

Evaluation of 25 (OH) D₃ Concentrations in Neonatal Calves with Diarrhea

Tahir ÖZALP¹, Hasan ERDOĞAN^{1*}

¹Adnan Menderes University, Veterinary Faculty, Internal Medicine Department, 09100, Aydın, Turkey

ABSTRACT

In the present study the aim was to determine the relationship between plasma vitamin D₃ and fibrinogen concentrations of calves with diarrhea. In this context, calves neonatal diarrhea (n = 100) and healthy (n = 20) ones were enrolled. Diarrheic calves were enrolled into two intra-groups of mono and co-infected, then mono-infected calves and co-infected calves were divided into subgroups according to *E. coli*, Rotavirus, Coronavirus, *Cryptosporidium* sp., and *Giardia* sp., and Rotavirus + *Cryptosporidium* sp. and *E. Coli* + *Cryptosporidium* sp. It was determined that 6% of the calves were infected with and *E.coli*, 13% Rotavirus, 6% Coronavirus, 6% *Giardia* in mono-infected ones and 11% *E.coli* + *Cryptosporidium* sp., and 22% Rotavirus + *Cryptosporidium* sp., with co-infection and 17% healthy. According to healthy calves, mono-infected and co-infected calves had significantly higher fibrinogen concentrations, whereas 25 (OH) D₃ levels were significantly lower in both groups than healthy calves. There was a negative correlation between fibrinogen and 25 (OH) D₃ concentrations ($r = - 403$, $p < 0.05$) in calves with diarrhea. As a result, 25 (OH) D₃ concentrations decreased in diarrhea calves due to the presence and severity of the infection.

Keywords: Calf, fibrinogen, diarrhea, vitamin D₃

Neonatal İshalli Buzağılarda 25 (OH) D₃ Konsantrasyonlarının Araştırılması

ÖZ

Bu araştırma ile neonatal dönemde ishal semptomu gösteren buzağuların plazma vitamin D₃ ve fibrinojen konsantrasyonları arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlandı. Bu kapsamda neonatal ishalli (n=100) ve sağlıklı (n=20) buzağular araştırmaya dahil edildi. İshalli buzağular kendi içerisinde mono enfekte ve ko enfeksiyon gruplarına göre iki ana gruba, mono-enfekte buzağular kendi içerisinde *E. coli*, Rotavirus, Coronavirus, *Cryptosporidium* sp., ve *Giardia* sp., ko-enfekte buzağular ise Rotavirus + *Cryptosporidium* sp. ve *E. coli* + *Cryptosporidium* sp. olacak şekilde alt gruplara ayrıldı. Buzağuların %6'sının *E. coli*, %19'u *Cryptosporidium* sp., %13'ü Rotavirus, %6'sı Coronavirus, %6'sı *Giardia* ile mono-enfekte, ko-enfekte buzağuların ise %11'i *E. coli* + *Cryptosporidium* sp., ve %22'sinin Rotavirüs + *Cryptosporidium* sp., ile enfekte ve %17'nin sağlıklı olduğu belirlendi. Sağlıklı buzağulara göre mono enfekte ve ko-enfekte buzağuların fibrinojen konsantrasyonlarının anlamlı düzeyde yüksek olduğu buna karşın 25 (OH) D₃ seviyelerinin ise her iki grupta sağlıklı buzağulara göre anlamlı derecede düşük olduğu belirlendi. İshalli buzağılarda fibrinojen ve 25 (OH) D₃ konsantrasyonları arasında ($r = - 403$, $p < 0,05$) negatif korelasyon bulunduğu belirlendi. Sonuç olarak 25 (OH) D₃ konsantrasyonlarının ishalli buzağılarda enfeksiyonun varlığı ve şiddetine bağlı olarak azaldığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Buzağı, Fibrinojen, İshal, Vitamin D₃

To cite this article: Özalp T, Erdoğan H. Evaluation of 25 (Oh) D₃ Concentrations in Neonatal Calves with Diarrhea. Kocatepe Vet J. (2019) 12(3):268-276.

