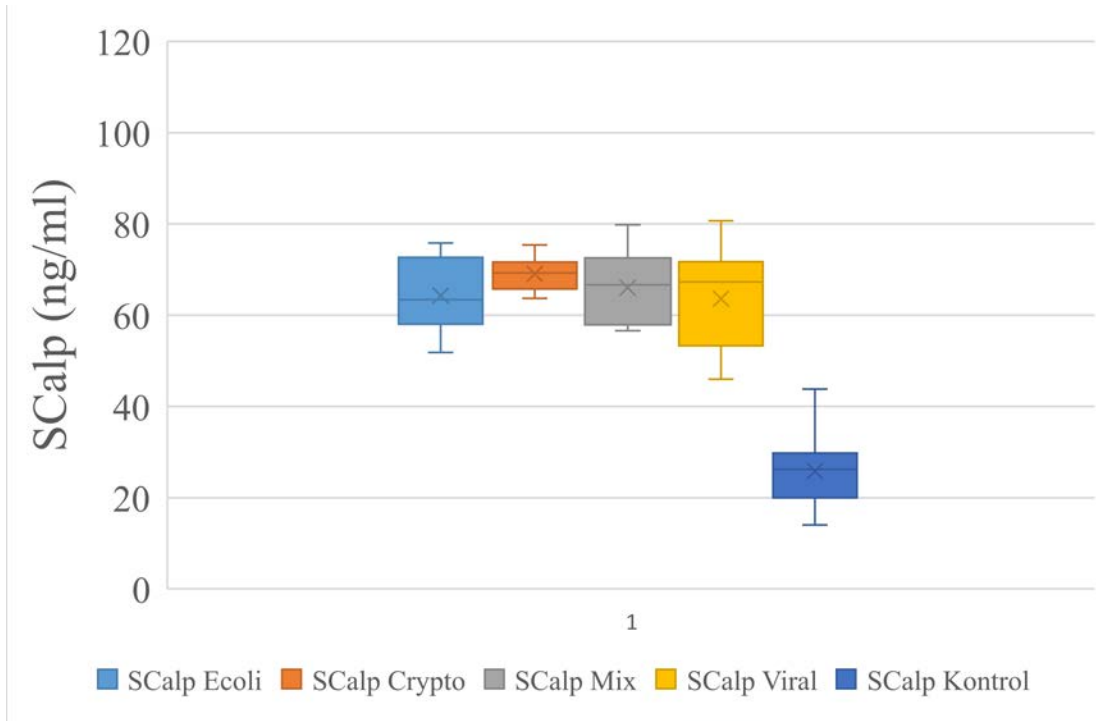


Serum calprotectin (SCalp) konsantrasyonlarının ishallerdeki (n=55) ölçülen 0. gün ve 7. günlerdeki ortalama değerleri sırası ile 68,02 (46,66 - 101,67) ng/ml ve $65,25 \pm 1,35$ ng/ml olarak bulundu ve iki ölçüm günü arasında sayısal olarak bir azalma görülmesine rağmen istatistiksel fark saptanmadı ($P = 0,396$) (**Tablo 8**). SCalp'ın etiyolojik ishal ajanlarının kategorize edildiği ortalama konsantrasyon değerleri ve istatistiksel önemleri ise **Tablo 9**'da sunuldu. *E.coli* kaynaklı ishallerdeki vakaların (n=17) değerlendirildiği istatistiksel modelde yapılan tekrarlı ölçüm analizlerinde 0. gün ve 7. gün SCalp konsantrasyonları sırası ile $76,05 \pm 2,91$ ng/ml ve $64,25 \pm 2,96$ ng/ml olarak bulundu. Sayısal olarak 7. günde 0. güne kıyasla anlamlı azalma olduğu görüldü ve istatistiksel fark elde edildi ($P = 0,016$). *E.coli* kaynaklı ishallerdeki vakaların septisemik (n=11) ve non-septisemik (n=6) olarak kategorize edildiği istatistiksel modelde 0. gün ve 7.gün ölçümleri arasında ölçülen değerler arasında önemli istatistiksel farklar bulundu ($P = 0,015, 0,007$). Ayrıca her iki ölçüm gününün etiyolojik ajanlara göre kategorize edilmiş ortalama konsantrasyon kıyaslamaları boxplot grafiği olarak sunuldu (**Grafik 3-4**).

Grafik 3 – Etiyolojik grupların 0.günde ölçülen ortalama SCalp düzeyleri



Grafik 4 – Etiyolojik grupların 7.günde ölçülen ortalama SCalp düzeyleri



C. parvum (n=11) ishallerinin değerlendirildiği analizlerde 0. gün ve 7. gün SCalp konsantrasyonlarının sırası ile $64,31 \pm 1,94$ ng/ml ve $69,06 \pm 1,39$ ng/ml olduğu saptandı. Sayısal olarak 7. günde 0. güne kıyasla artış tespit edildiği görüldü ancak istatistiksel bir fark bulunmadı (P = 0,051). *C. parvum* ve viral vakaların (n=8) birlikte değerlendirildiği analizlerde 0. gün ve 7. gün SCalp konsantrasyonlarının sırası ile $70,42$ (61,04 - 73,85) ng/ml ve $66,03 \pm 3,10$ ng/ml olduğu saptandı. Sayısal olarak 7. günde 0. güne kıyasla azalma tespit edildiği görüldü ancak istatistiksel bir fark bulunmadı (P = 0,384). Viral vakaların (n=19) değerlendirildiği analizlerde 0. gün ve 7. gün SCalp konsantrasyonlarının sırası ile $64,13 \pm 1,64$ ng/ml ve $63,60 \pm 2,61$ ng/ml olduğu saptandı. Sayısal olarak 7. günde 0. güne kıyasla azalma tespit edildi ancak istatistiksel bir fark bulunmadı (P = 0,615).

SCalp konsantrasyonlarının kontrol grubunda (n=15) ölçülen 0. gün ve 7. günlerdeki ortalama değerleri sırası ile $24,05$ (11,92 – 56,78) ng/ml ve $25,83 \pm 2,07$ ng/ml olarak bulundu ve iki ölçüm günleri arasında istatistiksel fark elde edilmedi (P = 0,118).

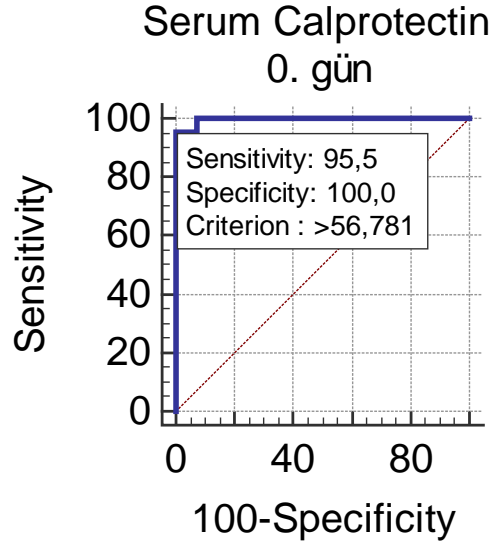
SCalp'ın 0.günde sağlıklı ve ishallerli hayvanları ayırt edebilme gücünü ortaya koymak için ROC analizleri neticesinde elde edilen cut-off değeri $>56,781$ ng/ml (Sensitivite: %95,45, spesifisite: %100, AUC: 0,99, 95% CI: 0,93 – 1,00, P = < 0,0001) olarak bulundu (**Tablo 11**). Elde edilen sonuçlara göre oluşturulan ROC eğrisi ve nokta dağılım grafikleri ise **Grafik 5** ve **Grafik 6**'da sunuldu.

SCalp konsantrasyonlarının 0. gün ve 7. gün ölçümlerinin etiyolojik ayrımları özelinde yapılan tek yönlü varyans analizlerinde yalnızca 0. günde istatistiksel fark elde edildi (P = 0,041). Elde edilen sonuçlara göre oluşan P değerleri, ortalama farklar ve standart hatalar **Tablo 10**'da sunuldu. 0. gün için gruplar arası ikili post-hoc kıyaslamalarda *E. coli* (n=17) ve *C. parvum* (n=11) grupları arasında istatistiksel fark elde edildi (P = 0,002). *E. coli* (n=17) ve viral (n=19) grup arasında da istatistiksel fark elde edildi (P = <0,001). *E. coli* (n=17) ve *C. parvum* + Viral (n=8) grupları arasında istatistiksel fark elde edildi (P = 0,043). *C. parvum* (n=11) ve *C. parvum* + Viral (n=8) grupları arasında istatistiksel fark elde edildi (P = 0,030). Viral (n=19) grup ve *C. parvum* + Viral (n=8) grup arasında istatistiksel fark elde edildi (P = 0,031). Viral (n=19) grup ve *C. parvum* (n=11)

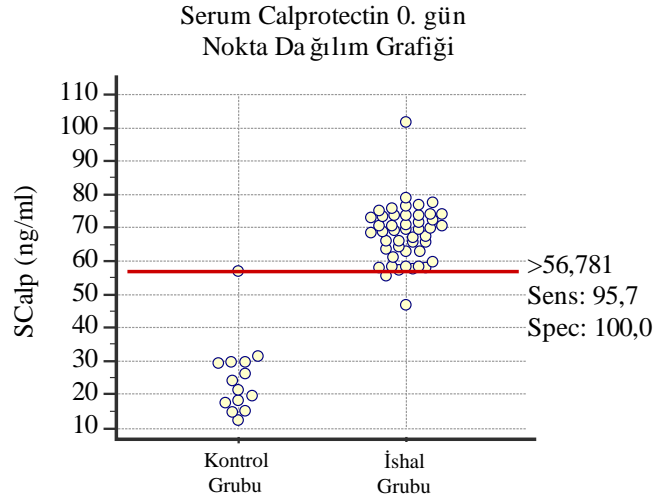
grupları arasında ise istatistiki fark test edilmedi ($P = 0,947$). Ayrıca SCalp'ın 7. gün etiyolojik gruplar arası kıyaslamasında uygulanan tek yönlü varyans analizi sonucunda ise herhangi bir istatistiki fark elde edilmedi ve post-hoc testleri uygulanmadı ($P = 0,540$).

Ayrıca SCalp'ın 0.günde bakteriyel ve viral kökenli ishale sahip hayvanları ayırt edebilme gücünü ortaya koymak için ROC analizleri yapıldı. Elde edilen cut-off değeri $\leq 70,969$ ng/ml (Sens: %94, Spec: 62,5, AUC: 0,842, $P=0,002$) olarak bulundu (**Tablo 11**).

Grafik 5 – Serum calprotectin 0.gün ishali ve kontrol grubunu kapsayan ROC analiz grafiği.



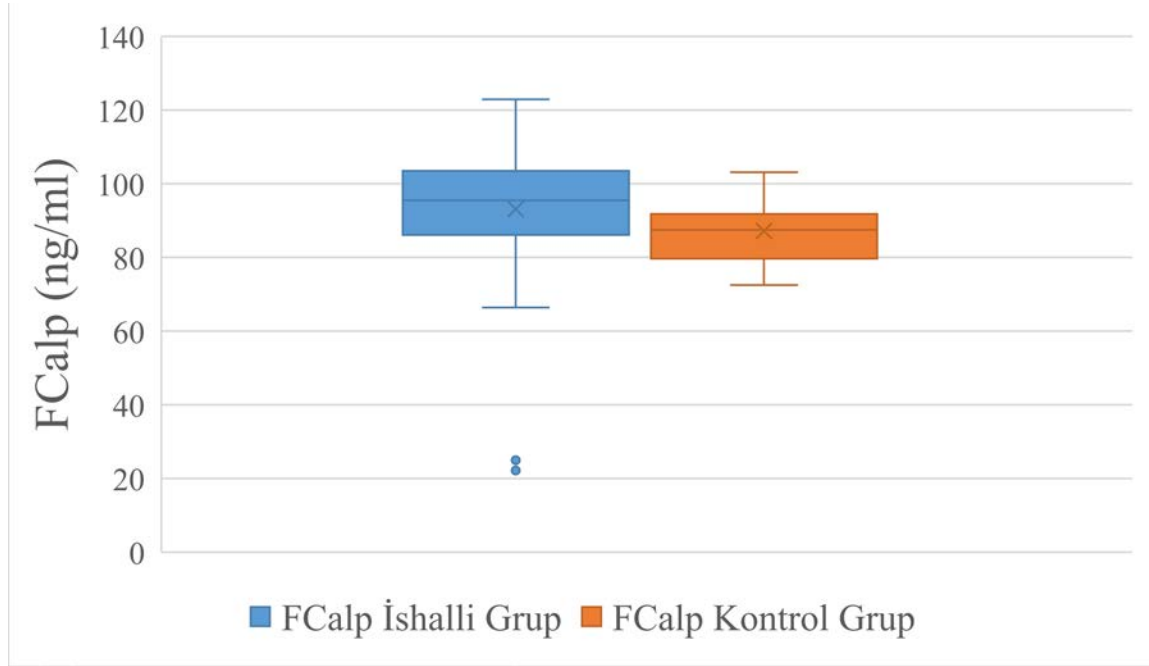
Grafik 6 – Serum calprotectin 0.gün ishali ve kontrol grubunu kapsayan nokta dağılım grafiği.



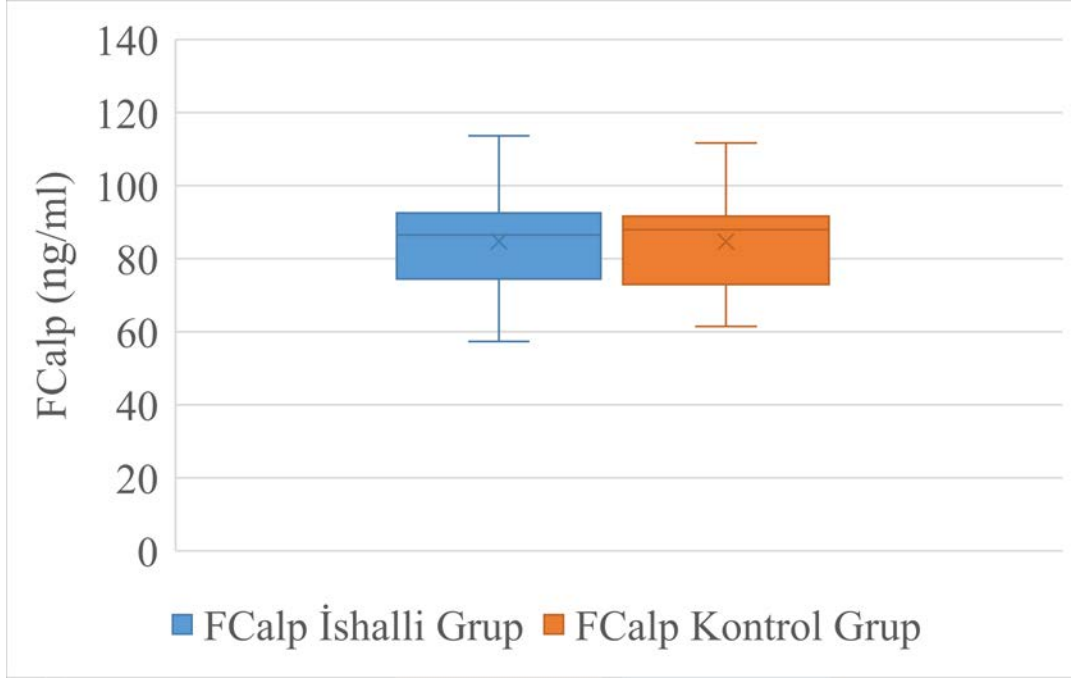
4.5. Fekal Calprotectin Düzeyleri

FCalp konsantrasyonlarının 0. günde ölçülen ortalama değerleri ishali grup (n=55) için 93,08 (22,17 – 122,88) ng/ml, kontrol grubu (n=15) için ise $87,01 \pm 3,33$ ng/ml olarak bulundu ve aralarında istatistiki fark elde edildi ($P = 0,04$). Ayrıca iki grubun 7. günlerdeki ölçümleri ishali grup ve kontrol grubu için sırası ile $84,74 \pm 1,96$ ng/ml ve $84,47 \pm 3,25$ ng/ml olarak bulundu ve herhangi bir istatistiki fark tespit edilmedi ($P = 0,501$) (**Tablo 8**). FCalp konsantrasyonlarının ishali gruptaki (n=55) ölçülen 0. gün ve 7. günlerdeki ortalama değerleri sırası ile 93,08 (22,17 – 122,88) ng/ml ve $84,74 \pm 1,96$ ng/ml olarak bulundu ve iki ölçüm günü arasında istatistiki fark elde edildi ($P = 0,004$). Her iki ölçüm gününde elde edilen ortalama konsantrasyon kıyaslamaları boxplot grafiği olarak sunuldu (**Grafik 7-8**). Ayrıca 0.günde ishali grupta yapılan spearman korelasyon analizi sonucunda FCalp ile yaş arasında negatif korelasyon saptandı ($r = -0,381$, $P = 0,007$).

Grafik 7 – İshali ve kontrol grubunda 0.günde ölçülen ortalama FCalp düzeyleri.

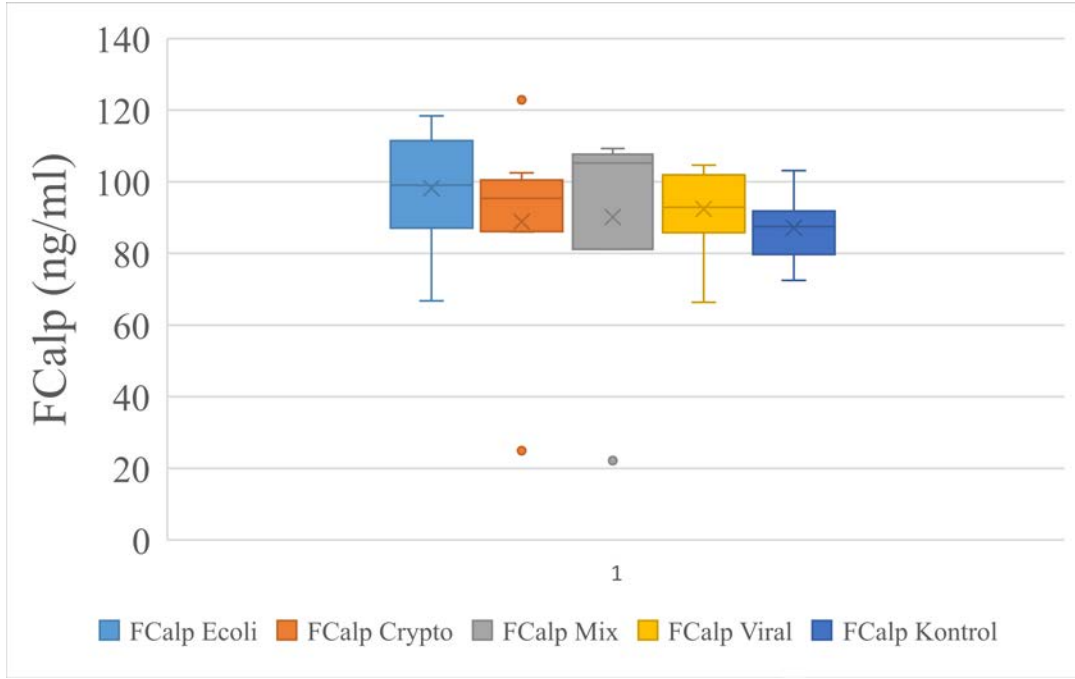


Grafik 8 – İshalli ve kontrol grubunda 7.günde ölçülen ortalama FCalp düzeyleri.

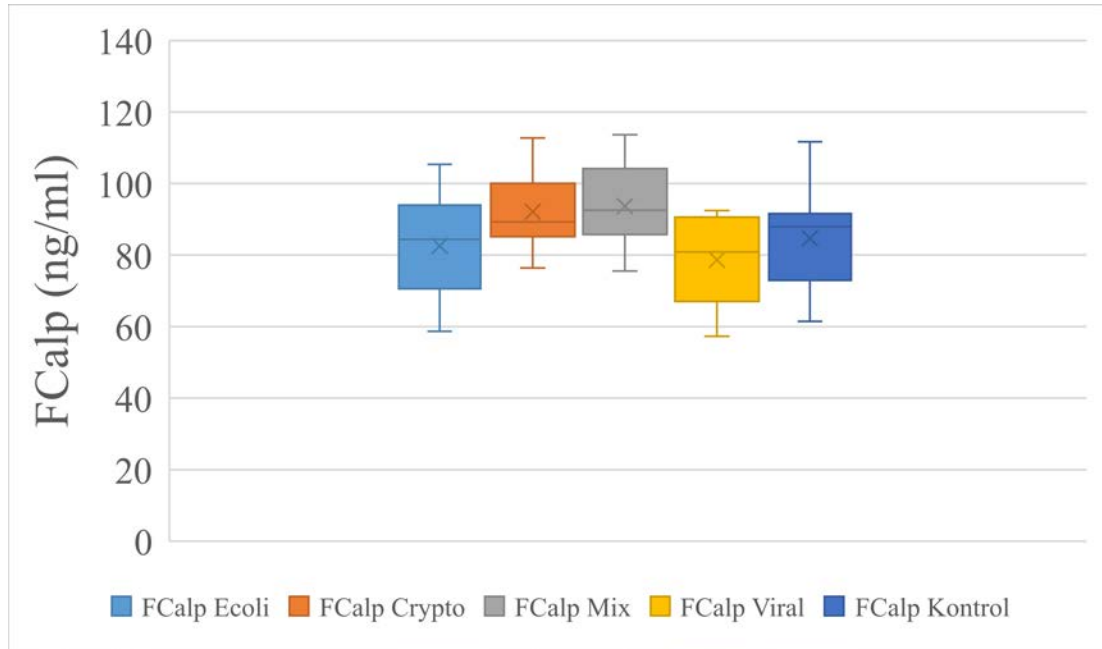


FCalp'ın etiyolojik ishal ajanlarına göre kategorize edildiği ortalama konsantrasyon değerleri ve istatistiki önemleri **Tablo 9**'da sunuldu. *E.coli* kaynaklı ishallerin (n=17) değerlendirildiği istatistiksel modelde yapılan tekrarlı ölçüm analizlerinde 0. gün ve 7. gün FCalp konsantrasyonları sırası ile $98,23 \pm 4,04$ ng/ml ve $82,56 \pm 3,59$ ng/ml olarak bulundu ve aralarında güçlü istatistiki fark elde edildi ($P = 0,003$). Ayrıca *E. coli* kaynaklı ishallerin septisemik ve non-septisemik olarak kategorize edildiği istatistiki modelde yalnızca septisemik vakalarda 0. gün ve 7. gün FCalp ölçümleri arasında istatistiki fark elde edildi ($P = 0,003, 0,003$). Diğer etiyolojik kategorizasyonlarda 0. gün ve 7. günlerdeki FCalp konsantrasyonları arasında yalnızca viral (n=19) grupta istatistiki fark tespit edildi ($P = 0,03$) (**Tablo 9**). FCalp konsantrasyonlarının kontrol grubunda (n=15) ölçülen 0. gün ve 7. günlerdeki ortalama değerleri sırası ile $87,01 \pm 3,33$ ng/ml ve $84,47 \pm 3,25$ ng/ml olarak bulundu ve iki ölçüm günleri arasında istatistiki fark elde edilmedi ($P = 0,501$). Ayrıca her iki ölçüm günün etiyolojik ajanlara göre kategorize edilmiş ortalama konsantrasyon kıyaslamaları boxplot grafiği olarak sunuldu (**Grafik 9-10**).

Grafik 9 – Etiyolojik grupların 0.günde ölçülen ortalama FCaIp düzeyleri

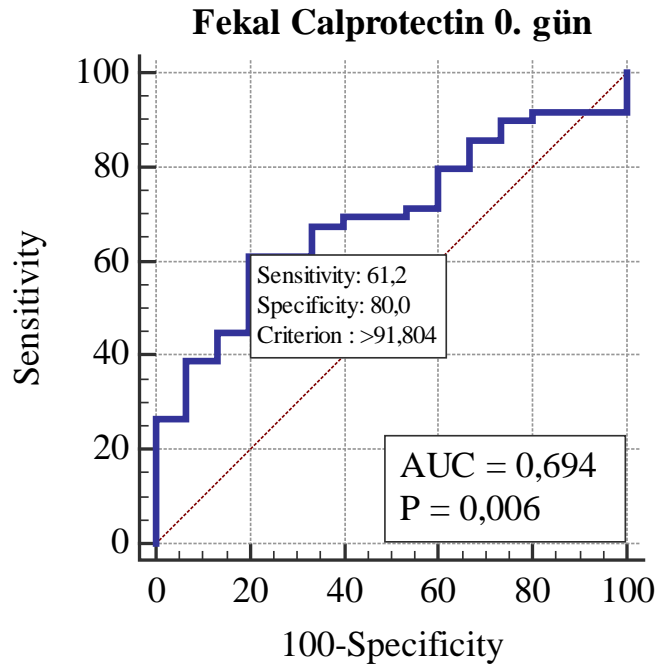


Grafik 10 – Etiyolojik grupların 7.günde ölçülen ortalama FCaIp düzeyleri

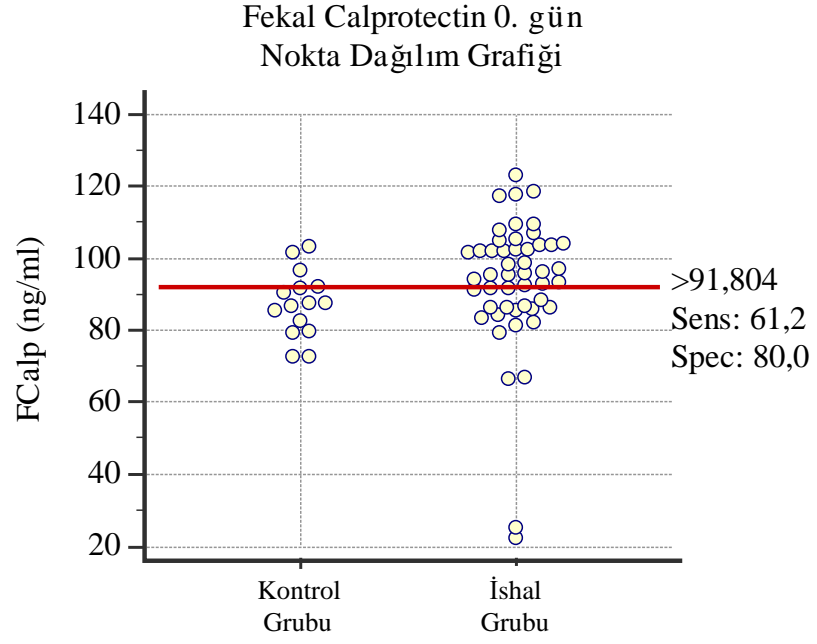


FCalp'ın ishali ve sağlıklı hayvanları ayırt edebilme gücünün test edilmesi amacıyla yapılan 0.gün ROC analizleri neticesinde elde edilen cut-off değeri >91,804 ng/ml (Sensitivite: %61,22, spesifisite: %80, AUC: 0,694, 95% CI: 0,56 – 0,80, P = 0,0057) olarak bulundu. FCalp 0.gün ROC eğrisi ve nokta dağılım grafikleri **Grafik 11** ve **Grafik 12**'de sunuldu. Elde edilen cut-off değerleri ışığında yapılan backward lojistik regresyon analizleri neticesinde FCalp'ın 0.günde ishali hayvanları tespit etme gücünün 6,316 kat (Odds Ratio = 6,316, P = 0,009) daha fazla olduğu tespit edildi. FCalp ve diğer laboratuvar ve klinik parametreler arasında yapılan korelasyon testleri neticesinde yalnızca FCalp 0.gün ishali grubun ortalama konsantrasyonları ve 0.gündeki ishali hayvanların ortalama yaşları arasında negatif korelasyon saptandı ($r = -0,381$, P = 0,007). Ayrıca FCalp'ın 0.günde bakteriyel ve viral etiyolojik ayrımı için yapılan ROC analizleri neticesinde cut-off değeri $\leq 70,969$ ng/ml (Sensitivite: %94,7, spesifisite: %62,5, AUC: 0,842, 95% CI: 0,65 – 0,95, P = 0,0002) olarak bulundu (**Tablo 11**).

Grafik 11 – Fekal calprotectin 0.gün ishali ve kontrol grubunu kapsayan ROC analiz grafiği.



Grafik 12 – Fekal calprotectin 0.gün ishalleri ve kontrol grubunu kapsayan nokta dağılım grafiği.



Tablo 8 – Kontrol grubu ve ishali grup arasında 0. ve 7.günlerde ölçülen ortalama Serum amyloid A (SAA), serum calprotectin (SCalp) ve fekal calprotectin (FCalp) düzeyleri ve istatistiksel farklar.

Günler	SAA (ng/ml) Kontrol Grup (n=15)	SAA (ng/ml) İshali Grup (n=55)
0.gün	0,54 ^a (0,16 – 2,18)	38,40 ^b (8,28 - 83,96)
7.gün	0,60 ^a (0,15 – 3,29)	19,96 ^b (3,45 - 47,23)
P değeri	0,647	0,003*
Günler	SCalp (ng/ml) Kontrol Grup (n=15)	SCalp (ng/ml) İshali Grup (n=55)
0.gün	24,05 ^a (11,92 – 56,78)	68,02 ^b (46,66 - 101,67)
7.gün	25,83 ± 2,07 ^a	65,25 ± 1,35 ^b
P değeri	0,118	0,396
Günler	FCalp (ng/ml) Kontrol Grup (n=15)	FCalp (ng/ml) İshali Grup (n=55)
0.gün	87,01 ± 3,33 ^c	93,08 ^d (22,17 – 122,88)
7.gün	84,47 ± 3,25	84,74 ± 1,96
P değeri	0,501	0,004*

Tablodaki P değeri 0. ve 7.günler arasında grup içi tekrarlı ölçümleri, üstel harfler ise kontrol ve çalışma grubu arasındaki gruplar arası istatistiksel farkı ifade etmektedir: a-b: P < 0,001, c-d: P = 0,04

Tablo 9– Serum amyloid A (SAA), serum calprotectin (SCalp) ve fekal calprotectin (FCalp) düzeylerinin 0. ve 7.günlerde saptanan ortalama değerlerinin ishal etiyojilerine göre kategorize edilmiş hali.

SAA (ng/ml)	SAA Kontrol Grup (n=15)	SAA Toplam <i>E.coli</i> (n=17)	SAA Septisemik <i>E.coli</i> (n=11)	SAA Non- Septisemik <i>E.coli</i> (n=6)	SAA <i>C.parvum</i> (n=11)	SAA <i>C.parvum</i> + Viral (n=8)	SAA Viral (n=19)
0.gün	0,54 ^a (0,16 – 2,18)	37,97 ^b (11,13-83,96)	53,13 ± 9,82	38,23 (16,24 – 83,96)	33,03 ± 9,82 ^b	26,44 ± 9,51 ^b	32,53 ^b (13,79 - 83,96)
7.gün	0,60 ^a (0,15 – 3,29)	54,27 ± 11,76 ^b	59,29 (11,13 – 83,96)	41,94 (13,96 – 83,96)	24,81 ^b (11,57 - 46,51)	18,61 ^b (4,22 - 47,23)	16,33 ^b (12,05 - 23,53)
P değeri	0,647	0,266	0,672	0,727	0,419	0,492	0,118
SCalp (ng/ml)	SCalp Kontrol Grup (n=15)	SCalp Toplam <i>E.coli</i> (n=17)	SCalp Septisemik <i>E.coli</i> (n=11)	SCalp Non- Septisemik <i>E.coli</i> (n=6)	SCalp <i>C.parvum</i> (n=11)	SCalp <i>C.parvum</i> + Viral (n=8)	SCalp Viral (n=19)
0.gün	24,05 ^a (11,92 – 56,78)	76,05 ± 2,91 ^b	75,944 ^b (62,93 – 101,67)	60,26 6,23 ^b	64,31 ± 1,94 ^b	70,42 ^b (61,04 - 73,85)	64,13 ± 1,64 ^b
7.gün	25,83 ± 2,07 ^a	64,25 ± 2,96 ^b	63,67 ± 3,12 ^b	36,92 ^b (26,50 – 60,47)	69,06 ± 1,39 ^b	66,03 ± 3,10 ^b	63,60 ± 2,61 ^b
P değeri	0,118	0,016*	0,015*	0,007*	0,051	0,384	0,615
FCalp (ng/ml)	FCalp Kontrol Grup (n=15)	FCalp Toplam <i>E.coli</i> (n=17)	FCalp Septisemik <i>E.coli</i> (n=11)	FCalp Non- Septisemik <i>E.coli</i> (n=6)	FCalp <i>C.parvum</i> (n=11)	FCalp <i>C.parvum</i> + Viral (n=8)	FCalp Viral (n=19)
0.gün	87,01 ± 3,33 ^c	98,23 ± 4,04 ^e	107,54 ± 3,44	85,45 ± 3,62	88,85 (24,97 – 122,88)	90,11 (22,17 – 109,33)	92,38 2,23
7.gün	84,47 ± 3,25	82,56 ± 3,59	91,52 ± 2,18	73,60 ± 5,27	92,12 ± 3,57	93,68 ± 4,35	78,67 (57,31 – 92,45)
P değeri	0,501	0,003*	0,003*	0,116	0,706	0,859	0,03*

Tablodaki P değeri 0. ve 7.günler arasında grup içi tekrarlı ölçümleri, üstel harfler ise kontrol ve çalışma grubu arasındaki gruplar arası istatistikî farkı ifade etmektedir: a-b: P < 0,001, c-d: P = 0,04, c-e: P = 0,01

Tablo 10– Serum calprotectin (SCalp) ve fekal calprotectin (FCalp) konsantrasyonlarının 0. ve 7.gün ölçümlerinin etiyolojik gruplar arasında yapılan post-hoc testleri. Ortalama farklar, standart hatalar ve P değerleri sunulmuştur.

SCalp 0. gün Değerlerinin Gruplar Arası Kıyaslaması (Post-Hoc)		Ortalama Fark	Standart Hata (SE)	P
	C. parvum 0. gün (n=11)	20,182	3,275	0,002*
E. coli 0. gün (n=17)	C. parvum + Viral 0. gün (n=8)	7,807	1,225	0,043*
	Viral 0. gün (n=19)	19,761	3,804	< 0,001*
C. parvum 0. gün (n=11)	C. parvum + Viral 0.gün (n=8)	12,375	1,857	0,030*
	C. parvum + Viral 0.gün (n=8)	11,954	2,069	0,031*
Viral 0. gün (n=19)	C. parvum 0. gün (n=11)	0,421	0,0759	0,947
FCalp 0. gün Değerlerinin Gruplar Arası Kıyaslaması (Post-Hoc)		Ortalama Fark	Standart Hata (SE)	P
	C. parvum 0. gün (n=11)	16,319	2,259	0,04*
E. coli 0. gün (n=17)	C. parvum + Viral 0. gün (n=8)	9,875	1,283	0,281
	Viral 0. gün (n=19)	17,717	3,464	0,001
C. parvum 0. gün (n=11)	C. parvum + Viral 0. gün (n=8)	6,444	0,860	0,459
	C. parvum 0. gün (n=11)	1,398	0,232	0,03
Viral 0. gün (n=19)	C. parvum + Viral 0. gün (n=8)	7,842	1,193	0,165
FCalp 7. gün Değerlerinin Gruplar Arası Kıyaslaması (Post-Hoc)		Ortalama Fark	Standart Hata (SE)	P
	C. parvum 7. gün (n=11)	9,565	1,786	0,096
E. coli 7. gün (n=17)	C. parvum + Viral 7. gün (n=8)	11,121	1,998	0,075
	Viral 7. gün (n=19)	3,885	0,868	0,414
C. parvum 7. gün (n=11)	C. parvum + Viral 7. gün (n=8)	0,155	0,249	0,785
	C. parvum 7. gün (n=11)	13,451	2,539	0,012*
Viral 7. gün (n=19)	C. parvum + Viral 7. gün (n=8)	15,006	2,723	0,01*

Tablo 11: Serum Amyloid A (SAA), serum calprotectin (SCalp) ve fekal calprotectin (FCalp) düzeyleri için ishalleri grup ve kontrol grubunun 0. günlerinde yapılan ROC analizleri ile elde edilen cut-off, sensitivite, spesifisite, Youden's J index, AUC, standart hata, 95% CI ve P değerleri. Tabloda ayrıca SCalp ve FCalp için 0.günlerde *E. coli* / viral ayrımını ortaya koyan ROC değerleri de sunulmaktadır.

ROC Kıyaslamaları	Cut-off değeri (ng/ml)	Sensitivite (%)	Spesifisite (%)	Youden's J	AUC	SE	95% CI	P
SAA İshalleri / Kontrol	>2,185	100	100	1,00	1,00	0,00	0,93 – 1,00	<0,0001
SCalp İshalleri / Kontrol	>56,781	95,45	100	0,9545	0,997	0,0039	0,93 – 1,00	<0,0001
SCalp <i>E. coli</i> / Viral	≤70,969	94,7	62,5	0,5724	0,842	0,0905	0,65 – 0,95	0,0002
FCalp İshalleri / Kontrol	>91,804	61,22	80,00	0,4122	0,694	0,0702	0,56 – 0,80	0,0057
FCalp <i>E. coli</i> / Viral	≤93,26	57,9	100	0,578	0,848	0,0650	0,66 – 0,95	<0,0001

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Buzağı ölümleri ölkemiz ve dünya hayvancılığı için çok önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Günümüzde buzağı ölümlerinin nedenleri arasında olan neonatal buzağı ishallerinin, yapılan retrospektif çalışmalara göre erken dönem buzağı kayıplarının yaklaşık %30 ile 75 arasında değişen oranlarda sorumlu olduğu bildirilmektedir (Donovan et al., 1998; Svensson et al., 2003; Cho & Yoon, 2014). Buzağı ishallerinin etiyolojik nedenleri; enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz olarak iki kategoride incelenmektedir. Başlıca enfektif buzağı ishal etkenleri arasında; *Escherichia coli*, rotavirus, coronavirus, *Cryptosporidium parvum*, bovine viral diarrhea virüsü (BVDV), *Clostridium perfringens* suşları, *Salmonella* spp., *Giradia* spp. ve *Eimeria* spp. türleri yer almaktadır (Foster & Smith, 2009; Muktar et al., 2015). Bahsedilen etiyolojiler tek başlarına ishale neden olmakla birlikte ishallerde birden fazla etken teşhisi de sıklıkla yapılabilmektedir. Cho & Yoon (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, ishallerde buzağıların %80'inde en az bir enfektif etkenin sorumlu olduğu ve iki veya daha fazla etkenin tespit edildiği mix enfeksiyon oranının ise %50'yi aşabildiği bildirilmektedir. Etiyolojik çalışmalarda mix enfeksiyonların oransal olarak çok çeşitlilik gösterdiği çeşitli çalışmalarda görölmektedir. *C. parvum* kaynaklı ishallerin incelendiği bir çalışmada 218 buzağının %87'sinin *C.parvum* + viral vakalardan olduğu (De La Fuente et al., 1999), yine 1 aydan ufak yaştaki 203 ishallerde yapılan bir çalışmada vakaların %17'sinin *C.parvum* + viral mix enfeksiyon olduğu rapor edilmiştir (Langoni et al., 2004). Sunulan çalışmada toplam 55 adet ishallerin oransal dağılımları *E. coli* grubu için % 32, *C. parvum* grubu için % 18, *C. parvum* + viral grubu için % 14 ve viral grup için ise %36 olarak gerçeleştirildi (**Tablo 4**). Buzağılarda ishale sebebiyet veren enfeksiyöz ajanların oluşturduğu klinik semptomlar her ne kadar benzerlik gösterse de bağırsakta oluşturdukları farklı inflamatuvar mekanizmalar neticesinde klinik belirtilerin şiddeti, hastalığın prognozu ve mortalite oranları değişkenlik gösterebilmektedir (Akyüz ve

diğerleri, 2017). Sunulan çalışmada, özellikle *E. coli* pozitif vakaların oluşturduğu grupta 0. günde ortalama dışkı skoru, emme refleksi skoru, vücut sıcaklığı gibi parametrelerin diğer tüm etiyojilere kıyasla daha şiddetli olduğu görülmektedir (**Tablo 4-5**). Farklı inflamatuvar süreçteki buzağılarda, bu çalışmada irdelenen parametrelerdeki değişimlerinin değerlendirilmesi amacıyla etiyojistik gruplar arasında oluşabilecek potansiyel farklılıkların ortaya konması için etiyojilerinin çeşitlendirilmesi amaçlandı. Bu bağlamda özellikle bakteriyel kökenli gruba yalnızca *E. coli* K99 pozitif çıkan vakalar dahil edilirken viral gruba ise yalnızca coronavirus veya rotavirus pozitif çıkan vakalar dahil edildi. Ayrıca literatürdeki etiyojistik çalışmalarda sıkça rastlanılan bir durum olan mix enfeksiyonlara da (*C. parvum* + viral) sunulan çalışmada yer verildi.