Submission: 25.02.2019 Accepted: 17.07.2019 Published Online: 24.08.2019

ORCID ID; TÖ: 0000-0002-9873-0364, HE: 0000-0001-8109-8537

*Corresponding author e-mail: hasan.erdogan@adu.edu.tr

GİRİŞ

Buzağı ishalleri sığircılık işletmeleri en önemli problemlerinden biri olmaya devam etmektedir (Ok ve ark. 2009, House ve ark. 2011). Ekonomik kayıpların buzağı ishallerine neden olan etmenlerin hızlı bir şekilde teşhisinin yanı sıra oluşturdukları klinikopatolojik değişikliklerin belirlenmesiyle en aza indirilebileceği belirtilmektedir (Klein ve ark. 2009). Buzağılarda ishale bağlı gelişen klinikopatolojik değişimlerinin belirlenmesine yönelik yapılan araştırmaların hastalığın kontrolü ve sağaltımına ışık tutacak yeni verilerin belirlenmesine yardımcı olmaktadır. Beşeri hekimlikte yangı biyobelirteçleri ve vitamin D seviyeleri arasında önemli ilişkilerin bulunduğu ve söz konusu ilişkinin özellikle kardiyometabolik hastalıklar açısından önem arz ettiği bir çok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Hypponen ve ark. 2001, Lappe ve ark. 2007, Reis ve ark. 2009). Bununla birlikte farklı hastalıklarda yangı biyobelirteçleri ve vitamin D seviyeleri arasındaki değişimlerin değerlendirildiği araştırmalar her geçen gün önem kazanmaktadır (Jorgensen ve ark. 2010, Haque ve ark. 2012).

25 (OH) D₃ seviyelerinin farklı hastalıklar ve operatif durumlarla ilişkili yapılan değerlendirmelerinin yanında (Reis ve ark. 2009, Reid ve ark. 2011) bağırsak hastalıkları açısından da önem arz ettiği özellikle ishal oluşumunu sınırlayabileceği ve ishale karşı direnci artırabileceği yönü ile görüş birliği bulunmaktadır (Shamsir 2016). Çocuklarda ishale neden olan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *S. typhimurium*, *Salmonella* ve *Shigella spp.* üzerinde bakterisit etkileri olan antimikrobik peptitlerin 25 (OH) D₃ aracılığı ile düzenlediğini bildirilmektedir (Ouellette ve ark. 1994, Welkamp ve ark. 2007, Gudmundsson ve ark. 2010). Söz konusu etkilerinin yanı sıra bağırsak yüzeyindeki enfeksiyonlara karşı koruma sağlamak ve sızıntılı bağırsak sendromunda gelişmesini engellemek gibi etkileri de bilinmektedir (Kong ve ark. 2008, Fujita ve ark. 2008). İnflamatuvar bağırsak hastalığına (IBH) sahip bireylerde serum 25 (OH) D₃ seviyelerinin normal ya da düşük seyir edebileceği ya da 25 (OH) D₃ seviyelerindeki azalmaların hastalığın bir sonucu olarak da şekillenebileceği yönü ile sonuçlara da ulaşılmaktadır (Aaron ve Andrew 2015).

Fibrinojen, temel olarak kan kanının pıhtılaşmasını veya fibrin oluşumunu uyaran 340 kDa boyutunda büyük bir glikoprotein olup bununla birlikte sığırlarda önemli bir akut faz proteini olduğu bilinmektedir (Conner ve ark. 1988). Sığırlarda fibrinojen inflamatuvar ve travmatik hastalıkların değerlendirilmesinde kullanıldığı ve enfeksiyonlarda yanıt olarak belirgin şekilde arttığı bildirilmektedir (Hirvonen ve Pyorala, 1998).

Söz konusu araştırma ile ishal semptomu bulunan buzağuların plazma 25 (OH) D₃ konsantrasyonlarının

belirlenerek, etiyolojik faktörlere bağlı olarak 25 (OH) D₃ ve plazma fibrinojen seviyeleri arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Hayvan Materyali ve Grupların Dizayını

Araştırmanın hayvan materyalini Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesine getirilen neonatal dönemde (1-28 gün) akut ishalleri, holştayn ırkı 100 buzağı ile benzer yaş aralığındaki sağlıklı 20 buzağı olmak üzere toplam 120 buzağı oluşturdu. Bovid-5 katı fazlı immunokromatografi yöntemi ile çalışan hızlı test kitleri aracılığıyla tanı konulan buzağular mono ve ko-enfeksiyon ana gruplarına ayrıldı. Mono enfeksiyon grupları kendi içerisinde I. Grup (*E. coli* ile enfekte), II. Grup (Rota virus ile enfekte), III. Grup (Coronavirus ile enfekte), IV. Grup (*Cryptosporidium sp.* ile enfekte) ve V. Grup (*Giardia sp.* ile enfekte) ve kontrol grubu VI. Grup (sağlıklı) olarak ayrıldı. Ko-enfeksiyon grupları ise *Rotavirus-Cryptosporidium* ve *E.coli-Cryptosporidium* ile enfekte hayvanları içerecek şekilde iki alt gruba ayrıldı (Resim 1). Araştırma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu izni (no:64583101/2018/052) ile gerçekleştirilmiştir.