Genel olarak çeşitli enfektif ajanların sebep olduğu ishal vakalarının en erken görüldüğü yaş aralıkları enterotoksijenik *E. coli* için (K99) ilk 7 günlük yaş, *C. parvum* için 6-21 günlük yaş, coronavirus ve rotavirus için ilk 30 günlük dönem olarak belirtilmektedir (Foster & Smith, 2009; Blanchard, 2012). Çalışmada, enfektif ishalleri buzağuların oluşturduğu gruplar ile kontrol grubuna dahil edilen sağlıklı buzağuların yaş düzeyleri birbiriyle yakın olarak dizayn edildi. Bu bağlamda; ishallerin tespit edildiği 0. günde yaşların ortalama değerleri 5,73 (2 – 12) gün, kontrol grubuna dahil edilen buzağuların 0.gün ortalama yaşları ise $5,86 \pm 0,27$ gün olarak bulundu (**Tablo 4**). Etiyojistik gruplar temelinde ishallerin başlangıç yaş ortalamaları; *E. coli* grubu için $3,88 \pm 0,31$ gün, *C. parvum* grubu için $8,77 \pm 1,02$ gün, *C. parvum* + viral grup için 5,87 (4 – 7) gün ve viral grup için ise 5,89 (4 – 9) gün olarak bulundu. İshallerin tespit edildiği en yüksek yaş grubunun *C. parvum* grubu olduğu görülmekte ve *E. coli* ishallerinin tespit edildiği 0.gün yaş ortalaması ile güçlü bir istatistikî fark ortaya konmuştur ($P < 0,001$). *C. parvum* grubunda diğer gruplara kıyasla ishallerin saptandığı yaş düzeyleri arasındaki farklılık; *C. parvum* enfeksiyonlarında ookist saçılımının en erken 3 günlük yaştan itibaren olduğu ve klinik belirtilerin buna göre ortalama 6. günden itibaren tespit edilebilmesiyle ilişkilidir (Wyatt, Riggs & Fayer, 2010; Blanchard, 2012). *C. parvum* ve viral enfeksiyonların mix seyrettiği etiyojistik gruplandırılmada; ishallerin ilk tespit edildiği yaş ortalamaları 5,87 (4 – 7), yalnızca *C. parvum* etkeninin teşhis edildiği grubun yaş ortalaması ise $8,77 \pm 1,02$ olarak bulundu. Çalışmada, *C. parvum* grubu hariç, hiçbir etiyojistik grup

arasında yaş farklılıklarının olmaması, SAA, SCalp ve FCalp düzeylerinde yaş ile ilişkili farklılıklar oluşmaması açısından önemlidir. Orro et al. (2008) tarafından buzağılarda yapılan bir çalışmada, SAA düzeylerinde ilk 7 günlük yaşa kadar kademeli bir artış saptanmakta, özellikle 10. günden itibaren ise kademeli olarak SAA düzeylerinde azalma görülmektedir. Bu sebeple *C. parvum* enfeksiyonlarının oluşturduğu gruptaki yaş dönemindeki farklılıkların SAA düzeylerinde etkili bir faktör olmadığı kanısındayız. Çalışmaya dahil edilen kontrol ve çalışma grubu buzağuların yaş aralıkları sırası ile 3-8 ve 2-12 arasında değişmektedir. Ayrıca çalışmamızda yaş ile SAA arasında herhangi bir korelasyon bulunmaması ve kullanılan buzağuların yaş aralıklarının birbirine yakın olması yukarıdaki bahsi geçen durumları açıklar niteliktedir. Bakteriyel kökenli sepsisli bebeklerde ve yetişkinlerde yapılan çalışmalarda serum calprotectin düzeylerinin yaş ile ilişkili olarak değişkenlik göstermediği belirtilmektedir (Canani et al., 2011; Bartáková et al., 2019). Çalışmamızda da yaş ile SCalp arasında bir korelasyon bulunmaması da özellikle *C. parvum* grubundaki yaş farklılığının bu parametreye etkisinin olmadığını göstermektedir. FCalp düzeyleri temel olarak bebeklerde ve çocuklarda, yetişkinlere kıyasla daha yüksek seyretmektedir. İnsanlarda FCalp düzeyleri ile yaş arasındaki ilişkilerin irdelendiği bir çok çalışmada yaş ile FCalp arasında negatif korelasyonlar olduğu belirtilmekte ancak bu çalışmalarda tekrarlı FCalp düzeylerinin ölçülme sıklığının (3 ile 6 ay) çok değişkenlik gösterdiği görülmektedir (Li et al., 2015; Zhu, Li, Wang, Shen & Sheng, 2016). Campeotto et al. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada ise neonatal bebeklerin FCalp düzeylerinin haftalık ölçümlerinde 1 aylık yaşa kadar olan süreçte FCalp düzeyleri arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. Sunulan çalışmada, FCalp ile yaş arasında negatif korelasyon saptandı ($r = -0,381$, $P < 0,007$). Bununla birlikte, FCalp düzeyleri veteriner literatüründe henüz buzağılarda araştırılmamış olsa da çalışmamızda özellikle neonatal dönemde *C. parvum* grubu ile diğer gruplar arasındaki minimal düzeydeki yaş farklılığının (**Tablo 4**), SCalp ve FCalp parametreleri üzerinde bir etkisi olmayacağını düşündürmektedir.

Neonatal buzağı sağlığını sistematik olarak gözlemlemek ve buzağının tedaviye olan ihtiyacını belirlemek için çeşitli skorlama sistemleri geliştirilmiştir. En yaygın ve başarılı şekilde kullanılan sistemlerden biri Wisconsin-Madison Üniversitesi tarafından

geliştirilen buzağı sağlığı skorumu sistemidir. Bu skorumu sisteminde vücut sıcaklığı, respirasyon ve kalp frekansı gibi klasik parametrelere ek olarak dışkı skorumu, emme refleksi ve mental statü skorları da bulunmaktadır (Medrano-Galarza et al., 2018). Bu sisteme göre dışkı skorumu 1-4, emme refleksi skorumu 1-3 ve mental statü skorumu ise 1-3 arasında skorlanmaktadır. Özellikle dışkı skorumu 3 ve 4 olması ishali, 1 ve 2 olması ise normal dışkıyı belirtmektedir (Trotz-Williams et al., 2007). McGuirk (2008), özellikle dışkı skorumu 3 ve 4 olan buzağuların enfektif bir etiyolojik ajana sahip olabileceği ve tedaviye başlanması gerektiğini belirtmektedir. Çalışmamızda ishal tespit edilen buzağulara antibiyotik ve gerekli olduğu takdirde antiprotozoer ilaç tedavisi uygulanarak, 7. gündeki klinik parametrelerdeki iyileşmenin, özellikle dışkı skoruna yansıdığı görüldü. Çalışmamızda özellikle en az bir etiyolojik ajan tespit edilen ishalleri vakaların tümünün 0. gündeki ortalama dışkı skorumu 3,38 olduğu ve tedavi sonrasında 7. günde ortalama 1,61'e gerilediği görülmektedir. Diğer taraftan kontrol grubundaki sağlıklı buzağuların, 0.gün ve 7. gündeki ortalama dışkı skorları sırası ile 1,53 ve 1,22 olarak referans değerler içerisinde tespit edildi. Çalışmayı oluşturan ishalleri buzağuların oluşturduğu grupta gerçekleştirilen tedavi uygulamaları sonucunda, enfektif yangısal tablonun iyileştirilmesi, bu suretle FCalp, SCalp ve SAA düzeylerindeki değişimlerin daha objektif değerlendirilme olanağı sunması amaçlanmıştır.

Wisconsin-Madison skorumu sisteminde değerlendirilen önemli bir parametre de emme refleksi skorumu sistemidir. Çalışmadaki ishalleri hayvanların 0. gündeki ortalama emme refleksi skorumu 1,70 olarak bulunurken, tedavi ile birlikte 7. günde ortalama 2,97'ye yükselmektedir. Topal & Batmaz (2020) tarafından yapılan bir çalışmada benzer skorumu sistemi kullanılmış, ishale yakalanan hayvanlarda emme refleksinin azaldığı belirtilmiştir. Sunulan çalışmada 0. gündeki ishalleri hayvanların emme skorumu ile dışkı skorumu arasında saptanan korelasyon ($r = -0,356$, $P = 0,015$), Topal & Batmaz (2020) tarafından rapor edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Dışkı kültürlerinin pozitifliği ve klinik olarak septisemik *E. coli* (n=11) vakalarının oluşturduğu gruba ait ortalama emme refleksi skorumu; 0. gün ve 7. günlerde sırası ile 1,11 ve 3,00 olarak tespit edildi ($P < 0,0001$). Lofstedt et al. (1999) tarafından septisemik buzağulara yapılan bir çalışmada, emme refleksi zayıf ve güçlü olacak şekilde ikili skorlandırma sistemi uygulanmıştır. Bu çalışmada, emme

refleksinin olmaması veya zayıf olmasının septisemiye tespit etmede iyi bir indikatör olduğu sonucuna varılmıştır (Odds ratio: 2,58 kat). Sunulan çalışmada, yukarıdaki çalışmayla benzer olarak septisemik *E. coli* grubu ile kontrol grubu arasında 0.günde emme refleksi ortalama skorlarında anlamlı farklar bulundu ($P < 0,001$). Çalışmada özellikle septisemik hayvanların değerlendirilmesi FCalp ve SCalp'ın bakteriyel hastalıklarda artış göstermesi hipotezi açısından kritik bir öneme sahiptir. Bu anlamda emme refleksinin yukarıdaki literatürlerle de uyumlu olarak septisemik hayvanlarda yüksek bulunması, FCalp ve SCalp ile ilişkilendirme anlamında önem arz edebilir.

İshalli hayvanlarda tespiti yapılan bir diğer önemli klinik parametre de mental statünün değerlendirilmesidir. Davranış skoru olarak da adlandırılan bu skorlama sisteminde çalışmamızda özellikle *E. coli* pozitif vakaların 0. gün ve 7. günlerde ölçülen ortalama mental statü skorları, sırası ile 2,42 ve 1,15 olarak tespit edildi. Aynı skorlama sisteminin kullanıldığı bir çalışmada, mental statü skoru 2-3 olan buzağular ile ishal bulgusu gösteren buzağular arasında, istatistiki olarak önemli bir ilişki bulunmuştur (Topal & Batmaz, 2020). Çalışmamızda ayrıca mental statü skorlaması açısından 0. günde; ishalli ve kontrol grubu arasında önemli istatistiksel fark göze çarpmaktadır ($P < 0,001$). Yapılan bir çalışmada ilk 6 günlük yaşta ishal tespit edilen buzağularda d-laktatemi, baz açığı ve metabolik asidozun şiddeti ile emme refleksinin zayıflaması ve mental statüdeki negatif değişimler arasında korelatif ilişkiler tespit edilmiştir (Trefz, Lorch, Geist, Sauter-Lois & Lorenz, 2012). Benzer bir çalışmada araştırmacılar emme refleksinde azalma, palpebral reflekslerde zayıflama ve depresyon/letarji ile kan d-laktat konsantrasyon artışları arasında ilişki tespit etmiştir (Lorenz, 2009). Çalışmamızda kan d-laktat ve bikarbonat değerleri ekonomik sebeplerden dolayı ölçülmemiş olmakla birlikte ishalli hayvanlarda gelişen mental statü ve emme refleksi değişimlerinin olası bir metabolik asidozdan ileri gelmiş olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızdaki ishalli buzağularda, değişik oranlarda tespit edilen dehidrasyon tablosunun düzeltilmesi amacıyla per os veya parenteral sıvı sağaltımları yapılmış ve hayvanların 7.günde ölçülen klinik parametrelerinde düzelme olduğu görülmüştür.

Buzağular doğumdan sonra pasif immun transfer için kolostruma ihtiyaç duyarlar. Yeterli kolostrumun buzağı tarafından alınıp alınmadığının belirlenmesi amacıyla çeşitli testler kullanılmakta, altın standart olarak da serum IgG düzeyleri değerlendirilmektedir (Weaver et al., 2000). Bu teste ek olarak çeşitli araştırmacılar tarafından, IgG konsantrasyonları ile serum GGT değeri arasındaki ilişki belirlenerek çeşitli cut-off noktaları ortaya konmuştur. Serum GGT değeri, ekonomik ve saha şartlarında hızlı ve pratik sonuçların alınmasını sağlamaktadır. Sunulan çalışmada, 0. günde ishali hayvanlardaki ortalama serum GGT konsantrasyonları 427,50 (15,20 – 2500) U/L olarak tespit edildi. Cuttance et al. (2017) tarafından yapılan çalışmada 5 günlük yaş ve altındaki buzağularda serum GGT'nin 250 U/L ve aşşağısında olmasının PTY'yi ortaya koyduğu not edilmiştir. Buna ek olarak benzer bir çalışmada 4 ve 7 günlük ortalama yaşa sahip buzağularda serum GGT'nin PTY için cut-off değerlerinin sırası ile >100 ve >75 U/L olduğu belirtilmektedir (Parish et al., 1997). Çalışmada ishali hayvanlar 0.günlerinde 5-7 ve 7+ günlük yaş olarak kategorize edildiğinde, yukarıda belirtilen cut-off değerlerinin üzerinde oldukları görülmektedir (**Tablo 7**). Bu bulgu çalışmaya dahil edilen buzağuların hiçbirinde PTY olmadığını ortaya koymaktadır. Sığır kolostrumu nötrofil, monosit, makrofaj gibi inflamatuvar hücreler, laktoferrin, defensin, IgG, IgA gibi antimikrobiyel proteinler ve IL-6 gibi çok sayıda inflamatuvar sitokini içermektedir. Kolostrumu tüketen buzağıda, bu inflamatuvar elemanlar bağırsak lümeninde doğrudan bir savunma yapmanın yanında buzağının enterik immunitesini de uyararak bağırsak savunmasının gelişmesinde rol oynamaktadır (Stelwagen et al., 2009). Bebeklerde yapılan çeşitli çalışmalarda sığır kolostrumunun tüketilmesi, çeşitli enfeksiyonlara karşı proflaktik işlev içermekte ve bu bebeklerin dışkıсында ölçülen FCalp miktarlarında artış görülmektedir (Chen et al., 2020). Aynı şekilde anne sütünden yoksun beslenen bebeklerde de FCalp düzeylerinin daha düşük ölçüldüğü bildirilmektedir (Li, Ma, Geng, Wang, Ren & Sheng, 2014). Benzer çalışmalar veteriner literatürde çok seyrek olmakla birlikte köpeklerde yapılan bir çalışmada anne sütünü tüketen yavru köpeklerde FCalp düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (Grellet et al., 2014). Çalışmamıza PTY bulgusu içermeyen buzağuların dahil edilmiş olması önem arz etmektedir. Bu ve diğer çalışmalarda, kolostrum ve süt içeriğindeki calprotectin düzeyleri sunulmamış olmakla birlikte kolostrumun içeriğindeki inflamatuvar hücrelerin ve sitokinlerin enterik mukozayı uyarması ile birlikte buzağının

enterik immun hücreleri tarafından bağırsak lümenine calprotectin geçişinin olabileceği düşünülmekte, PTY olan hayvanlarda FCalp düzeylerinde bir homojenite sağlanamayacağı ön görülmektedir. Çalışmamızda ayrıca kontrol grubuna dahil edilen buzağuların da 0. gündeki ortalama GGT düzeylerinin 565,34 U/L olduğu görüldü ve bu grupta da PTY bulgusu saptanmadı. Çalışmamıza dahil edilen buzağuların 0. gün ortalama yaşlarının ve GGT aktivitelerinin paralel seyrediyor olması önem arz etmekte, bu değişkenlerin bir örnek olması, SAA, SCalp ve FCalp düzeyleri arasındaki ilişkilerin daha sağlıklı olarak ortaya konmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Serum amyloid A (SAA), plazmada bulunan yüksek dansite lipoprotein grubuna ait, karaciğerde üretilen bir akut faz proteindir (APP) (Steel & Whitehead, 1994). APP'lerin serum profilleri türler arasında farklılık göstermektedir. Sığırdaki temel major APP'ler: haptoglobin, SAA, seruloplazmin ve fibrinojen olmakla birlikte SAA ve haptoglobin'in sensitivite ve spesifitesinin daha yüksek olduğu ve sığırdaki bakteriyel enfeksiyonların tanısında biyobelirteç olarak sıklıkla kullanıldığı bildirilmektedir (Ahmad Bhat et al., 2018; Eckersall & Bell, 2010). SAA, sağlıklı buzağularda doğumdan sonra yaş ile bağlantılı olarak azalma eğiliminde olup, bu azalma 21 günlük yaşa kadar kademeli şekilde gerçekleşmektedir (Orro et al., 2008). Sunulan çalışmada, 0.günde çalışmaya dahil edilen buzağuların ortalama yaşlarının ishalleri ve kontrol grubu için sırası ile 5,73 gün ve 5,86 gün olarak belirlenmiştir (P = 0,44). Buna ek olarak 0.günde ölçülen ortalama SAA konsantrasyonları, sağlıklı ve ishalleri grup için sırası ile 0,54 (0,16 – 2,18) ng/ml ve 38,40 (8,28 – 83,96) ng/ml olarak ölçüldü ve iki ölçüm günü arasında istatistiksel fark elde edildi (P < 0,001). Enfektif ishalleri buzağulardaki elde edilen bu fark, literatürdeki pek çok çalışma ile benzerlik göstermektedir (Pourjafar et al., 2011; Tóthová et al., 2012; Hajimohammadi et al., 2013; Balıkcı & Al, 2014). Çalışmada, ishalleri ve sağlıklı hayvanlarda ölçülen SAA düzeylerinin yaşa bağlı olarak dalgalanmalar göstermemesi ve rasyonel sonuçlar elde edilmesi amacıyla iki grubun ortalama yaşlarının benzer tutulması sağlandı.

Sunulan çalışmada SAA konsantrasyonları ishalleri ilk başladığı an olan 0. gün ve tedavi sonrası 7. günlerde de ölçüldü. Buna göre bütün ishalleri vakaların (n=55) ele alındığı istatistiksel modelde SAA'nın 7. günde 0. güne kıyasla anlamlı şekilde azalma gösterdiği

görülmektedir ($P = 0,003$). Bu durum özellikle enfektif ishallerde buzağılarda yapılan diğer çalışmalarla da uyum göstermektedir. Hajimohammadi et al. (2013) buzağılarda yaptığı çalışmada ishaller ve sağlıklı buzağuların klinik skorlandırması (ateş, dehidrasyon, mental statü vb.) ile SAA düzeyleri arasındaki ilişki irdelenmiş, klinik muayeneleri sağlıklı buzağulara göre daha kötü seyir gösteren ishallerde buzağuların SAA konsantrasyonları da sağlıklı buzağulara kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek çıkmıştır. Tedavi ile ilişkili olarak yangısal prosesin ortadan kalkması ve buna bağlı olarak SAA düzeyinin düşmesi, iyileşmenin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Buzağılarda farklı etiyolojik etkenler tarafından değişen derecelerde yangısal cevap şekillenebilmektedir. *E. coli*, endotoksemik seyirli bir ishal tablosu meydana getirirken, *Cryptosporidium* spp. ya da viral enfeksiyonlar daha ılımlı bir yangısal yanıt oluşturmaktadır. Bununla birlikte, etkili olmayan tedavi girişimleri ve re-enfeksiyon gibi faktörler yangısal cevapta değişimlere neden olabilmektedir (Pourjafar et al., 2011). Sunulan çalışmada, toplam *E. coli* grubunun ($n=17$) 0. gün ve 7. gün SAA ölçümlerinin sırası ile 37,97 ng/ml ve 54,27 ng/ml olduğu görülmekte, iki ölçüm arasında istatistiksel bir fark ($P = 0,266$) elde edilmemesiyle birlikte konsantrasyondaki 7.günde beklenen olası bir azalma yerine sayısal artış saptanmasının, birkaç patofizyolojik mekanizma ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. SAA; *E. coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Vibrio cholera*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi çok geniş yelpazeye sahip Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin yüzey membran proteinlerine doğrudan bağlanmak suretiyle bakterileri opsonize ederek inaktivasyonlarını sağlamaktadır. SAA'nın opsonizasyonu, inflamasyon bölgesine makrofaj ve nötrofil akışını indükleyerek özellikle *E. coli* gibi Gram (-) bakterilerin fagositer hücreler tarafından elimine edilmesini sağlamaktadır (Hari-Dass et al., 2005; Shah et al., 2006). *E. coli* enfeksiyonlarında özellikle bakterinin bağırsak lümeninden kan dolaşımına transloke olması ve akabinde ortaya çıkan LPS yapıları, humoral bağışıklığın daha şiddetli uyarılmasına ve yangısal mediyatörlerin tetiklenerek enfeksiyonun şiddetinin artmasına, dolayısıyla SAA konsantrasyonlarındaki artışın belirli sürelerde devam etmesine yol açabilmektedir (Shah et al., 2006). SAA normal şartlarda inflamasyon indüklendikten 48 saat (Eckersall & Bell, 2010) içerisinde pik noktaya ulaşmakta ancak yangısal etkenin ortadan kalkmasıyla azalma eğilimine geçmektedir.

Orro et al. (2011) tarafından sekonder bakteriyel enfeksiyonlarla komplike olan BRSV enfeksiyonuna sahip olan buzağuların oluşturduğu bir çalışmada, SAA düzeyinin 3 hafta boyunca yükseldiği, 3. haftada pik yaptığı ve ancak 4. haftada düşüş eğilimine girdiği bildirilmektedir. Sunulan çalışmada bu durum; bakterilerin bağırsaktan kana translokasyonu sırasında ortaya çıkan LPS ve sitokinlerin aktive olması ile birlikte SAA'nın 7. günlük ölçüme kadar kademeli olarak artış göstermiş olabileceği düşünülmektedir. Bu duruma ek olarak bağırsak epitel hücreleri de, yangısal mediyatörlerin (TNF-alfa, IL-6 ve IL-1) stimülasyonu sonucunda SAA açığa çıkartabilmektedir (Vreugdenhil et al., 1999). Bağırsak lümeninde kolonize olan Gram (-) bakterilerin ekzo ve endotoksinleri, yüzeylerinde lipopolisakkarit ve mannan yapıları, virusların ve protozoonların yüzey antijenleri, lokal fagositer hücreleri aktive etmekte ve ortaya çıkan yangısal mediyatörlerin (TNF-alfa, IL-6 ve IL-1) bağırsak epitel hücrelerini uyarması ile SAA açığa çıkartabilmektedir (Vreugdenhil et al., 1999). Bu iki mekanizma ele alındığında *E.coli* enfeksiyonlarında SAA düzeylerinin diğer etiyolojilere göre 7. günde bile daha yüksek seyretmesi açıklanabilmektedir. *E. coli* grubunun 7. gündeki ortalama dışkı skorunun (**Tablo 4**) kontrol grubunun 7. gündeki benzer seviyelerine henüz inmemiş olması da bağırsaktaki inflamasyonun azalmasına rağmen devam ettiğini ve mukozal iyileşmenin hala sürmekte olduğunu düşündürmektedir. Buna ek olarak Pourjafar et al. (2011) tarafından yapılan çalışmada *E.coli* pozitif ishallerde SAA konsantrasyonlarının diğer viral ve protozer etiyolojilere göre daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte bu çalışmada, SAA'nın tedavi sonrası konsantrasyonları ölçülmemiştir. Çalışmamızda *E. coli* grubunun 0. gün SAA konsantrasyonları diğer tüm etiyolojilere kıyasla daha yüksek seyretmekte ancak bir istatistiksel fark sunmamaktadır (**Tablo 9**).

Bakteriyel etkenlerin dışındaki, *Cryptosporidium* spp. ve viral etkenler tarafından meydana getirilen ishal tabloları daha ılımlı bir yangısal cevap oluşturmaktadır (Pourjafar et al., 2011). Sunulan çalışmada, *Cryptosporidium* spp. enfeksiyonu ve viral enfeksiyonlarda SAA düzeylerinin *E. coli* tarafından oluşturulan gruba göre daha düşük olması bu durumu açıklamaktadır. Diğer taraftan, *Cryptosporidium* spp. ve viral ishallerin oluşturduğu grupta 0. ve 7. günler arasında SAA konsantrasyonları arasında istatistiksel

olmayan bir azalmanın olması, Niine, Dorbek-Kolin, Lassen & Orro (2018) tarafından yapılan çalışma ile paralellik göstermektedir. Niine et al. (2018) tarafından yapılan bu çalışmada, *C. parvum* ile enfekte buzağılarda halofuginon laktat ile 1 haftalık tedavi sonrasında SAA konsantrasyonlarının ilk ölçüm düzeyine göre anlamlı düşüşler gösterdiği belirtilmektedir. Halofuginon laktat tedavisi ile fekal ookist saçılımı azaltılmakta, bu da bağırsaktaki yangısal sürecin düzelmesine, dolayısıyla SAA konsantrasyonlarında da kademeli olarak azalmaya yol açtığını düşündürmektedir. Bu durum aynı zamanda çalışmamızdaki *C. parvum* grubunun 0. gün ve 7. gündeki dışkı skorundaki çarpıcı düzelmeye (sırası ile 2,77 ve 1,00) de açıklanabilmektedir (**Tablo 5**). Coronavirus kaynaklı ishallerde buzağılarda SAA konsantrasyonlarının irdelendiği bir çalışmada ise tedavi sonrası SAA konsantrasyonlarında 1.6 kat düşüş kaydedilmiş olsa da herhangi bir istatistiki fark bulunmamıştır (Chae et al., 2019). Bu düşüş eğilimi ve iki ölçüm zamanı arasında herhangi bir istatistiksel fark bulunmaması çalışmamızdaki viral vakalardaki SAA değişimiyle benzerlik göstermektedir (**Tablo 9**).

Serum calprotectin (SCalp) son yıllarda çeşitli inflamatuvar durumların varlığını ve şiddetini ortaya koymada başarılı sonuçlar alınan potansiyel yeni bir akut faz proteini işlevi görmektedir. Bu biyobelirteç ile ilgili olarak insan literatüründe kapsamlı araştırmalar bulunurken veteriner hekimlikte çalışmalar sınırlı düzeydedir. Bu anlamda, köpeklerde yangısal bağırsak sendromu (IBD) ve kronik ishal ile ilgili 3 adet çalışmanın varlığı dikkati çekmektedir. Bu araştırmacılar özellikle IBD'li köpeklerde SCalp düzeylerinde hastalıkla ilişkili olarak anlamlı artışlar saptayarak belirli cut-off değerleri ortaya koymuş ancak daha kapsamlı araştırmalar yapılması gerekliliğini vurgulamıştır (Heilmann et al., 2012; Grellet et al., 2013; Otoni et al., 2018). İdiyopatik IBD'li köpeklerde yapılan bu çalışmalarda, artan SCalp konsantrasyonlarının bağırsakta aktive olmuş mukozal makrofajlardan ileri geldiği düşünülmekte ancak calprotectinin mukozal ekspresyonunun araştırılması gerekliliği vurgulanmaktadır. SCalp artışlarının enfektif kökenli ishal durumlarındaki değişimlerine dair veteriner literatüründe herhangi bir çalışmaya tarafımızca rastlanılmamıştır. Sunulan çalışmada, SCalp'ın 0. gün ölçümlerinde ishallerde (68,02 ng/ml) ve kontrol (24,05 ng/ml) grubu arasında anlamlı istatistiksel fark elde edildi ($P < 0,001$). Enfektif ishal durumlarında SCalp düzeylerindeki değişim olası birkaç

sebeple açıklanabilir. Yangısal süreçlerde nötrofil başta olmak üzere monosit ve makrofajlar calprotectini inflamasyon bölgesine salmaktadır (Heilmann & Steiner, 2018). Bağırsakta oluşan yangısal süreçlerde bağırsak mukozasındaki inflamatuvar hücrelerden lümeneye yüksek miktarlarda calprotectin salındığı çeşitli araştırmalarda ortaya konmakta ancak SCalp artışlarının bağırsaktaki nötrofilik aktiviteden ileri gelip gelmediği henüz netlik kazanmamıştır. Pepper et al. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, SCalp artışlarının yangılı bağırsak mukozasından köken almadığı ve sirkülasyondaki nötrofilik aktivite kaynaklı olduğu vurgulanmaktadır. Benzer bir çalışmada ishal ile seyreden ülseratif colitli insanlarda sirkülasyondaki nötrofil, monosit ve aktive makrofaj popülasyonlarındaki artışın SCalp artışı ile ilişkili olduğu vurgulanmaktadır (Cury et al., 2013). Bu bulgular temelinde, ishallerde 0. günde hem SCalp hem de FCalp düzeylerinde anlamlı artışlar olduğu ancak iki parametre arasında herhangi bir korelasyon olmadığı görülmektedir. Bu durum, SCalp artışlarının kendini sirkülasyondaki hücrelerden salınım ile sınırlamış olması ile ilişkili olabilir.

Neonatal buzağı ishallerinde inflamasyonla ilişkili olarak nötrofilik karakterde bir lökositoz geliştiği çeşitli çalışmalarda bildirilmektedir (Malik et al., 2013; El-Seedy et al., 2016). Bu çalışmalara ek olarak buzağı ishallerinde gelişen akut inflamatuvar yanıt neticesinde nötrofil sayılarında ve yüzdesel oranlarındaki artışa lenfopeni de eşlik etmektedir (Malik et al., 2013; Brar, Ahuja, Sood, Sandhu & Gupta, 2015). Yapılan literatür değerlendirmesinde SCalp düzeyinin farklı etiyolojik etken temelinde değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bununla birlikte, sunulan çalışmada ishallerde hayvanların etiyolojik gruplar temelinde SCalp düzeylerinin 0. gündeki karşılaştırılmalarında anlamlı farklar elde edildi (**Tablo 9**). SCalp düzeyleri arasında en belirgin fark, *E. coli* ile *C. parvum* ($P = 0,002$) ve *E. coli* ile viral grup ($P = <0,001$) arasında tespit edildi. Bu durum *E. coli* tarafından meydana getirilen enteritis ve beraberindeki sepsis tablolarının *C. parvum* ve viral kaynaklı enteritlere kıyasla daha şiddetli inflamasyon oluşturması ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu görüş, Ok ve diğerleri. (2020) tarafından yapılan bir çalışmada *E. coli* pozitif vakalarda diğer viral ve protozer etiyolojilere göre çok daha yüksek WBC düzeylerinin tespit edilmesiyle uyumludur. Sirkülasyondaki nötrofil profilindeki artış ile SCalp artışları arasında

potansiyel bir ilişki olabileceği düşünülmekte ayrıca calprotectinin primer kaynağının nötrofiller olduğu bilgisi (Leach et al., 2007) de bu görüşü destekler niteliktedir. Sunulan çalışmada 0. günde ölçülen WBC değerlerinde en yüksek ortalamanın *E. coli* grubunda gözlenmesi ve viral ($P = 0,002$) ve *C. parvum* ($P < 0,001$) grupları ile istatistiksel anlamlı farklar elde edilmiş olması da nötrofilik artışlar ile SCalp artışları arasındaki bağlantı olabileceği öngörüsünü desteklemektedir. Ayrıca, çalışmamızda *E. coli* grubunun 0.gün klinik parametrelerinin diğer etiyolojik gruplara ait klinik parametrelere göre daha şiddetli seyretmesi bütün bu verilere paralellik göstermektedir.

SCalp ölçümlerinin bakteriyel ve viral kökenli ishalleri ayırt etmede kullanışlı bir parametre olacağı bir çalışmada rapor edilmektedir (Bartáková et al., 2019). Buna göre çalışmamızda 0.gün'de yapılan ROC analizlerinde, viral ve *E. coli* gruplarında SCalp düzeyinin ishali belirleme açısından yukarıdaki çalışmaya benzer olarak yüksek sensitivite ve spesifisite değerlerine sahip olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte, toplam *E. coli* ve viral grubun karşılaştırılarak değerlendirildiği ROC analizinde, SCalp'ın cut-off değeri $\leq 70,969$ ng/ml (Sens: %94, Spec: 62,5, AUC: 0,842, $P=0,002$) olarak bulundu. Bu sonuçlar doğrultusunda, SCalp'ın bakteriyel ve viral kökenli ishalleri ayırt edebilme gücünün yüksek olduğu kanısına varıldı.

SCalp'ın, bağırsakta oluşturduğu inflamatuvar durumlardaki değişimine ek olarak sepsis tabloları ile ilgili çalışmalarda, prediktif bir belirteç olarak kullanılabilirliği bildirilmektedir. İnsan hekimliğinde, özellikle bebeklerde yapılan çalışmalarda bakteriyel enfeksiyon kaynaklı sepsis durumlarında SCalp artışlarının önemi vurgulanmakta ve insanlarda sıklıkla primer olarak tercih edilen akut faz proteini olan CRP'ye kıyasla daha hızlı ve dinamik değişimler verdiği ortaya konmaktadır (Canani et al., 2011; Decembrino et al., 2015). Veteriner hekimliğinde ise sepsisli köpeklerde yapılan bir araştırmada SCalp düzeylerinin köpeklerin hastaneye başvurduğu ilk günde, sağlıklı köpeklere kıyasla daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Thames, Barr, Suchodolski, Steiner & Heilmann, 2019). Sunulan çalışmada, septisemik *E. coli* alt grubu buzağılarda (76,05 ng/ml), SCalp düzeyi kontrol grubuna (24,05 ng/ml) göre yüksek bulunmuştur ($P < 0,001$). Ayrıca, septisemik *E.coli* grubuna ait ROC analizi sonuçlarına göre cut off değeri ≤ 70.969 ng/ml, (Sens: 94.74, Spes: 62.50, AUC:0.84, $p<0.0002$) olarak tespit edildi. Bu bulgular, SCalp

düzeşinin buzağı ishallerinde sepsinin tanısında güvenilir bir parametre olduğunu doğrular niteliktedir. Bakteriyel kökenli sepsisli bebeklerde yapılan çalışmalarda SCalp düzeylerinde sağlıklı beşeklere kıyasla istatistiksel anlamlı artışlar saptanması da sunulan çalışmadaki sonuçlarla paralellik göstermektedir. Buzağılarda gelişen bakteriyel kökenli bağırsak inflamasyonlarında etken sıklıkla kan sirkülasyonuna transloke olmakta ve LPS benzeri yapıları neticesinde çalışmamızdaki neonatal dönem buzağılarda septisemi oluşturmuş olmaktadır. Çalışmamızda septisemik *E. coli* (n=11) grubunda diğer etiyolojilere kıyasla daha şidetli bir inflamatuvar yanıt gelişmiş olma ihtimali, bu gruptaki SCalp konsantrasyonlarının daha yüksek olmasını da açıklar niteliktedir (**Tablo 9**). Ayrıca alışmamızda septisemik *E. coli* grubunun klinik muayene bulgularının diğer gruplara kıyasla daha şiddetli seyretmesi de bu sonuca paralellik göstermektedir (**Tablo 5-6**).

Sunulan çalışmada, ishelli vakaların tamamının ele alındığı (n=55) 0. ve 7. gün SCalp düzeylerinin kıyaslamalarında sayısal olarak SCalp'ın 7. günde azalma eğiliminde olduğu görülmekle birlikte istatistiki bir fark saptanmadı. Etiyolojik grupların analizlerinde, *C. parvum* grubu hariç bütün etiyolojik gruplarda 7. gün SCalp düzeyinde azalma tespit edilirken, istatistiki tek farkın *E. coli* grubunda olduğu belirlendi (P = 0,016). Diğer taraftan ishelli gruplardaki 0. ve 7. gündeki bütün değerlerin kontrol grubuna göre yüksek seyretmesi, tedavinin klinik ve hematolojik olarak sonuç vermesinin yanında inflamasyon sürecinin devam etmesi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. *E. coli* grubunda SAA düzeylerinde 0 ve 7. günler arasındaki değerimde de istatistiki fark bulunmaması infalamatuvar sürecin devam ettiğini belgelemektedir. Gerek SCalp, gerekse de SAA'nın kısa yarılanma sürelerinin de göz önüne alındığında (sırasıyla 5 saat ve 2 gün) 0. ve 7. günlük zaman içerisinde düzeylerin yüksek seyretmesinin inflamasyonun 7.günde de sürmekte olduğunu düşündürmektedir. Buzağı ishalleri ve sitokin ilişkilerinin irdelendiği çalışmalarda, buzağı ishallerinde IL-8'in yüksek düzeylerde seyrettiği, aynı zamanda IL-8'in nötrofillerin primer uyararı olduğu belirtilmektedir (Leach et al., 2007; Ok ve diğerleri, 2020). Diğer taraftan SCalp'ın kaynağının dolaşımdaki lökositler olduğu belirtilmekte ancak serumdaki lökosit miktarının mı yoksa inflamasyonun şiddetinin mi SCalp düzeyi üzerinde etkili olduğu açık değerildir. Thames et al. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada SCalp düzeyleri ile WBC düzeyleri arasında korelasyon olduğu

belirtilmekle birlikte Canani et al. (2011) tarafından yapılan çalışmada SCalp düzeyleri ve WBC düzeyleri arasında korelasyon olmadığı belirtilmektedir. Sunulan çalışmada ishaller ve kontrol grubu buzağılarda IL-8 düzeyi ölçülmemiş olmakla birlikte, ishaller hayvanların oluşturduğu gruplardaki buzağıkların WBC değerlerinin yüksek olması diğer çalışmaların bulgularına paralellik göstermektedir. Bu öngörüyü destekleyici bir çalışma Seydel et al. (1998) tarafından yapılmış ve deneysel in-vitro *C. parvum* enfeksiyonlarında IL-8 varlığının 7. günde dahi devam ettiği saptanmıştır. Sepsisli köpeklerde yapılan bir çalışmada ise SCalp düzeylerinde tedavinin 3. gününde düşüşler saptanmış ($P < 0,05$) ve SCalp düzeylerinin tedavinin etkinliğini belirlemede yeni bir marker olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca köpeklerde sürdürülmüş bu çalışmada, WBC artışları ile SCalp artışları arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır ($P < 0,001$) (Thames et al., 2019). Sunulan çalışmada, çalışmaya dahil edilen buzağıkların tedavileri başarılı şekilde yapılmış ve herhangi bir buzağı kaybı olmamıştır. *E. coli* grubunda tedavi sonrası WBC ölçümlerinde ($P = 0,002$) ve klinik parametrelerde 7. günde göze çarpan ve istatistiksel olarak da anlamlı düzelmeler olduğu görülmektedir (**Tablo 5-6**). Çalışmamızdaki septisemik *E. coli* grubunda ölçülen SCalp düzeylerinde 7. gündeki istatistiksel anlamlı düşüşler ($P = 0,015$) de bu araştırmacıların sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Sığırlarda yangısal durumun belirlenmesi için APP ölçümleri sıklıkla tanısal süreçte kullanılmaktadır (Gånheim et al., 2007). Buzağılarda ishal tablolarlarında sıklıkla SAA ve haptoglobin biyoblierteçlerinin kullanıldığı bildirilmektedir (Murata et al., 2004b). Tóthová et al. (2011) tarafından yapılan çalışmada, ishaller olan buzağılarda SAA'nın inflamasyonun belgelenmesinde kullanışlı bir parametre olduğu belirtilmektedir. Sunulan çalışmada, etiyolojik olarak gruplar açısından SCalp ile SAA arasında korelatif bir ilişki saptanmamış olup, yalnızca *C. parvum*'un 0.gün ölçümlerinde SAA ile SCalp arasında korelasyon saptandı ($r=0,703$, $P=0,03$). Yapılan literatür araştırmasında buzağılarda ya da sığırlarda SCalp ile ilişkili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Diğer taraftan SCalp ve CRP ile ilgili insan ve köpek çalışmaları mevcuttur (Canani et al., 2011; Thames et al., 2019). McCann, Smith & Gaya (2017), kategorize edilmemiş gastrointestinal semptom gösteren ishaller insanlarda yaptığı retrospektif bir araştırmada SCalp, FCalp ve CRP arasındaki ilişkileri değerlendirmiştir.

Bu araştırmada üç parametrenin de ikili korelatif kıyaslamalarında herhangi ilişki bulunamamıştır. Sunulan çalışmada bütün etiyolojik gruplarda korelasyon saptanmaması, FCalp'ın neredeyse tamamının bağırsak mukozasındaki nötrofil ve intestinal epitel hücrelerden lümene salındığı ve SCalp düzeylerinden daha yüksek seyredebileceğini ayrıca sirkülasyondaki yangısal süreçte ortaya çıkan SCalp'ın yalnızca sirkülasyonda sınırlı kalabileceği dşnlmektedir. Diğer taraftan, SAA ile SCalp'ın yarılanma sürelerinin farklı olmasını (sırası ile 5 saat ve 19 saat), iki parametre arasında korelatif bir ilişki saptanmamasının nedeni olabileceğini düşündürmektedir.

Calprotectin, nötrofil başta olmak üzere makrofaj ve monosit gibi çeşitli inflamatuvar hücrelerin sitozolünde bulunmakta ve özellikle nötrofilin sitozolik içeriğinin %60 kadarını ihtiva etmesinden ötürü inflamasyonun varlığının ve Şiddetinin non-invazif olarak llmesine olanak sağlamaktadır (Aadland & Fagerhol, 2002). İnsan hekimliğinde, fekal calprotectin (FCalp) lmleri yangısal bağırsak hastalığı (IBD), lseratif kolit, Crohn hastalığı gibi kronik ishalle seyreden hastalıklar başta olmak üzere bakteriyel, viral ve protozer kaynaklı akut enfektif ishallerin tanısında da kullanılmaktadır (Chen et al., 2012; Langhorst et al., 2008; Shastri et al., 2008). Bağırsak mukozasında gelişen inflamasyon neticesinde sahada aktive olan nötrofiller, sitozolndeki başta calprotectin olmak üzere çeşitli antimikrobiyal polipeptitleri ekstraselüler sahaya salarak immünolojik savaşı daha güçlü kılmakta, bu mekanizma neticesinde bağırsak lümeninde FCalp düzeylerinin artışı Őekillenmektedir (MacQueen et al., 2016; Voganatsi et al., 2001). Veteriner literatüründe henüz çok sayıda çalışma yapılmamış olmakla birlikte IBD tanısı koyulmuş kronik ishallerde, sağlıklı köpeklere kıyasla FCalp artışları ortaya konmuştur (Grellet et al., 2013). Sunulan çalışmada, ishaller ve sağlıklı hayvanlarda ölçülen 0. gün FCalp düzeyleri sırasıyla, 93,08 ng/ml ve 87,01 ng/ml olarak bulundu ve iki grup arasında istatistiksel fark elde edildi ($P = 0,01$). FCalp düzeylerinin enfektif kökenli ishallerde ya da sığırlarda incelendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Akut olarak gelişen enfektif kaynaklı ishal durumlarında gözlemlenen FCalp artışları ise yetişkin insanlarda ve çocuklarda yapılan çalışmalarda ortaya konmakla birlikte özellikle bakteriyel kökenli ishallerde viral kökenli ishallerde göre FCalp'ın daha da yüksek seyrettiği vurgulanmaktadır (Duman ve diğerleri, 2015; Weh et al., 2013; Lam et al., 2014;

Shastri et al., 2008; Sýkora et al., 2010). Bu çalışmalardaki sonuçlarla uyumlu olarak, sunulan çalışmada ishallerde ölçülen FCalp düzeyleri sağlıklı gruptaki ölçümlere göre istatistiksel olarak anlamlı artışlar göstermiştir. Çalışmamızda ayrıca ishaller ve kontrol grubunun ele alındığı 0. gün FCalp düzeyleri özelinde yapılan ROC analizlerine göre FCalp'ın cut-off konsantrasyonu > 91,804 ng/ml olarak bulunurken sensitivite ve spesifisite oranları da sırası ile % 61,22 ve %80 olarak bulundu (AUC: 0,694, P = 0,0057). Ayrıca yapılan lojistik regresyon analizi sonucunda FCalp'ın ishallerde hayvanları teşhis etme gücünün 6,316 kat (Odds Ratio: 6,316, P = 0,009) daha fazla olduğu görüldü. Sunulan çalışmada elde edilen sonuçlar, buzağılarda enfektif kökenli ishallerde FCalp düzeyinin kullanışlı bir parametre olabileceğini düşündürmektedir.