Kan Örneklerinin Alınması ve Klinik Değerlendirme

Araştırmaya dahil edilen buzağular hızlı test kitleri ile tanıyı takiben örnekleme işlemleri gerçekleştirildi. Bu kapsamda sodyum sitrat ve heparin içeren (Vacutte, Avusturya) tüplere *Vena jugularis* aracılığı ile toplamda 4 ml olacak şekilde bir defaya mahsus alındı. Etiyolojik olarak tanısı belirlenen ve gruplar içerisine dağıtılan buzağuların klinik muayeneleri gerçekleştirildi. Bu kapsamda dışkı skorlaması, deri elastikiyeti ve gözlerin orbita içerisindeki konumu milimetrik cetvelle ölçülüp aşağıdaki formüllerden yararlanılarak buzağuların dehidrasyon dereceleri belirlendi.

Dehidrasyon Derecesi [%] = 1.71 x [enofthalmus (mm)] + 0,38

Dehidrasyon Derecesi [%] = 1.77 x [deri elastikiyetinin normale dönmesi (sn)] - 3,16

Bu kapsamda dehidrasyon dereceleri göz önüne alınarak ishalden orta derecede etkilenen buzağular çalışmaya dahil edildi.

Laboratuvar Örneklerin İşlenmesi

Kan örneklerinden kan sayımı (Abacus Junior Vet, Macaristan) ve kan gazı analizleri (IRMA True point, Amerika) gerçekleştirildikten sonra her iki örnek santrifüj işlemine (Hettich, Almanya, 3000 devir/dk) tabi tutularak heparin ve sitratlı plazma örnekleri elde edildi.

25 (OH) D₃ analizleri heparin plazmalar ile Florasan immuno kromatografi yöntemi kullanılarak flöresan immunoassey cihazı (Savant Beijing Savant

Biotechnology, Çin) ve 25-OH-D₃ test kitleri (Savant Beijing Savant Biotechnology, Çin) aracılığı ile gerçekleştirildi. Bu kapsamda üretici firmanın belirttiği prosedürler uygulandı. Fibrinojen analizleri için yarı otomatik koagülometre cihazı (Semi-Automatic Blood Coagulation Analyser C2000-4) kullanıldı. Yarı otomatik koagülometre cihazı ile yapılan fibrinojen analizinin test aşaması üretici firmanın belirttiği şekilde gerçekleştirildi. Sağlıklı ve ishallerli buzağılardan alınan kan örnekleri hematolojik (ve venöz kan pH' sı ve elektrolit değerleri fakültemiz bünyesinde kullanılan kan sayım cihazı (Abacus Junior Vet, Macaristan) ve kan gazı cihazı (Irma, Truepoint, Amerika) aracılığı ile gerçekleştirildi.

İstatistiksel analizler

Elde edilen verilerin tanımlayıcı istatistikleri ve normalite testleri gerçekleştirildi. Tanımlayıcı veriler ortalama ve standart hata şeklinde tablolara aktarıldı. Normal dağılım göstermeyen verilere logaritmik transformasyon işlemi uygulandı ve normalite testleri tekrarlandı. Normal dağılım göstermeyen veriler ise Kruskal-wallis testi ile karşılaştırıldı. Tüm analizler SPSS21.0 (IBM, Amerika) programı yardımı ile gerçekleştirilerek p<0.05 değeri istatistiksel anlamlı kabul edildi.



Resim 1. Etken teşhisi yapılan buzağuların gruplandırılması
Figure 1. Grouping of calves diagnosed as etiological agents

BULGULAR

Araştırma kapsamında değerlendirilen ishallerli buzağuların dışkılarının sulu ve sıvı-pastöz kıvamda, renk ve kokusunun etiyolojik ajanların farklılıklarına göre değişimler gösterdiği açık sarı ve sarı dan gri beyaz ve gri kahverengi renklerde olduğu belirlendi. İshallerli buzağuların entansif yetiştiricilik yapılan süt işletmelerinde bulunan yalnızca süt ile beslenen ve 1-3 gündür ishal bulguları gösteren buzağular olduğu belirlendi. Buzağuların emme reflekslerinin zayıf birçoğunun sternal pozisyonda yatar halde olduğu ayağa kaldırıldığında yatma isteği içerisinde bulunduğu belirlendi. İshallerli buzağuların klinik muayeneleri kapsamında dehidrasyon dereceleri belirlenmiş olup gruplarda bulunan dehidrasyon derecelerinin dağılımının etiyolojik faktörlere bağlı olarak %7,57 ile %8,71 seviyelerinde değişim gösterdiği ve ishallerli buzağuların orta derecede dehidrasyona maruz kaldıkları belirlendi (Tablo 1.). Beden ısılarının 36,91 °C ile 38,46 °C arasında değiştiği en düşük beden ısısı ortalamasının *E.coli* ile mono-enfekte buzağuların

oluşturduğu belirlendi. Kalp frekansının 106,29 ±3,96 vuruş/dk ile Coronavirus ile enfekte olan buzağularda en düşük seviyede, solunum sayısının ise 37,57 sayı/dk ile *E. coli* ile enfekte buzağularda bulunduğu tespit edildi (Tablo 2). İshallerli buzağuların etiyolojik faktörlere bağlı dağılımları Tablo 1 de gösterildi.