İshallerde çocuklarda FCalp düzeylerinin, bakteriyel ve viral kökenli ishallerde vakaları birbirinden ayırmada güçlü bir indikatör olabileceği çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (Chen et al., 2012; Duman ve diğerleri, 2015; Paulauskaite, Eidukaite & Orentaite, 2020). Bu çalışmalarda özellikle *E. coli*'nin neden olduğu ishallerde; rotavirus, norovirus, arbovirus gibi viral etiyolojilerin neden olduğu ishallerden ayırımının FCalp ölçümleri ile yapılabileceği vurgulanmaktadır. Sunulan çalışmada enfektif ishallerde buzağılarda etiyolojik çeşitliliğine göre gruplandırıldığı 0. gün FCalp düzeyi kıyaslamalarında, bu gruplar arasında istatistiksel farklar saptandı (P = 0,008). En belirgin farkın *E. coli* grubu ile viral grup arasında (P = 0,001) olduğu belirlendi (**Tablo 10**). Çocuklarda yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçların çalışmamızdaki bu etiyolojik kıyaslamalarda da bulunduğu görülmektedir. Rotavirus ve coronavirus enfeksiyonlarında, bağırsaktaki inflamasyonun kendini sınırlayıcı ve lokal karakterde gelişmekte ve olgun enterosit hasarı oluşmaktadır. *E. coli* enfeksiyonlarında ise bakterinin K99 fimbria yapısının immatür kriptom hücrelerine yapışması, doğrudan bu epitel hücrelerin parçalanması, ardından ortaya çıkan LPS yapıları ve heat-stable toksin üretilmesi neticesinde bağırsakta şekillenen inflamasyon daha şiddetli gelişmektedir (Foster ve Smith, 2009; Moxley ve Smith, 2010). Çalışmamızda 0. günde hem toplam *E. coli* grubunun hem de septisemik *E. coli* grubunun dışkı skoru, vücut sıcaklığı, emme refleksi gibi önemli klinik parametrelerinin viral gruba göre çok daha şiddetli olması da inflamasyonun şiddetini ve dolayısıyla artan FCalp konsantrasyonlarının daha yüksek olmasını açıklamaktadır. Ayrıca *E. coli* grubunda 0.

günde ölçülen FCalp düzeyleri ile dışkı skoru arasında da bulunan pozitif korelasyon bu hipotezi desteklemektedir (R = 0,650, P = 0,03). Bakteriyel kökenli enfektif ishallerdeki benzer FCalp artışları, Lam et al. (2014) tarafından yapılan çalışmada da görülmekte, bakteriyel enfeksiyonlarda özellikle bağırsak epitellerinden salınan ve nötrofilin primer uyarıcı olan interlökin-8 (IL-8)'in, bağırsak mukozasında nötrofilik infiltratları artıracakını, artan FCalp konsantrasyonlarının da hem bu nötrofillerin mukozaya saldığı serbest calprotectinden hem de doku hasarı neticesinde bağırsak epitellerinden açığa çıkan calprotectinden ileri geldiğini belirtmektedir. Buna ek olarak rotavirus enfeksiyonlarında bağırsakta gelişen inflamatuvar yanıtta major rolün CD8+ ve Ig üreten B hücre bağımlı olduğu belirtilmektedir (Neog, Barman, Bora, Dey & Chakraborty, 2011). Çalışmamızda *E. coli* ve viral kökenli ishallerin 0. gün FCalp düzeyleri açısından prediktif ayrımının belirlenmesi amacıyla yapılan ROC analizlerinde cut-off değerinin $\leq 93,26$ ng/ml olduğu ve sensitivite ve spesifite oranlarının sırası ile % 57,9 ve % 100 olduğu (AUC: 0,848, %95CI: 0,66 – 0,95, Youden's J: 0,578, P < 0,001) görülmektedir. Bu sonuçlar ışığında, belirlenen cut-off değeri ile FCalp'ın bakteriyel ishalleri ayırt etme gücünün, sensitivite değeri çok yüksek bulunmamış olsa da, anlamlı olduğunu düşündürmektedir.

Ayrıca çalışmamızda 0. gün'de ortalama FCalp düzeyleri incelendiğinde *E. coli* grubu ile *C. parvum* grubu arasında da istatistiksel fark görülmektedir (P = 0,04). Ancak *C. parvum* grubunun 0.gün ortalama FCalp düzeyleri ile kontrol grubunun 0.gün FCalp düzeyleri arasında istatistiksel fark bulunmamaktadır. Bu durum *C. parvum* enfeksiyonlarında bağırsakta gelişen akut inflamatuvar yanıtın şiddetinin *E. coli* ve viral gruba kıyasla daha ılımlı seyrettiği, ve FCalp'ın ancak 7. günde ölçülen değerlerinde yükselme olduğu görülmektedir. Calprotectin, primer olarak doğrudan nötrofil popülasyonuna bağlı olarak artış göstermektedir (Heilmann et al., 2018). *C. parvum* enfeksiyonlarında, *E. coli* enfeksiyonlarındakine benzer şekilde bağırsak epitellerinden salınan IL-8 ve TNF alfa gibi sitokinler neticesinde bağırsak mukozasında ve lümende nötrofil, makrofaj gibi infiltrat popülasyonu artmakta ancak *C. parvum* etkeninin elimine edilmesinde CD4+ ve CD8+ gibi T-lenfositlerin başrolde olduğu hücrel bir savunma mekanizması olduğu belirtilmektedir (Deng, Rutherford & Abrahamsen, 2004; Wyatt et al., 1997; Wyatt, Riggs & Fayer, 2010). Buna ek olarak *C. parvum* etkeninin elimine

edilmesinde humoral bağıışıklığın da rol alabildiği, enfeksiyonu atlatan buzağılarda 7 gün sonra bile dışkıda *C. parvum* spesifik IgG suppoplasyonlarına rastlanıldığı rapor edilmektedir (Wyatt, Brackett, Masoni Savidge & Perryman, 2000). Bu bilgiler temelinde *C. parvum* enfeksiyonlarında bağırsakta gelişen inflamatuvar yanıtın *E. coli* ve viral enfeksiyonlara kıyasla daha geç şekillenebildiği, oluşan hüresel yanıtta nötrofillerden ziyade T lenfositlerin başrolde olduğu ngrs FCalp düzeylerindeki artışın daha geç şekillendiği ve artışların ancak 7. günde gözlemlenmesini rasyonel kılmaktadır. Gerek insan hekimliğinde gerekse de veteriner hekimliğinde *Cryptosporidium* spp. ve FCalp ilişkisinin irdelendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bununla birlikte, insanlarda gözlenen *Giardia* spp. ve *Entamoeba* spp. enfeksiyonlarında FCalp düzeyleri irdelenmiş, iki patojenin de etkili olduğu enfeksiyonlarda FCalp düzeylerinde artış saptanmış ancak bu çalışmalarda FCalp düzeyleri tedavi öncesi ve sonrası olacak şekilde tekrarlı ölçülmemiştir (Al-Salehy & Mohammad, 2020; Sorokman et al., 2019). Diğer taraftan, *C. parvum* ile enfekte buzağıların SAA düzeylerinde istatistiki olarak önemli olmayan hafif bir azalmanın varlığı dikkat çekicidir. Bununla birlikte, bu hayvanlarda 0 ve 7. gündeki düzeylerin kontrol grubundaki buzağılara göre çok yüksek olduğu görülmekte, dolayısıyla bu durumun inflamatuvar sürecin halen devam etmesini belgelediği dşnlmektedir.

FCalp düzeylerinin ölçümleri, bahsedilen çeşitli hastalıkların tanısında kullanılmakla birlikte tedavi sonrası, tedavinin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla da ölçülmektedir (Burri, Beglinger, von Felten & Lehmann, 2015). Ülseratif kolit tanısı koyulmuş insanlarda, FCalp düzeyleri tedavi sonrasında ölçülmekte ve özellikle endoskopik muayeneler sonucunda bağırsak mukozasındaki morfolojik iyileşmeler ile FCalp düzeylerindeki düşüşler arasında güçlü istatistiki ilişki ortaya konmaktadır (Patel et al., 2017; Taghvaei et al., 2015). FCalp düzeyindeki tedavi sonrası düşüş IBD'li köpeklerde yapılan bir çalışmada da ortaya konmaktadır (Heilmann et al., 2018). Çalışmamızda ishalleri hayvanlara etiyoloji farketmeksizin trimetophrim / slfadiazine kombinasyonunu içeren antibiyotik tedavisi uygulandı. Trimetophrim / slfadoksin kombinasyonunu içeren antibiyotik preparatları, çok çeşitli Gram (–) ve Gram (+) kökenli bakteriyel ishaller başta olmak üzere enfektif ishalleri atlarda ve buzağılarda yaygın şekilde

kullanılmaktadır (Berchtold & Constable, 2009; Constable, 2004; van Duijkeren et al., 1996). Sunulan çalışmada, toplam ishallerin vakalarının (n=55) 0. ve 7. gün FCalp düzeyleri sırası ile 93,08 ng/ml ve 84,74 ng/ml olarak ölçüldü (P = 0,004). Benzer istatistiksel olarak anlamlı azalmalar, ishallerin etiyolojik olarak kategorize edildiği *E. coli* ve viral gruplarda da tespit edildi (P < 0.003, P < 0.03) (**Tablo 9**). Çalışmamızda tedavi sonrasında dışkı skoru, emme skoru, vücut sıcaklığı gibi klinik parametrelerin hepsinde 7. günde düzelmeler saptandı (**Tablo 5-6**). Bu klinik iyileşmelere paralel olarak FCalp düzeylerinde özellikle *E. coli* grubunda düşüşler saptanması bağırsaktaki inflamatuvar statünün antibakteriyel ilaç kullanımı ile giderildiğinin bir göstergesi olabilmektedir.

C. parvum ve *C. parvum* + viral (mix) gruplarında iki ölçüm zamanı arasında her ne kadar istatistiksel farklar bulunmasa da SCalp ve FCalp konsantrasyonlarının 7. günde, 0. güne kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir (**Tablo 9**). Yukarıda detaylı bahsedilen ve *C. parvum* enfeksiyonlarında bağırsakta daha geç şekillenmiş olabilen inflamatuvar yanıt neticesinde FCalp düzeylerinde iki ölçüm günü arasında fark saptanmamış olabilmektedir. Buna ek olarak çalışmamızda, *C. parvum* pozitif vakalar halofuginon laktat ile 7 gün boyunca tedavi edilmiş ve 7. günde yapılan klinik muayenelerde özellikle dışkı skoru, emme refleksi gibi parametrelerin düzeldiği saptanmıştır. Ancak yapılan bazı çalışmalarda halofuginon laktatın klinik iyileşmeye katkı sağladığı fakat ookist saçılımını azaltmadığı veya ilaç kesildikten sonra azalanan ookist saçılımının tekrar arttığını rapor etmektedir. Bu araştırmacılar halofuginonun cryptosporidostatik olduğunu ancak ookistleri öldürmediğini belirtmektedir (Foster & Smith, 2009; Lallemond et al., 2006; Lefay, Naciri, Poirier & Chermette, 2001; Naciri, Mancassola, Yvore & Peeters, 1993). Çalışmamızda *C. parvum* teşhisi, 0. günde hızlı teşhis kitiyle yapılırken 0. ve 7. günlerde dışkıda ookist sayımları da yapılarak teşhis konfirme edildi. *C. parvum* ve mix gruplarında 7. gün ookist sayımlarında 0. güne kıyasla azalmalar görülmüş olsa bile istatistiksel fark bulunamadı ve ookist sayılarının sıfırlanmadığı ve enfektif dozlarda seyrettiği görülmektedir. *C. parvum* ookistlerinin yalnızca 50 adetinin bile klinik enfeksiyonu başlatabileceği bildirilmektedir (Moore et al., 2003). Çalışmamızda, diğer çalışmalardaki sonuçlara paralel olarak tedavi ile birlikte ookist saçılımının yeterince azalmadığı ve bağırsakta re-enfeksiyon gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir. Bu durum

neticesinde bağırsaktaki ookistlerin varlığının sürmesi inflamatuvar yanıtın belli seviyelerde devam etmesine ve her iki grup için 7. gün FCalp düzeylerinin 0. gün düzeylerine yakın konsantrasyonlarda seyretmesini açıklayabilmektedir.

Sunulan çalışmada, SAA, SCalp ve FCalp düzeylerinin ikili korelatif kıyaslamalarında herhangi bir istatistiki fark elde edilmedi. GI semptom gösteren insanlarda CRP, SCalp ve FCalp düzeyleri arasında (McCann et al., 2017), IBD’li insanlarda ise FCalp ve SCalp arasında (Fukunaga et al., 2018) korelatif bir ilişki bulunamamıştır. Araştırmacılar FCalp’ın neredeyse tamamının bağırsak mukozasındaki nötrofil ve intestinal epitel hücrelerden lümeneye salındığı ve FCalp düzeylerinin SCalp düzeylerinden daha yüksek seyredebileceğini ayrıca sirkülasyondaki yangısal süreçte ortaya çıkan SCalp’ın yalnızca sirkülasyonda sınırla kalabileceğini belirtmekte, bu iki sebeple korelasyon bulunamamış olabileceği rapor etmektedir. Benzer durum Heilmann ve ark. (2018) IBD’li köpeklerde yaptığı çalışmada da belirtilmekte ve köpeklerde major akut faz proteini olan CRP ile FCalp arasında bir korelasyon saptanamamış, bu durumun bağırsakta gerçekleşen inflamatuvar sürecin sistemik inflamasyonla bir ilişkisi olamayacağından dolayı gelişmiş olabileceği belirtilmiştir. Çalışmamızda SCalp ve FCalp, her ne kadar ishallerde (n=55) anlamlı artışlar göstermiş olsa da iki parametre arasında bir korelasyon belirlenmemesi çeşitli araştırmacıların bulguları ile paralel olarak bağırsakta gelişen inflamasyonun sıklıkla kendini bağırsak mukozasında sınırlamasından dolayı kaynaklanmış olabilmektedir. Ancak her iki parametre açısından *E. coli* ve özellikle septisemik *E. coli* grubu göz önüne alındığında 0. günde ölçülen SCalp ve FCalp düzeylerinin diğer etiyolojik gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu artışın olası nedeni, *E. coli*’nin bağırsakta yarattığı inflamasyon neticesinde oluşan mukozal hasarı takiben *E. coli*’nin sirkülasyona transloke olarak LPS yapısı neticesinde sistemik inflamasyonu daha şiddetli uyarmasıdır. Özellikle klinik belirtiler ve pozitif dışkı kültürü neticesinde septisemi tanısı konulan *E. coli* vakalarında SCalp düzeylerinin diğer etiyolojik gruplara kıyasla daha yüksek seyretmesi de bu durumu destekler niteliktedir. *E. coli*’nin bağırsakta meydana getirdiği inflamatuvar tabloyla ilişkili olarak sistemik inflamasyonun da daha fazla tetiklenmiş olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, *C. parvum* ve *viral* gruplarında daha düşük seyreden SCalp ve FCalp düzeyleri

ele alındığında, bu etiyolojik gruplarda bağırsakta oluşan inflamatuvar sürecin yalnızca bağırsak mukozasında kendini sınırlamış olabileceği sonucu da ortaya çıkmaktadır.

Sonuç olarak, SCalp ve FCalp ile ilişkili olarak tarafımızca yapılan literatür değerlendirilmesinde daha önce veteriner hekimliğinde yalnızca kronik IBD'li köpeklerdeki çalışmalara rastlanıldı ve diğer hayvan türlerine ait çalışmaların olmadığı tespit edildi. Bu bağlamda elde edilen sonuçların literatüre yeni bir veri kazandırdığı düşünülmektedir. Sunulan çalışmanın sonuçları, SCalp ve FCalp düzeylerinin ishelli hayvanların teşhisinde önemli bir yangısal belirteç olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bakteriyel ile viral ishelli vakalar arasında yapılan ROC analizi sonuçlarına göre; bakteriyel enfeksiyonların ayırt edilmesi yönünde gerek SCalp gerekse de FCalp düzeylerinin kullanışlı olabileceği kanısı uyanmaktadır. Ayrıca özellikle yarı ömrünün kısa olması ve çalışma sonuçlarında septisemili *E.coli* vakalarında FCalp değerinin yüksek sensitiviteye sahip olmamakla birlikte istatistiki olarak anlamlı ROC analizi sonuçları ($P<0.001$), bu parametrenin septiseminin tanısında hassas bir parametre olarak kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır. Bu çalışmada, buzağılarda enfektif intestinal hastalıklarda, SCalp ve FCalp ile elde edilen verilerin ileride yapılacak çalışmalara ışık tutacağı, sahada kullanışlı bir parametre olarak yangısal sürecin monitarizasyonunda kullanılabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Aadland, E., & Fagerhol, M. K. (2002). Faecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 14, 823–825.
- Adams, R. B., Guerrant, R. L., Zu, S., Fang, G., & Roche, J. K. (1994). Cryptosporidium parvum Infection of Intestinal Epithelium: Morphologic and Functional Studies in an In Vitro Model. *Journal of Infectious Diseases*, 169(1), 170–177. <https://doi.org/10.1093/infdis/169.1.170>
- Ahmad Bhat, I., Bashir, S., I., Rather, W., Iqbal, Z., Kawa, M., Quadir, A., ... Dar, A.A. (2018). Acute Phase Proteins and their Clinical Significance in Veterinary Medicine: An Overview. *The Pharma Innovation Journal*, 7(1), 104–108.
- Ahmed, A. F., Constable, P. D., & Misk, N. A. (2002). Effect of feeding frequency and route of administration on abomasal luminal pH in dairy calves fed milk replacer. *Journal of Dairy Science*, 85(6), 1502–1508. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74219-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74219-7)
- Akyüz, E., Naseri, A., Erkılıç, E. E., Makav, M., Uzlu, E., Kırmızıgül, A. H., & Gökce, G. (2017). Neonatal Calf Diarrhea and Sepsis. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2), 181–191.
- Al-Majali, A. M., Asem, E. K., Lamar, C. H., Robinson, J. P., Freeman, M. J., & Saeed, A. M. (2000). Studies on the Mechanism of Diarrhoea Induced by Escherichia coli Heat-Stable Enterotoxin (STa) in Newborn Calves. *Veterinary Research Communications*, 24(5), 327–338. <https://doi.org/10.1023/A:1006444105846>
- Al-Salehy, Z. K. A., & Mohammad, Z. A. A. (2020). Relationship between fecal calprotectin and other immunological parameters in diarrheal children infected with entamoeba histolytica and pathogenic bacteria in thi-qar province, Iraq. *Plant Archives*, 20, 1089–1095.
- Al, M., & Balıkcı, E. (2012). Neonatal İshalli Buzağılarda Rotavirus , Coronavirus , E . coli K99 ve Cryptosporidium parvum'un Hızlı Test Kitleri ile Teşhisi ve Enteropatojen ile Maternal İmmünite İlişkisi. *Fırat Ün. Sağ. Bil Derg*, 26(2), 73–78.
- Al Mawly, J., Grinberg, A., Prattley, D., Moffat, J., Marshall, J., & French, N. (2015). Risk factors for neonatal calf diarrhoea and enteropathogen shedding in New Zealand dairy farms. *Veterinary Journal*, 203(2), 155–160. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.01.010>
- Anderson, B. C. (1998). Cryptosporidiosis in Bovine and Human Health. *Journal of Dairy Science*, 81(11), 3036–3041. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75868-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75868-0)

- Angus, K. W. (1983). Cryptosporidiosis in man, domestic animals and birds: A review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 76(1), 62–70. <https://doi.org/10.1177/014107688307600114>
- Apel, F., Zychlinsky, A., & Kenny, E. F. (2018). The role of neutrophil extracellular traps in rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, 14(8), 467–475. <https://doi.org/10.1038/s41584-018-0039-z>
- Argenzio, R. A., Liacos, J. A., Levy, M. L., Meuten, D. J., Lecce, J. G., & Powell, D. W. (1990). Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration, and impaired glucose-NA absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs. *Gastroenterology*, 98(5 PART 1), 1129–1140. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(90\)90325-U](https://doi.org/10.1016/0016-5085(90)90325-U)
- Ashraf, H., Beltinger, J., Alam, N. H., Bardhan, P. K., Faruque, A. S. G., Akter, J., Salam, M. A., & Gyr, N. (2007). Evaluation of faecal occult blood test and lactoferrin latex agglutination test in screening hospitalized patients for diagnosing inflammatory and non-inflammatory diarrhoea in Dhaka, Bangladesh. *Digestion*, 76(3–4), 256–261. <https://doi.org/10.1159/000113042>
- Aydogdu, U., Isik, N., Ekici, O. D., Yildiz, R., Sen, I., & Coskun, A. (2018). Comparison of the Effectiveness of Halofuginone Lactate and Paromomycin in the Treatment of Calves Naturally Infected with *Cryptosporidium parvum*. *Acta Scientiae Veterinariae*, 46(1), 9. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.81809>
- Ayling, R. M., & Kok, K. (2018). Fecal Calprotectin. In *Advances in Clinical Chemistry* (Vol. 87). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2018.07.005>
- Aytekin, İ., Kalinbacak, A., & Tayer, C. (2011). Ruminantlarda Kullanılan Aşılar ve Önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(1), 59–64.
- Balikci, E., & Al, M. (2014). Some serum acute phase proteins and immunoglobulins concentrations in calves with rotavirus, coronavirus, E. coli F5 and Eimeria species. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 15(4), 397–401.
- Ball, J. M., Tian, P., Zeng, C. Q. Y., Morris, A. P., & Estes, M. K. (1996). Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science*, 272(5258), 101–104. <https://doi.org/10.1126/science.272.5258.101>
- Bardhan, P. K., Beltinger, J., Beltinger, R. W., Hossain, A., Mahalanabis, D., & Gyr, K. (2000). Screening of Patients with Acute Infectious Diarrhoea: Evaluation of Clinical Features, Faecal Microscopy, and Faecal Occult Blood Testing. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 5521(3). <https://doi.org/10.1080/003655200750024533>
- Barrington, G. M., & Parish, S. M. (2001). Bovine neonatal immunology. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 17(3), 463–476. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30001-3](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30001-3)
- Bartáková, E., Štefan, M., Stráníková, A., Pospíšilová, L., Arientová, S., Beran, O., Blahutová, M., Máca, J., & Holub, M. (2019). Calprotectin and calgranulin C serum levels in bacterial sepsis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 93(3), 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.10.006>

- Basbug, O., Yurdakul, I., & Yuksel, M. (2020). Evaluation of serum amyloid a and procalcitonin in some inflammatory diseases of cattle. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 26(3), 397–402. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2019.23412>
- Bauer, T. M., Lalvani, a, Fehrenbach, J., Steffen, I., Aponte, J. J., Segovia, R., Vila, J., Philippczik, G., Steinbrückner, B., Frei, R., Bowler, I., & Kist, M. (2001). Derivation and validation of guidelines for stool cultures for enteropathogenic bacteria other than *Clostridium difficile* in hospitalized adults. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 285(3), 313–319. <https://doi.org/10.1001/jama.285.3.313>
- Bendali, F., Sanaa, M., Bichet, H., & Schelcher, F. (1999). Risk factors associated with diarrhoea in newborn calves. *Veterinary Research*, 30(5–6), 509–522.
- Berchtold, J. F., & Constable, P. D. (2009). Antibiotic treatment of diarrhea in preweaned calves. *Current Veterinary Therapy, January*, 520–525. <https://doi.org/10.1016/B978-141603591-6.10103-4>
- Besser, T. E., Gay, C. C., & Pritchett, L. (1991). Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 198(3), 419–422. [https://doi.org/10.1016/0304-3762\(80\)90138-8](https://doi.org/10.1016/0304-3762(80)90138-8)
- Bewley, J., Palmer, R. W., & Jackson-Smith, D. B. (2001). A comparison of free-stall barns used by modernized Wisconsin dairies. *Journal of Dairy Science*, 84(2), 528–541. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74504-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74504-3)
- Bhandari, V. (2014). Effective biomarkers for diagnosis of neonatal sepsis. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 3(3), 234–245. <https://doi.org/10.1093/jpids/piu063>
- Blanchard, P. C. (2012). Diagnostics of Dairy and Beef Cattle Diarrhea. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 28(3), 443–464. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.07.002>
- Bozukluhan, K., Merhan, O., Ogun, M., Kurt, B., Cihan, M., Erkilic, E. E., Gokce, G., Aydin, U., & Ozcan, A. (2018). Investigation of haptoglobin, serum amyloid A, and some biochemical parameters in calves with omphalitis. *Veterinary World*, 11(8), 1055–1058. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1055-1058>
- Brar, A. P. S., Ahuja, C. S., Sood, N. K., Sandhu, B. S., & Gupta, K. (2015). Hematological changes in neonatal diarrheic calves of different age groups. *Indian Journal of Veterinary Pathology*, 39(1), 73. <https://doi.org/10.5958/0973-970x.2015.00016.4>
- Brodsky, I. E., & Medzhitov, R. (2009). Targeting of immune signalling networks by bacterial pathogens. *Nature Cell Biology*, 11(5), 521–526.
- Burri, E., Beglinger, C., von Felten, S., & Lehmann, F. S. (2015). Fecal Calprotectin and the Clinical Activity Index Are Both Useful to Monitor Medical Treatment in Patients with Ulcerative Colitis. *Digestive Diseases and Sciences*, 60(2), 485–491. <https://doi.org/10.1007/s10620-014-3383-0>
- Campeotto, F., Kalach, N., Lapillonne, A., Butel, M. J., Dupont, C., & Kapel, N. (2007). Time course of faecal calprotectin in preterm newborns during the first month of life.

- Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, 96(10), 1531–1533.
<https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2007.00457.x>
- Canani, R. B., Terrin, G., Passariello, A., Manguso, F., Salvia, G., Rapacciuolo, L., Messina, F., & Raimondi, F. (2011). Serum calprotectin: An antimicrobial peptide as a new marker for the diagnosis of sepsis in very low birth weight newborns. *Clinical and Developmental Immunology*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/291085>
- Ceciliani, F., Ceron, J. J., Eckersall, P. D., & Sauerwein, H. (2012). Acute phase proteins in ruminants. *Journal of Proteomics*, 75(14), 4207–4231.
<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.004>
- Ceciliani, Fabrizio, Giordano, A., & Spagnolo, V. (2005). The Systemic Reaction During Inflammation: The Acute-Phase Proteins. *Protein & Peptide Letters*, 9(3), 211–223.
<https://doi.org/10.2174/0929866023408779>
- Cerón, J. J., Eckersall, P. D., & Martínez-Subiela, S. (2005). Acute phase proteins in dogs and cats: Current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, 34(2), 85–99. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2005.tb00019.x>
- Chae, J. B., Park, J., Jung, S. H., Kang, J. H., Chae, J. S., & Choi, K. S. (2019). Acute phase response in bovine coronavirus positive post-weaned calves with diarrhea. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 61(1), 3–7. <https://doi.org/10.1186/s13028-019-0471-3>
- Chalmers, R. M., Smith, R., Elwin, K., Clifton-Hadley, F. A., & Giles, M. (2011). Epidemiology of anthroponotic and zoonotic human cryptosporidiosis in England and Wales, 2004-2006. *Epidemiology and Infection*, 139(5), 700–712.
<https://doi.org/10.1017/S0950268810001688>
- Chase, C. C. L. (2018). Enteric Immunity: Happy Gut, Healthy Animal. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 34(1), 1–18.
<https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.10.006>
- Chen, C. C., Huang, J. L., Chang, C. J., & Kong, M. S. (2012). Fecal calprotectin as a correlative marker in clinical severity of infectious diarrhea and usefulness in evaluating bacterial or viral pathogens in children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 55(5), 541–547.
<https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318262a718>
- Chen, K., Chen, H., Luo, J., Zeng, C., Dong, X., Zhou, M., & Liu, C. (2020). The prophylactic effect of bovine colostrum on respiratory infection and diarrhea in formula-fed infants: a randomized trial. *Research Square*, 1–22.
<https://doi.org/10.21203/rs.2.20117/v1>
- Cho, Y. Il, Han, J. I., Wang, C., Cooper, V., Schwartz, K., Engelken, T., & Yoon, K. J. (2013). Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. *Veterinary Microbiology*, 166(3–4), 375–385.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.07.001>
- Cho, Y. il, & Yoon, K. J. (2014). An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, 15(1), 1–17.
<https://doi.org/10.4142/jvs.2014.15.1.1>

- Constable, P. D. (2004). Antimicrobial Use in the Treatment of Calf Diarrhea. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(1), 8–17. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2004\)18<8:AUITTO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2004)18<8:AUITTO>2.0.CO;2)
- Constable, P. D. (2009). Treatment of Calf Diarrhea: Antimicrobial and Ancillary Treatments. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 25(1), 101–120. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.012>
- Cortese, V. S. (2009). Neonatal Immunology. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 25(1), 221–227. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.003>
- Costa, F., Mumolo, M. G., Bellini, M., Romano, M. R., Ceccarelli, L., Arpe, P., Sterpi, C., Marchi, S., & Maltinti, G. (2003). Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation. *Digestive and Liver Disease*, 35(9), 642–647. [https://doi.org/10.1016/S1590-8658\(03\)00381-5](https://doi.org/10.1016/S1590-8658(03)00381-5)
- Cury, D. B., Mizsputen, S. J., Versolato, C., Mijji, L. O., Pereira, E., Delboni, M. A., Schor, N., & Moss, A. C. (2013). Serum calprotectin levels correlate with biochemical and histological markers of disease activity in TNBS colitis. *Cellular Immunology*, 282(1), 66–70. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2013.04.004>
- Cuttance, E. L., Mason, W. A., Denholm, K. S., & Laven, R. A. (2017). Comparison of diagnostic tests for determining the prevalence of failure of passive transfer in New Zealand dairy calves. *New Zealand Veterinary Journal*, 65(1), 6–13. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1230525>
- De Graaf, D. C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L. M., Abbassi, H., & Peeters, J. E. (1999). A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal for Parasitology*, 29(8), 1269–1287. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(99\)00076-4](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00076-4)
- de Graaf, D., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L., Abbassi, H., & Peeters, J. (1999). A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International Journal of Parasitology*, 29, 1269–1287.
- De La Fuente, R., Luzón, M., Ruiz-Santa-Quiteria, J. A., García, A., Cid, D., Orden, J. A., García, S., Sanz, R., & Gómez-Bautista, M. (1999). Cryptosporidium and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Veterinary Parasitology*, 80(3), 179–185. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(98\)00218-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(98)00218-0)
- Dean-Nystrom, E. A., Bosworth, B. T., Cray, W. C., & Moon, H. W. (1997). Pathogenicity of Escherichia coli O157:H7 in the intestines of neonatal calves. *Infection and Immunity*, 65(5), 1842–1848.
- Decembrino, L., De Amici, M., Pozzi, M., De Silvestri, A., & Stronati, M. (2015). Serum Calprotectin: A Potential Biomarker for Neonatal Sepsis. *Journal of Immunology Research*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/147973>
- Deng, M., Rutherford, M. S., & Abrahamsen, M. S. (2004). Host intestinal epithelial response to Cryptosporidium parvum. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(6), 869–884. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.034>

- Deng, Y., Batten, C. A., Liu, B. L., Lambden, P. R., Elschner, M., Günther, H., ... Clarke, I. N. (2003). Studies of epidemiology and seroprevalence of bovine Noroviruses in Germany. *Journal of Clinical Microbiology*, *41*(6), 2300–2305. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.6.2300-2305.2003>
- Donovan, G. A., Dohoo, I. R., Montgomery, D. M., & Bennett, F. L. (1998). Calf and disease factors affecting growth in female Holstein calves in Florida, USA. *Preventive Veterinary Medicine*, *33*(1–4), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(97\)00059-7](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(97)00059-7)
- Duman, M., Gencpinar, P., Biçmen, M., Arslan, N., Özden, Ö., Üzümlü, Ö., ... Gülay, Z. (2015). Fecal calprotectin: Can be used to distinguish between bacterial and viral gastroenteritis in children? *American Journal of Emergency Medicine*, *33*(10), 1436–1439. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2015.07.007>
- Eckersall, P. D., & Bell, R. (2010). Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Veterinary Journal*, *185*(1), 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.04.009>
- El-Seedy, F. R., Abed, A. H., Yanni, H. A., & Abd El-Rahman, S. A. A. (2016). Prevalence of Salmonella and E.coli in neonatal diarrheic calves. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, *5*(1), 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2015.11.010>
- Elitok, Ö. M., & Elitok, B. (2016). Parenteral Applications of Colostrum Serums in Treatment and Prevention of Neonatal Calf Diarrhea. *Kocatepe Veterinary Journal*, *9*(3), 211–214. <https://doi.org/10.5578/kvj.24243>
- Erkiliç, E. E., Merhan, O., Kirmizigül, A. H., Öğün, M., Akyüz, E., & Çitil, M. (2019). Salivary and serum levels of serum amyloid A, haptoglobin, ceruloplasmin and albumin in neonatal calves with diarrhoea. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *25*(4), 583–586. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.21424>
- Fearon, D. T., & Locksley, R. M. (1996). The instructive role of innate immunity in the acquired immune response. *Science*, *272*(5258), 50–54. <https://doi.org/10.1126/science.272.5258.50>
- Fecteau, G., Paré, J., Van Metre, D. C., Smith, B. P., Holmberg, C. A., Guterbock, W., & Jang, S. (1997). Use of a clinical sepsis score for predicting bacteremia in neonatal dairy calves on a calf rearing farm. *Canadian Veterinary Journal*, *38*(2), 101–104.
- Fecteau, G., Smith, B. P., & George, L. W. (2009). Septicemia and Meningitis in the Newborn Calf. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, *25*(1), 195–208. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.004>
- Fenner, F., MacLachlan, N.J., & Dubovi, E.J. (2011). *Fenner's Veterinary Virology*, 4th ed, Burlington: Academic Press, p. 288–290 and 394–398.
- Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M., Chanock, R.M., Melnick, J.L., Monath, T.P., Roizman, B., & Straus, S.E. 1995. *Fields Virology*, 3rd ed, Philadelphia: Lippincott-Raven, p.1625-1708.
- Fischer, P., Taraschewski, H., Ringelmann, R., & Eing, B. (1998). Detection of

- Cryptosporidium parvum in human feces by PCR. *Tokai Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 23(6), 309–311.
- Fluss, R., Faraggi, D., & Reiser, B. (2005). Estimation of the Youden Index and its associated cutoff point. *Biometrical Journal*, 47(4), 458–472. <https://doi.org/10.1002/bimj.200410135>
- Foster, D. M., & Smith, G. W. (2009). Pathophysiology of Diarrhea in Calves. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 25(1), 13–36. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.013>
- Fournier, T., Medjoubi-N, N., & Porquet, D. (2000). Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1482(1–2), 157–171. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(00\)00153-9](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(00)00153-9)
- Fries, P. N., Popowych, Y. I., Guan, L. L., & Griebel, P. J. (2011). Age-related changes in the distribution and frequency of myeloid and T cell populations in the small intestine of calves. *Cellular Immunology*, 271(2), 428–437. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2011.08.012>
- Fukunaga, S., Kuwaki, K., Mitsuyama, K., Takedatsu, H., Yoshioka, S., Yamasaki, H., ... Torimura, T. (2018). Detection of calprotectin in inflammatory bowel disease: Fecal and serum levels and immunohistochemical localization. *International Journal of Molecular Medicine*, 41(1), 107–118. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3244>
- Gånheim, C., Hultén, C., Carlsson, U., Kindahl, H., Niskanen, R., & Waller, K. P. (2003). The acute phase response in calves experimentally infected with bovine viral diarrhoea virus and/or Mannheimia haemolytica. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 50(4), 183–190. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0450.2003.00658.x>
- Gånheim, Charina, Alenius, S., & Persson Waller, K. (2007). Acute phase proteins as indicators of calf herd health. *Veterinary Journal*, 173(3), 645–651. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.01.011>
- Giannella, R. A., & Mann, E. A. (2003). E. coli heat-stable enterotoxin and guanylyl cyclase C: new functions and unsuspected actions. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*, 114, 67–86.
- Godden, S. (2008). Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 24(1), 19–39. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.005>
- Godden, S. M., Lombard, J. E., & Woolums, A. R. (2019). Colostrum Management for Dairy Calves. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 35(3), 535–556. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.005>
- Godson, D. L., Campos, M., Attah-Poku, S. K., Redmond, M. J., Cordeiro, D. M., Sethi, M. S., Harland, R. J., & Babiuk, L. A. (1996). Serum haptoglobin as an indicator of the acute phase response in bovine respiratory disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 51(3–4), 277–292. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(95\)05520-7](https://doi.org/10.1016/0165-2427(95)05520-7)
- Golin-Bisello, F., Bradbury, N., & Ameen, N. (2005). STa and cGMP stimulate CFTR

- translocation to the surface of villus enterocytes in rat jejunum and is regulated by protein kinase G. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 289(3 58-3), 708–716. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00544.2004>
- Gomes, T. A. T., Elias, W. P., Scaletsky, I. C. A., Guth, B. E. C., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M. F., Ferreira, L. C. S., & Martinez, M. B. (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 3–30. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015>
- Gonzalez, M. D., Wilen, C. B., & Burnham, C. A. D. (2015). Markers of Intestinal Inflammation for the Diagnosis of Infectious Gastroenteritis. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(2), 333–344. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.001>
- Grellet, A., Heilmann, R. M., Lecoindre, P., Feugier, A., Day, M. J., Peeters, D., ... Steiner, J. M. (2013). Fecal calprotectin concentration in adult dogs with chronic diarrhea. *American Journal of Veterinary Research*, 74(5), 706–711.
- Grellet, A., Mila, H., Heilmann, R. M., Feugier, A., Gruetzner, N., Suchodolski, J. S., Steiner, J. M., & Chastant-Maillard, S. (2014). Effect of age, gestation and lactation on faecal IgA and calprotectin concentrations in dogs. *Journal of Nutritional Science*, 3(4), 1–5. <https://doi.org/10.1017/jns.2014.44>
- Gruys, E., Toussaint, M. J. M., Niewold, T. A., & Koopmans, S. J. (2005). Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal of Zhejiang University SCIENCE*, 6B(11), 1045–1056. <https://doi.org/10.1631/jzus.2005.B1045>
- Gulliksen, S. M., Lie, K. I., Løken, T., & Østerås, O. (2009). Calf mortality in Norwegian dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2782–2795. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1807>
- Hagiwara, K., Kataoka, S., Yamanaka, H., Kirisawa, R., & Iwai, H. (2000). Detection of cytokines in bovine colostrum. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 76(3–4), 183–190. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(00\)00213-0](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(00)00213-0)
- Hajimohammadi, A., Nazifi, S., Ansari-Lari, M., Khoshmanzar, M. R., & Bigdeli, S. M. (2013). Identifying relationships among acute phase proteins (haptoglobin, serum amyloid A, fibrinogen, ceruloplasmin) and clinical findings in dairy calf diarrhea. *Comparative Clinical Pathology*, 22(2), 227–232. <https://doi.org/10.1007/s00580-011-1390-5>
- Hall, G. A., Reynolds, D. J., Chanter, N., Morgan, J. H., Parsons, K. R., Debney, T. G., Bland, A. P., & Bridger, J. C. (1985). Dysentery Caused by *Escherichia coli* (S102-9) in Calves: Natural and Experimental Disease. *Veterinary Pathology*, 22(2), 156–163. <https://doi.org/10.1177/030098588502200210>
- Hari-Dass, R., Shah, C., Meyer, D. J., & Raynes, J. G. (2005). Serum amyloid A protein binds to outer membrane protein A of gram-negative bacteria. *Journal of Biological Chemistry*, 280(19), 18562–18567. <https://doi.org/10.1074/jbc.M500490200>
- Harp, J. A., Woodmansee, D. B., & Moon, H. W. (1990). Resistance of calves to *Cryptosporidium parvum*: Effects of age and previous exposure. *Infection and Immunity*, 58(7), 2237–2240.

- Heegaard, P. M. H., Godson, D. L., Toussaint, M. J. M., Tjørnehøj, K., Larsen, L. E., Viuff, B., & Rønsholt, L. (2000). The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 77(1–2), 151–159. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(00\)00226-9](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(00)00226-9)
- Heilmann, R. M., Berghoff, N., Mansell, J., Grützner, N., Parnell, N. K., Gurtner, C., Suchodolski, J. S., & Steiner, J. M. (2018). Association of fecal calprotectin concentrations with disease severity, response to treatment, and other biomarkers in dogs with chronic inflammatory enteropathies. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(2), 679–692. <https://doi.org/10.1111/jvim.15065>
- Heilmann, R. M., Guard, M. M., Steiner, J. M., Suchodolski, J. S., & Unterer, S. (2017). Fecal markers of inflammation, protein loss, and microbial changes in dogs with the acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 27(5), 586–589. <https://doi.org/10.1111/vec.12636>
- Heilmann, R. M., Jergens, A. E., Ackermann, M. R., Barr, J. W., Suchodolski, J. S., & Steiner, J. M. (2012). Serum calprotectin concentrations in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *American Journal of Veterinary Research*, 73(12), 1900–1907. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.12.1900>
- Heilmann, R. M., & Steiner, J. M. (2018). Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(5), 1495–1508. <https://doi.org/10.1111/jvim.15247>
- Herrera, O. R., Christensen, M. L., & Helms, R. A. (2016). Calprotectin: Clinical applications in pediatrics. *Journal of Pediatric Pharmacology and Therapeutics*, 21(4), 308–321. <https://doi.org/10.5863/1551-6776-21.4.308>
- Hogan, I., Doherty, M., Fagan, J., Kennedy, E., Conneely, M., Brady, P., Ryan, C., & Lorenz, I. (2015). Comparison of rapid laboratory tests for failure of passive transfer in the bovine. *Irish Veterinary Journal*, 68(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13620-015-0047-0>
- Holland, R. E. (1990). Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 3(4), 345–375.
- Horadagoda, N.U., Knox, K.M.G., Gibbs, H.A., Reid, W.J., Horadagoda, A., Edwards, S.E.R., & Eckersall, P.D. (1999). Acute phase proteins in cattle: Discrimination between acute and chronic inflammation. *The Veterinary Record*, 144(16), 437–441.
- Hudault, S., Guignot, J., & Servin, A. L. (2001). Escherichia coli strains colonising the gastrointestinal tract protect germfree mice against Salmonella typhimurium infection. *Gut*, 49(1), 47–55. <https://doi.org/10.1136/gut.49.1.47>
- Izzo, M. M., Kirkland, P. D., Mohler, V. L., Perkins, N. R., Gunn, A. A., & House, J. K. (2011). Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Australian Veterinary Journal*, 89(5), 167–173. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2011.00692.x>
- Jang, H. J., Han, J. I., Kang, H. M., & Na, K. J. (2015). Development of a panel of multiplex real-time polymerase chain reaction assays for simultaneous detection of

- canine enteric bacterial pathogens. *Journal of Veterinary Clinics*, 32(2), 154–157. <https://doi.org/10.17555/jvc.2015.04.32.2.154>
- Jawor, P., Steiner, S., Stefaniak, T., Baumgartner, W., & Rzasa, A. (2008). Determination of selected acute phase proteins during the treatment of limb diseases in dairy cows. *Veterinarni Medicina*, 53(4), 173–183.
- Kabu, M. (2016). Determining Serum Haptoglobin and Cytokine Concentrations in Diarrheic Calves Determining Serum Haptoglobin and Cytokine Concentrations in Diarrheic Calves. *Ciencia Rural*, 46(2), 293-299.
- Kalla, R., Kennedy, N. A., Ventham, N. T., Boyapati, R. K., Adams, A. T., Nimmo, E. R., ... Satsangi, J. (2016). Serum Calprotectin: A Novel Diagnostic and Prognostic Marker in Inflammatory Bowel Diseases. *American Journal of Gastroenterology*, 111(12), 1796–1805. <https://doi.org/10.1038/ajg.2016.342>
- Kampen, A. H., Olsen, I., Tollersrud, T., Storset, A. K., & Lund, A. (2006). Lymphocyte subpopulations and neutrophil function in calves during the first 6 months of life. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113(1–2), 53–63. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.04.001>
- Kasap, S., Temizel, E. M., Akgül, G., & Şentürk, S. (2018). 0-6 Aylık Buzağlarda Bulaşıcı Hastalıkların Azaltılması ve Sonuçları için Pratik Saha Uygulamaları. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(1), 102–107. <https://doi.org/10.31196/huvfd.470976>
- Klein Klouwenberg, P., & Bont, L. (2008). Neonatal and infantile immune responses to encapsulated bacteria and conjugate vaccines. *Clinical and Developmental Immunology*, 2008. <https://doi.org/10.1155/2008/628963>
- Koudela, B., & Jiří, V. (1997). Experimental cryptosporidiosis in kids. *Veterinary Parasitology*, 71(4), 273–281. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00024-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00024-1)
- Krysko, D. V., Agostinis, P., Krysko, O., Garg, A. D., Bachert, C., Lambrecht, B. N., & Vandenabeele, P. (2011). Emerging role of damage-associated molecular patterns derived from mitochondria in inflammation. *Trends in Immunology*, 32(4), 157–164. <https://doi.org/10.1016/j.it.2011.01.005>
- Lallemond, M., Villeneuve, A., Belda, J., & Dubreuil, P. (2006). Field study of the efficacy of halofuginone and decoquinone in the treatment of cryptosporidiosis in veal calves. *Veterinary Record*, 159(20), 672–677. <https://doi.org/10.1136/vr.159.20.672>
- Lam, Y. A., Warouw, S. M., Wahani, A. M. I., Manoppo, J. I. C., & Salendu, P. M. (2014). Correlation between gut pathogens and fecal calprotectin levels in young children with acute diarrhea. *Paediatrica Indonesiana*, 54(4), 193. <https://doi.org/10.14238/pi54.4.2014.193-7>
- Langhorst, J., Elsenbruch, S., Koelzer, J., Rueffer, A., Michalsen, A., & Dobos, G. J. (2008). Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: Performance of fecal lactoferrin, calprotectin, and PMN-elastase, CRP, and clinical indices. *American Journal of Gastroenterology*, 103(1), 162–169. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2007.01556.x>

- Langoni, H., Linhares, A. C., Avila, F. A. de, Da Silva, A. V., & Elias, A. O. (2004). Contribution to the study of diarrhea etiology in neonate dairy calves in São Paulo state, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 41(5), 313–319. <https://doi.org/10.1590/s1413-95962004000500004>
- Larson, R. L., & Tyler, J. W. (2005). Reducing calf losses in beef herds. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 21(2), 569–584. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2005.02.009>
- Larson, R. L., Tyler, J. W., Schultz, L. G., Tessman, R. K., & Hostetler, D. E. (2004). Management strategies to decrease calf death losses in beef herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(1), 42–48. <https://doi.org/10.2460/javma.2004.224.42>
- Larsson, B., Niskanen, R., & Alenius, S. (1994). Natural infection with bovine virus diarrhoea virus in a dairy herd: A spectrum of symptoms including early reproductive failure and retained placenta. *Animal Reproduction Science*, 36(1–2), 37–48. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(94\)90052-3](https://doi.org/10.1016/0378-4320(94)90052-3)
- Leach, S. T., Yang, Z., Messina, I., Song, C., Geczy, C. L., Cunningham, A. M., & Day, A. S. (2007). Serum and mucosal S100 proteins, calprotectin (S100A8/S100A9) and S100A12, are elevated at diagnosis in children with inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 42(11), 1321–1331. <https://doi.org/10.1080/00365520701416709>
- LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., TenHag, J., Walton, J. S., & Johnson, W. H. (2002). The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85(6), 1416–1426. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74209-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74209-4)
- Lefay, D., Naciri, M., Poirier, P., & Chermette, R. (2001). Efficacy of halofuginone lactate in the prevention of cryptosporidiosis in suckling calves. *Veterinary Record*, 148(4), 108–112. <https://doi.org/10.1136/vr.148.4.108>
- Li, F., Ma, J., Geng, S., Wang, J., Liu, J., Zhang, J., & Sheng, X. (2015). Fecal Calprotectin Concentrations in Healthy Children Aged 1-18 Months. *Plos One*, 10(3), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119574>
- Li, F., Ma, J., Geng, S., Wang, J., Ren, F., & Sheng, X. (2014). Comparison of the different kinds of feeding on the level of fecal calprotectin. *Early Human Development*, 90(9), 471–475. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2014.06.005>
- Liebler-Tenorio, E. M., Riedel-Caspari, G., & Pohlenz, J. F. (2002). Uptake of colostral leukocytes in the intestinal tract of newborn calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 85(1–2), 33–40. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(01\)00404-4](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00404-4)
- Limburg, P. J., Ahlquist, D. A., Sandborn, W. J., Mahoney, D. W., Devens, M. E., Harrington, J. J., & Zinsmeister, A. R. (2000). Fecal calprotectin levels predict colorectal inflammation among patients with chronic diarrhea referred for colonoscopy. *American Journal of Gastroenterology*, 95(10), 2831–2837. [https://doi.org/10.1016/S0002-9270\(00\)01987-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9270(00)01987-0)
- Lofstedt, J., Dohoo, I. R., & Duizer, G. (1999). Model to predict septicemia in diarrheic

- calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 13(2), 81–88. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1999.tb01134.x>
- Loomans, H. J., Hahn, B. L., Li, Q., Phadnis, S. H., & Sohnle, P. G. (1998). Histidine-Based Zinc-Binding Sequences and the Antimicrobial Activity of Calprotectin. *The Journal of Infectious Diseases*, 177(3), 812–814. <https://doi.org/10.1086/517816>
- Lorenz, I. (2009). D-Lactic acidosis in calves. *Veterinary Journal*, 179(2), 197–203.
- Lorenz, Ingrid, Fagan, J., & More, S. J. (2011). Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Irish Veterinary Journal*, 64(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/2046-0481-64-9>
- Lorrot, M., Benhamadouche-Casari, H., & Vasseur, M. (2006). Mechanisms of net chloride secretion during rotavirus diarrhea in young rabbits: Do intestinal villi secrete chloride? *Cellular Physiology and Biochemistry*, 18(1–3), 103–112. <https://doi.org/10.1159/000095174>
- Lundborg, G. K., Svensson, E. C., & Oltenacu, P. A. (2005). Herd-level risk factors for infectious diseases in Swedish dairy calves aged 0-90 days. *Preventive Veterinary Medicine*, 68(2–4), 123–143. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2004.11.014>
- Mac Kenzie, W. R., Schell, W. L., Blair, K. A., Addiss, D. G., Peterson, D. E., Hoxie, N. J., Kazmierczak, J. J., & Davis, J. P. (1995). Massive outbreak of waterborne cryptosporidium infection in milwaukee, wisconsin: Recurrence of illness and risk of secondary transmission. *Clinical Infectious Diseases*, 21(1), 57–62. <https://doi.org/10.1093/clinids/21.1.57>
- MacQueen, B. C., Christensen, R. D., Yost, C. C., Lambert, D. K., Baer, V. L., Sheffield, M. J., ... Shepherd, J. G. (2016). Elevated fecal calprotectin levels during necrotizing enterocolitis are associated with activated neutrophils extruding neutrophil extracellular traps. *Journal of Perinatology*, 36(10), 862–869. <https://doi.org/10.1038/jp.2016.105>
- Maldonado-Contreras, A. L., & McCormick, B. A. (2011). Intestinal epithelial cells and their role in innate mucosal immunity. *Cell and Tissue Research*, 343(1), 5–12. <https://doi.org/10.1007/s00441-010-1082-5>
- Malik, S., Kumar, A., Verma, A. K., Gupta, M. K., Sharma, S. D., Kumar, A., & Rahal, A. (2013). Haematological Profile and Blood Chemistry in Diarrhoeic Calves affected with Colibacillosis. *Journal of Animal Health and Production*, 1(1), 10–14.
- Mayameei, A., Mohammadi, G., Yavari, S., Afshari, E., & Omid, A. (2010). Evaluation of relationship between Rotavirus and Coronavirus infections with calf diarrhea by capture ELISA. *Comparative Clinical Pathology*, 19(6), 553–557. <https://doi.org/10.1007/s00580-009-0920-x>
- Maynard, C. L., Elson, C. O., Hatton, R. D., & Weaver, C. T. (2012). Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature*, 489(7415), 231–241. <https://doi.org/10.1038/nature11551>
- McCann, R. K., Smith, K., & Gaya, D. R. (2017). A prospective single centre pilot

- evaluation of a serum calprotectin assay in unselected GI patients. *Clinical Biochemistry*, 50(9), 533–536. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.01.006>
- McDonald, T. L., Larson, M. A., Mack, D. R., & Weber, A. (2001). Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A 3 (M-SAA3) into colostrum. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 83(3–4), 203–211. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(01\)00380-4](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(01)00380-4)
- McGuirk, S. M. (2008). Disease Management of Dairy Calves and Heifers. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 24(1), 139–153. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.003>
- Medrano-Galarza, C., LeBlanc, S. J., Jones-Bitton, A., DeVries, T. J., Rushen, J., Marie de Passillé, A., Endres, M. I., & Haley, D. B. (2018). Associations between management practices and within-pen prevalence of calf diarrhea and respiratory disease on dairy farms using automated milk feeders. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 2293–2308. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13733>
- Mee, J. F. (2008). Newborn Dairy Calf Management. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 24(1), 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2007.10.002>
- Meuwis, M. A., Vernier-Massouille, G., Grimaud, J. C., Bouhnik, Y., Laharie, D., Piver, E., Seidel, L., Colombel, J. F., & Louis, E. (2013). Serum calprotectin as a biomarker for Crohn's disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, 7(12), e678–e683. <https://doi.org/10.1016/j.crohns.2013.06.008>
- Moore, D. A., Atwill, E. R., Kirk, J. H., Brahmabhatt, D., Alonso, L. H., Hou, L., Singer, M. D., & Miller, T. D. (2003). Prophylactic use of decoquinate for infections with *Cryptosporidium parvum* in experimentally challenged neonatal calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(6), 839–845. <https://doi.org/10.2460/javma.2003.223.839>
- Moore, M., Tyler, J. W., Chigerwe, M., Dawes, M. E., & Middleton, J. R. (2005). Effect of delayed colostrum collection on colostral IgF concentration in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(8), 1375–1377. <https://doi.org/10.2460/javma.2005.226.1375>
- Mosli, M. H., Zou, G., Garg, S. K., Feagan, S. G., MacDonald, J. K., Chande, N., Sandborn, W. J., & Feagan, B. G. (2015). C-reactive protein, fecal calprotectin, and stool lactoferrin for detection of endoscopic activity in symptomatic inflammatory bowel disease patients: A systematic review and meta-analysis. *American Journal of Gastroenterology*, 110(6), 802–819. <https://doi.org/10.1038/ajg.2015.120>
- Moxley, Rodney A., & Smith, D. R. (2010). Attaching-effacing *Escherichia coli* Infections in Cattle. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 26(1), 29–56. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.10.011>
- Muktar, Y., Mamo, G., Tesfaye, B., & Belina, D. (2015). A review on major bacterial causes of calf diarrhea and its diagnostic method. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 7(5), 173–185. <https://doi.org/10.5897/JVMAH2014>
- Muñoz, M., Lanza, I., Álvarez, M., & Cármenes, P. (1995). Prevalence of neutralizing antibodies to 9 rotavirus strains representing 7 G-serotypes in sheep sera. *Veterinary*

- Murata, H., Shimada, N., & Yoshioka, M. (2004). Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: An overview. *Veterinary Journal*, 168(1), 28–40. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9)
- Murray, C. F., Windeyer, M. C., Duffield, T. F., Haley, D. B., Pearl, D. L., Waalderbos, K. M., & Leslie, K. E. (2014). Associations of serum haptoglobin in newborn dairy calves with health, growth, and mortality up to 4 months of age. *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7844–7855. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8465>
- Naciri, M., Mancassola, R., Yvoré, P., & Peeters, J. E. (1993). The effect of halofuginone lactate on experimental *Cryptosporidium parvum* infections in calves. *Veterinary Parasitology*, 45(3–4), 199–207. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(93\)90075-X](https://doi.org/10.1016/0304-4017(93)90075-X)
- Nart, P., Naylor, S. W., Huntley, J. F., McKendrick, I. J., Gally, D. L., & Low, J. C. (2008). Responses of cattle to gastrointestinal colonization by *Escherichia coli* O157:H7. *Infection and Immunity*, 76(11), 5366–5372. <https://doi.org/10.1128/IAI.01223-07>
- Neog, B. K., Barman, N. N., Bora, D. P., Dey, S. C., & Chakraborty, A. (2011). Experimental infection of pigs with group a rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli* in India: Gross, histopathological and immunopathological study. *Veterinaria Italiana*, 47(2), 117–128.
- Ng, P. C., & Lam, H. S. (2006). Diagnostic markers for neonatal sepsis. *Current Opinion in Pediatrics*, 18(2), 125–131. <https://doi.org/10.1097/01.mop.0000193293.87022.4c>
- Niine, T., Dorbek-Kolin, E., Lassen, B., & Orro, T. (2018). *Cryptosporidium* outbreak in calves on a large dairy farm: Effect of treatment and the association with the inflammatory response and short-term weight gain. *Research in Veterinary Science*, 117, 200–208. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.12.015>
- Nisapakultorn, K., Ross, K. F., & Herzberg, M. C. (2001). Calprotectin expression inhibits bacterial binding to mucosal epithelial cells. *Infection and Immunity*, 69(6), 3692–3696. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.6.3692-3696.2001>
- O’Handley, R. M., & Olson, M. E. (2006). Giardiasis and Cryptosporidiosis in Ruminants. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 22(3), 623–643. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2006.07.002>
- O’Hara, S. P., & Chen, X. M. (2011). The cell biology of cryptosporidium infection. *Microbes and Infection*, 13(8–9), 721–730. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2011.03.008>
- O’Leary, J., Corcoran, D., & Lucey, B. (2009). Comparison of the EntericBio multiplex PCR system with routine culture for detection of bacterial enteric pathogens. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(11), 3449–3453. <https://doi.org/10.1128/JCM.01026-09>
- Ok, M., Yildiz, R., Hatipoglu, F., Baspinar, N., Ider, M., Üney, K., Ertürk, A., Durgut, M. K., & Terzi, F. (2020). Use of intestine-related biomarkers for detecting intestinal epithelial damage in neonatal calves with diarrhea. *American Journal of Veterinary*

- Olafsdottir, E., Aksnes, L., Fluge, G., & Berstad, A. (2002). Faecal calprotectin levels in infants with infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain and healthy children. *Acta Paediatrica*, 91(1), 45–50. <https://doi.org/10.1080/080352502753457932>
- Olson, M. E., O’Handley, R. M., Ralston, B. J., McAllister, T. A., & Thompson, R. C. A. (2004). Update on Cryptosporidium and Giardia infections in cattle. *Trends in Parasitology*, 20(4), 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2004.01.015>
- Orris, A. N. P. M. (1997). The Rv enterotoxin NSp4 mobilizes intracellular calcium in human intestinal cells by stimulating PLC. *Proceedings of the National Academy of Science of USA*, 94, 3960–3965.
- Orro, T., Jacobsen, S., LePage, J. P., Niewold, T., Alasuutari, S., & Soveri, T. (2008). Temporal changes in serum concentrations of acute phase proteins in newborn dairy calves. *Veterinary Journal*, 176(2), 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.02.010>
- Otoni, C. C., Heilmann, R. M., García-Sancho, M., Sainz, A., Ackermann, M. R., Suchodolski, J. S., Steiner, J. M., & Jergens, A. E. (2018). Serologic and fecal markers to predict response to induction therapy in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(3), 999–1008. <https://doi.org/10.1111/jvim.15123>
- Oyaert, M., Van den Bremt, S., Boel, A., Bossuyt, X., & Van Hoovels, L. (2017). Do not forget about pre-analytics in faecal calprotectin measurement! *Clinica Chimica Acta*, 473, 124–126. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2017.08.025>
- Pang, T., Leach, S. T., Katz, T., Day, A. S., & Ooi, C. Y. (2014). Fecal Biomarkers of Intestinal Health and Disease in Children. *Frontiers in Pediatrics*, 2, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fped.2014.00006>
- Parish, S. M., Tyler, J. W., Besser, T. E., Gay, C. C., & Krytenberg, D. (1997). Prediction of serum IgG1 concentration in Holstein calves using serum gamma glutamyltransferase activity. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 11(6), 344–347. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1997.tb00478.x>
- Patel, A., Panchal, H., & Dubinsky, M. C. (2017). Fecal Calprotectin Levels Predict Histological Healing in Ulcerative Colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 23(9), 1600–1604. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000001157>
- Patel, B. N., Dunn, R. J., Jeong, S. Y., Zhu, Q., Julien, J. P., & David, S. (2002). Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. *Journal of Neuroscience*, 22(15), 6578–6586. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-15-06578.2002>
- Paulauskaite, I., Eidukaite, A., & Orentaite, R. (2020). Fecal calprotectin as a biomarker distinguishing infectious cause in acute intestinal infections, comparing different age groups of children. *Iranian Journal of Pediatrics*, 30(2), 1–5. <https://doi.org/10.5812/IJP.98565>

- Pearson, G. R., Bazeley, K. J., Jones, J. R., Gunning, R. F., Green, M. J., Cookson, A., & Woodward, M. J. (1999). Attaching and effacing lesions in the large intestine of an eight-month-old heifer associated with *Escherichia coli* O26 infection in a group of animals with dysentery. *Veterinary Record*, *145*(13), 370–373. <https://doi.org/10.1136/vr.145.13.370>
- Pepper, R. J., Hamour, S., Chavele, K. M., Todd, S. K., Rasmussen, N., Flint, S., Lyons, P. A., Smith, K. G. C., Pusey, C. D., Cook, H. T., & Salama, A. D. (2013). Leukocyte and serum S100A8/S100A9 expression reflects disease activity in ANCA-associated vasculitis and glomerulonephritis. *Kidney International*, *83*(6), 1150–1158. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.2>
- Petersen, H.H., Nielsen, J.P., & Heegaard, P.M.H. (2004). Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research*, *35*, 163–187.
- Poullis, A., Foster, R., & Mendall, M. A. (2003). Proton pump inhibitors are associated with elevation of faecal calprotectin and may affect specificity. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, *15*(5), 573–574. <https://doi.org/10.1097/01.meg.0000059108.41030.23>
- Pourjafar, M., Badieli, K., Nazifi, S., & Naghib, S. M. (2011). Acute phase response in Holstein dairy calves affected with diarrhoea. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, *14*(3), 142–149.
- Pruzanski, W., De Beer, F. C., De Beer, M. C., Stefanski, E., & Vadas, P. (1995). Serum amyloid A protein enhances the activity of secretory non-pancreatic phospholipase A2. *Biochemical Journal*, *309*(2), 461–464. <https://doi.org/10.1042/bj3090461>
- Ramig, R. F. (2004). Pathogenesis of Intestinal and Systemic Rotavirus Infection MINIREVIEW Pathogenesis of Intestinal and Systemic Rotavirus Infection. *Journal of Virology*, *78*(19), 10213–20. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.19.10213>
- Rammes, A., Roth, J., Goebeler, M., Klempt, M., Hartmann, M., & Sorg, C. (1997). Proteins of the S100 Family , Are Secreted by Activated Monocytes via a Novel , Tubulin-dependent Pathway *. *Biochemistry*, *272*(14), 9496–9502.
- Rocha, T. G., Silva, F. D. F., Bortoletto, C., Silva, D. G., Buzinaro, M. G., Zafalon, L. F., & Fagliari, J. J. (2016). Serum concentrations of acute phase proteins and immunoglobulins of calves with rotavirus diarrhea. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, *68*(4), 865–872. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-7965>
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. (2007). *Veterinary Medicine - A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats, 10th ed*, USA: Saunders Elsevier, Vol 1and 2, p.260-268 and 1286-1299.
- Røseth, A. G., Fagerhol, M. K., Aadland, E., & Schjønsby, H. (1992). Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces: A methodologic study. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, *27*(9), 793–798. <https://doi.org/10.3109/00365529209011186>
- Rosbacher, J., Wagner, L., & Pasternack, M. S. (1999). Inhibitory effect of haptoglobin on granulocyte chemotaxis, phagocytosis and bactericidal activity. *Scandinavian*

Journal of Immunology, 50(4), 399–404. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3083.1999.00609.x>

- Saeed, A. M. K., Magnuson, N. S., Gay, C. C., & Greenberg, R. N. (1986). Characterization of heat-stable enterotoxin from a hypertoxigenic *Escherichia coli* strain that is pathogenic for cattle. *Infection and Immunity*, 53(2), 445–447. <https://doi.org/10.1128/iai.53.2.445-447.1986>
- Salman, Y. J., Ali, C. A., Abdu, A., & Abdul, A. (2017). Fecal calprotectin among patients infected with some protozoan infections. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(6), 3258–3274. <https://doi.org/10.1016/j.pursup.2008.08.002>
- Sandhu, K. S., & Gyles, C. L. (2002). Pathogenic Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in the intestine of calves. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 66(2), 65–72.
- Schultze, B., Gross, H. J., Brossmer, R., & Herrler, G. (1991). The S protein of bovine coronavirus is a hemagglutinin recognizing 9-O-acetylated sialic acid as a receptor determinant. *Journal of Virology*, 65(11), 6232–6237. <https://doi.org/10.1128/jvi.65.11.6232-6237.1991>
- Seppä-Lassila, L., Orro, T., LePage, J. P., & Soveri, T. (2013). Reference values for acute phase proteins in calves and its clinical application. *Veterinary Record*, 173(13), 319. <https://doi.org/10.1136/vr.101233>
- Seppä-Lassila, Leena, Orro, T., Lassen, B., Lasonen, R., Autio, T., Pelkonen, S., & Soveri, T. (2015). Intestinal pathogens, diarrhoea and acute phase proteins in naturally infected dairy calves. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 41, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2015.05.004>
- Seydel, K. B., Zhang, T., Champion, G. A., Fichtenbaum, C., Swanson, P. E., Tzipori, S., Griffiths, J. K., & Stanley, S. L. (1998). *Cryptosporidium parvum* infection of human intestinal xenografts in SCID mice induces production of human tumor necrosis factor alpha and interleukin- 8. *Infection and Immunity*, 66(5), 2379–2382. <https://doi.org/10.1128/iai.66.5.2379-2382.1998>
- Shah, C., Hari-Dass, R., & Raynes, J. G. (2006). Serum amyloid A is an innate immune opsonin for Gram-negative bacteria. *Blood*, 108(5), 1751–1757. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-11-011932>
- Shastri, Y. M., Bergis, D., Povse, N., Schäfer, V., Shastri, S., Weindel, M., Ackermann, H., & Stein, J. (2008). Prospective Multicenter Study Evaluating Fecal Calprotectin in Adult Acute Bacterial Diarrhea. *American Journal of Medicine*, 121(12), 1099–1106. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2008.06.034>
- Siddiqui, I., Majid, H., & Abid, S. (2017). Update on clinical and research application of fecal biomarkers for gastrointestinal diseases. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics*, 8(1), 39. <https://doi.org/10.4292/wjgpt.v8.i1.39>
- Smith, B. (2020). *Large animal internal medicine*. Elsevier, USA.
- Solem, C. A., Loftus Jr., E. V., Tremaine, W. J., Harmsen, W. S., Zinsmeister, A. R., & Sandborn, W. J. (2004). Correlation of c reactive protein crp with clinical

- radiographic and edoscopic activity in inflammatory bowel disease ibd. *Gastroenterology*, 126(4), A-477-A-477.
- Sorokman, T. V., Sokolnyk, S. V., Popelyuk, A. M. V., Bezruk, T. O., Bezruk, V. V., & Popelyuk, N. O. (2019). Giardiasis in children: Molecular genotyping, growth and calprotectin levels. *Archives of the Balkan Medical Union*, 54(3), 522–531. <https://doi.org/10.31688/ABMU.2019.54.3.19>
- Srikrishna, G., Panneerselvam, K., Westphal, V., Abraham, V., Varki, A., & Freeze, H. H. (2001). Two Proteins Modulating Transendothelial Migration of Leukocytes Recognize Novel Carboxylated Glycans on Endothelial Cells. *The Journal of Immunology*, 166(7), 4678–4688. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.7.4678>
- Steel, D. M., & Whitehead, a. S. (1994). The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunology Today*, 15(2), 81–88. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(94\)90138-4](https://doi.org/10.1016/0167-5699(94)90138-4)
- Stelwagen, K., Carpenter, E., Haigh, B., Hodgkinson, A., & Wheeler, T. T. (2009). Immune components of bovine colostrum and milk. *Journal of Animal Science*, 87(13 Suppl), 3–9. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1377>
- Stríž, I., & Trebichavský, I. (2004). Calprotectin - A pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiological Research*, 53(3), 245–253. [https://doi.org/10.1175/1520-0469\(2000\)057<3609:PSBIAT>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0469(2000)057<3609:PSBIAT>2.0.CO;2)
- Svensson, C., Lundborg, K., Emanuelson, U., & Olsson, S. O. (2003). Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Preventive Veterinary Medicine*, 58(3–4), 179–197. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(03\)00046-1](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(03)00046-1)
- Sýkora, J., Siala, K., Huml, M., Varvaovská, J., Schwarz, J., & Pomahaová, R. (2010). Evaluation of faecal calprotectin as a valuable non-invasive marker in distinguishing gut pathogens in young children with acute gastroenteritis. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, 99(9), 1389–1395. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2010.01843.x>
- Taghvaei, T., Maleki, I., Nagshvar, F., Fakheri, H., Hosseini, V., Valizadeh, S. M., & Neishaboori, H. (2015). Fecal calprotectin and ulcerative colitis endoscopic activity index as indicators of mucosal healing in ulcerative colitis. *Internal and Emergency Medicine*, 10(3), 321–328. <https://doi.org/10.1007/s11739-014-1144-x>
- Thames, B. E., Barr, J. W., Suchodolski, J. S., Steiner, J. M., & Heilmann, R. M. (2019). Prospective evaluation of S100A12 and S100A8/A9 (calprotectin) in dogs with sepsis or the systemic inflammatory response syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 31(4), 645–651. <https://doi.org/10.1177/1040638719856655>
- Tibble, J. A., & Bjarnason, I. (2001). Non-invasive investigation of inflammatory bowel disease. *World Journal of Gastroenterology*, 7(4), 460–465. <https://doi.org/10.3748/wjg.v7.i4.460>
- Tierney, T. J., & Simpson-Morgan, M. W. (1997). The proliferative responses of lymphocytes from foetal calves and adult cattle. *Veterinary Immunology and*

- Immunopathology*, 59(1–2), 49–64. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(97\)00057-3](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(97)00057-3)
- Tøn, H., Brandsnes, Ø., Dale, S., Holtlund, J., Skuibina, E., Schjønby, H., & Johne, B. (2000). Improved assay for fecal calprotectin. *Clinica Chimica Acta*, 292(1–2), 41–54. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(99\)00206-5](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(99)00206-5)
- Topal, O., & Batmaz, H. (2020). Early clinical predictors of diarrhea in the first fifteen days in dairy calves and their relationship with passive transfer status. *Medycyna Weterynaryjna*, 76(5), 296–301. <https://doi.org/10.21521/mw.6399>
- Torres-Medina, A., Schlafer, D. H., & Mebus, C. A. (1985). Rotaviral and coronaviral diarrhea. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 1(3), 471–493. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)31297-4](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)31297-4)
- Tóthová, C., Nagy, O., & Kováč, G. (2013). The Use of Acute Phase Proteins as Biomarkers of Diseases in Cattle and Swine. *InTech Open Access*, 103–138. <https://doi.org/10.5772/55857>
- Tóthová, C., Nagy, O., Seidel, H., & Kováč, G. (2012). Acute phase proteins in relation to various inflammatory diseases of calves. *Comparative Clinical Pathology*, 21(5), 1037–1042. <https://doi.org/10.1007/s00580-011-1224-5>
- Trávén, M., Alenius, S., Fossum, C., & Larsson, B. (1991). Primary Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection in Calves Following Direct Contact with a Persistently Viraemic Calf. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 38(1–10), 453–462. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1991.tb00895.x>
- Trefz, F. M., Lorch, A., Feist, M., Sauter-Louis, C., & Lorenz, I. (2012). Metabolic acidosis in neonatal calf diarrhea-clinical findings and theoretical assessment of a simple treatment protocol. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(1), 162–170. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00848.x>
- Trotz-Williams, L. A., Wayne Martin, S., Leslie, K. E., Duffield, T., Nydam, D. V., & Peregrine, A. S. (2007). Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 82(1–2), 12–28. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2007.05.003>
- Tyler, J. W., Hancock, D. D., Parish, S. M., Rea, D. E., Besser, T. E., Sanders, S. G., & Wilson, L. K. (1996). Evaluation of 3 Assays for Failure of Passive Transfer in Calves. *Journal of Internal Medicine*, 10(5), 304–307.
- Urban, C. F., Ermert, D., Schmid, M., Abu-Abed, U., Goosmann, C., Nacken, W., Brinkmann, V., Jungblut, P. R., & Zychlinsky, A. (2009). Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathogens*, 5(10). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000639>
- Urieli-Shoval, S., Linke, R. P., & Matzner, Y. (2000). Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. *Current Opinion in Hematology*, 7(1), 64–69. <https://doi.org/10.1097/00062752-200001000-00012>
- USDA APHIS Veterinary Services National Animal Health Monitoring System. (1998).

Part III : Reference of 1997 Beef Cow-Calf Production Management and Disease Control. *National Animal Health Monitoring System, January*. www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/beefcowcalf/downloads/beef97/Beef97_dr_PartIII.pdf

- van Duijkeren, E., Sloet van Oldruitenborgh-Dosterbaan, M. M., Breukink, H. J., Vulto, A. S. J. P. A. M., & van Miert, A. S. J. P. A. M. (1996). A survey of horses with acute diarrhoea: Diagnosis, assessment of the prognosis, and comparison of two antibiotic therapies. *Veterinary Quarterly*, *18*(4), 153–156. <https://doi.org/10.1080/01652176.1996.9694639>
- Vermeire, S. (2004). C-reactive protein as a marker for inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, *10*(5), 661–665. <https://doi.org/10.1097/00054725-200409000-00026>
- Villena, J., Aso, H., & Kitazawa, H. (2014). Regulation of Toll-like receptors-mediated inflammation by immunobiotics in bovine intestinal epitheliocytes: Role of signalling pathways and negative regulators. *Frontiers in Immunology*, *5*(AUG), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00421>
- Voganatsi, A., Panyutich, A., Miyasaki, K. T., & Murthy, R. K. (2001). Mechanism of extracellular release of human neutrophil calprotectin complex. *Journal of Leukocyte Biology*, *70*, 130-134.
- Vreugdenhil, A. C., Dentener, M. A., Snoek, A. M., Greve, J. W., & Buurman, W. A. (1999). Lipopolysaccharide binding protein and serum amyloid A secretion by human intestinal epithelial cells during the acute phase response. *Journal of Immunology*, *163*(5), 2792–2798. https://doi.org/ji_v163n5p2792 [pii]
- Wagener, F. A. D. T. G., Eggert, A., Boerman, O. C., Oyen, W. J. G., Verhofstad, A., Abraham, N. G., Adema, G., Van Kooyk, Y., De Witte, T., & Figdor, C. G. (2001). Heme is a potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase. *Blood*, *98*(6), 1802–1811. <https://doi.org/10.1182/blood.V98.6.1802>
- Weaver, D., Tyler, J., VanMetre, D., Hostetler, D., & Barrington, G. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *14*, 569–577.
- Weh, J., Antoni, C., Weiß, C., Findeisen, P., Ebert, M., & Böcker, U. (2013). Discriminatory potential of C-reactive protein, cytokines, and fecal markers in infectious gastroenteritis in adults. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *77*(1), 79–84. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.05.005>
- Wells, S. J., Dargatz, D. A., & Ott, S. L. (1996). Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States. *Preventive Veterinary Medicine*, *29*(1), 9–19. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(96\)01061-6](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(96)01061-6)
- Wilson, R. A., Zolnai, A., Rudas, P., & Frenyo, L. V. (1996). T-cell subsets in blood and lymphoid tissues obtained from fetal calves, maturing calve, and adult bovine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *53*(1–2), 49–60. [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(95\)05543-6](https://doi.org/10.1016/0165-2427(95)05543-6)
- Windeyer, M. C., Leslie, K. E., Godden, S. M., Hodgins, D. C., Lissemore, K. D., &

- LeBlanc, S. J. (2014). Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive Veterinary Medicine*, 113(2), 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.019>
- Windeyer, M. Claire, & Gamsjäger, L. (2019). Vaccinating Calves in the Face of Maternal Antibodies: Challenges and Opportunities. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 35(3), 557–573. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.004>
- Wyatt, C. R., Brackett, E. J., Mason, P. H., Savidge, J., & Perryman, L. E. (2000). Excretion patterns of mucosally delivered antibodies to p23 in *Cryptosporidium parvum* infected calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 76(3–4), 309–317. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(00\)00218-X](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(00)00218-X)
- Wyatt, C. R., Brackett, E. J., Perryman, L. E., Rice-Ficht, A. C., Brown, W. C., & O'Rourke, K. I. (1997). Activation of intestinal intraepithelial T lymphocytes in calves infected with *Cryptosporidium parvum*. *Infection and Immunity*, 65(1), 185–190. <https://doi.org/10.1128/iai.65.1.185-190.1997>
- Wyatt, C. R., Riggs, M. W., & Fayer, R. (2010). Cryptosporidiosis in Neonatal Calves. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 26(1), 89–103. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.10.001>
- Zhang, M., Zeng, C. Q.-Y., Morris, A. P., & Estes, M. K. (2000). A Functional NSP4 Enterotoxin Peptide Secreted from Rotavirus-Infected Cells. *Journal of Virology*, 74(24), 11663–11670. <https://doi.org/10.1128/jvi.74.24.11663-11670.2000>
- Zhu, Q., Li, F., Wang, J., Shen, L., & Sheng, X. (2016). Fecal Calprotectin in Healthy Children Aged 1-4 Years. *Plos One*, 11(3), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150725>

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

FCalp: Fekal calprotectin

GGT: Gamma glutamil transferaz

IgG: Immunglobuling G

IL-8: Interlökin-8

Ng/ml: nanogram/mililitre

PTY: Pasif transfer yetmezliği

SAA: Serum Amyloid A

SCalp: Serum calprotectin

TP: Total protein

U/L: Ünite/litre

WBC: Total lökosit sayısı

8. EKLER

EK-1

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
Görükle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	<i>Enfektif ishali neonatal buzağılarda serum amyloid A, serum hapto globin, serum calprotectin ile fekal calprotectin arasındaki ilişkilerin belirlenmesi ve inflamatuvar marker olarak bu parametrelerin diagnostik ve prognostik rolünün belirlenmesi</i>
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ	Doç. Dr. Ethem Mutlu TEMİZEL
	KURUMU	BUÜ Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Doktora Öğrencisi Adil Ömer KARAKUŞ
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Adil Ömer KARAKUŞ'un Doktora Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	Mart 2019 – Eylül 2020
KULLANILACAK HAYVAN TURU VE SAYISI	35 Adet Dişi – Erkek Sığır	

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi
	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	18.02.2019

KARAR BİLGİLERİ	Karar No : 2019 - 03 / 05	Tarih : 06.03.2019
	<p>Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırmacıya iletilmesine oy birliğiyle çoğunluğu ile karar verildi.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması, 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği durumunda kurulumuzdan onay alınması, 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi, 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması, 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi. 	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeligi	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza		Düşünceler
				Kabul	Ret	
Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK Başkan	Tıp- Fizyoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Levent BÜYÜKUYSAK Başkan Yardımcısı	Tıp- Farmakoloji	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Erdoğan ŞENDEMİR Üye	Tıp - Anatomi	Tıp Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. M. Müfit KAHRAMAN Üye	Vet- Patoloji	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Ayşe TOPAL Üye	Vet- Cerrahi	Veteriner Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Aydın İPEK Üye	Ziraat- Zootekni	Ziraat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Prof. Dr. Sibel TAŞ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Sema ÖZKAN Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Makine Mühendisi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Taner GÜLER Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Ziraat Yüksek Mühendisi	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			
Faruk KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DEHYUAM	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H			

9. TEŞEKKÜR

Bu tezin hayata geçirilmesinde büyük paya sahip ve akademik gelişimimde her daim bana yol gösteren ve birikimlerini esirgemeyen değerli danışmanım ve meslek büyüğüm Prof. Dr. Ethem Mutlu TEMİZEL başta olmak üzere, Prof. Dr. Engin KENNERMAN, Prof. Dr. Sezgin ŞENTÜRK ve Prof. Dr. Musa Özgür ÖZYİĞİT'e teşekkürlerimi bir borç bilirim. Tezin laboratuvar çalışmalarının sorunsuz ve oldukça başarılı geçmesini sağlayan değerli Doç. Dr. Duygu UDUM'a da teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tezin saha çalışmasında bana büyük destek sağlamış olan meslektaşım ve değerli dostum Vet. Hek. Emre KESER'e şükranlarımı sunarım. Bu tez çalışmasına maddi kaynak sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar ve Proje Birimine teşekkürlerimi sunarım.

10. ÖZGEÇMİŞ

Bu doktora tezini hazırlayan Vet. Hek. Adil Ömer KARAKUŞ İstanbul'da doğdu. İlköğretimini İstanbul Kadıköy'de Mustafa Mihriban Boysan İlköğretim Okulunda tamamladı. Lise öğrenimini 2006-2010 yılları arasında İstanbul Kartal Semiha Şakir Anadolu Lisesinde tamamladı. Lisans öğrenimini 2011-2016 yılları arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesinde tamamlayarak veteriner hekim unvanı kazandı. Doktora öğrenimini 2016-2021 yılları arasında Bursa Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner İç Hastalıkları Bölümünde başarı ile tamamlayarak Dr. unvanını kazandı. Doktora sürecinde başta çiftlik hayvanları olmak üzere çeşitli hayvan türlerini kapsayan akademik çalışmalarda bulundu.