Laboratuvar Bulgular

Monoenfekte, koenfekte ana grupları ile sağlıklı grup içerisinde değerlendirilen buzağuların total lökosit (WBC) sayılarının koenfekte grupta bulunan buzağuların sağlıklı grupta bulunan buzağulara göre anlamlı derecede (p<0,05) yüksek olduğu nötrofil (NEU) sayılarının monoenfekte ve koenfekte gruplarda sağlıklı gruba göre yüksek olduğu ve farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi. Eritrosit (RBC) sayılarının enfeksiyon gruplarında sağlıklı gruba göre daha yüksek olduğu belirlendi. Sağlıklı buzağuların hematokrit (HCT) değerlerinin monoenfekte hayvanların ortalamasına göre anlamlı değişimlerin bulunmadığı ancak

koenfekte hayvanların ortalama HCT değerinin sağlıklı gruba göre anlamlı derecede ($p<0,01$) yüksek olduğu belirlendi. Trombosit (PLT) sayılarının enfeksiyon gruplarına göre sağlıklı buzağuların ortalamaları ile farklılığının bulunmadığı buna karşın monoenfekte hayvanların PLT ortalamalarının koenfekte hayvanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi (Tablo 3).

Monoenfekte ve koenfekte ana grupları içerisinde bulunan buzağuların kan pH'sının mono-enfekte hayvanlarda, ko-enfekte ve sağlıklı gruplara kıyasla düşük olduğu mono enfeksiyon grubundaki buzağuların metabolik asidozisin şiddetinin daha yüksek olduğu ancak söz konusu değişimlerin istatistiksel anlamının olmadığı belirlendi. Tüm ana gruplarda Na^+ ve K^+ konsantrasyonunun istatistiksel anlamlı değişimlerin bulunmadığı, iCa^+ konsantrasyonunun ise sağlıklı grupta bulunan buzağulara kıyasla enfeksiyon ana gruplarında anlamlı derecede düşük seyir ettiği belirlendi (Tablo 4)

Monoenfeksiyon ve koenfeksiyon alt gruplarının değerlendirilmesinde ise pH seviyelerinin *E.coli* ile enfekte buzağularda en düşük seviyede seyir ettiği, Na^+ ve K^+ konsantrasyonunda anlamlı değişimler bulunmaz iken iCa^+ konsantrasyonunun Rotavirus ile monoenfekte hayvanlarda sağlıklı buzağulara göre

düşük seyir ettiği ve farklılığın istatistiksel anlamlı olduğu belirlendi (Tablo 5).

Mono-enfekte ve ko-enfekte ishalleri buzağuların 25 (OH) D₃ seviyelerinin Sağlıklı buzağulara göre istatistiksel anlamlı düşük olduğu belirlendi (Tablo 6.). Fibrinojen konsantrasyonlarının ise sağlıklı buzağulara göre mono-enfekte ve ko-enfekte buzağularda anlamlı yüksek olduğu bununla birlikte koenfeksiyonu bulunan buzağuların Fibrinojen konsantrasyonlarının monoenfekte buzağulara kıyas ile yüksek olduğu belirlendi. Sağlıklı ve ana enfeksiyon gruplarında bulunan buzağuların 25 (OH) D₃ ve Fibrinojen konsantrasyonlarının arasında istatistiksel anlamlı ($r=-0,403$, $p<0,01$) negatif yönlü bir korelasyonun bulunduğu belirlendi.

Sağlıklı buzağulara kıyasla tüm enfeksiyon alt gruplarındaki buzağuların 25 (OH) D₃ seviyelerinin istatistiksel anlamda düşük olduğu belirlenirken, Rota virus ile mono enfekte hayvanlarda 25 (OH) D₃ seviyelerinin en düşük, *E. coli* ile mono enfekte hayvanlarda ise en yüksek seviyede olduğu belirlendi. Buna karşın fibrinojen konsantrasyonlarının *E. coli* ile enfekte hayvanlarda en düşük düzeyde olduğu coronavirus ile enfekte hayvanlarda ise yüksek seviyede olduğu belirlendi (Tablo 7.)

Tablo 1. İshalleri buzağuların etiyolojik faktörlere bağlı dağılımları

Table 1. Distribution of diarrheic calves according to etiological factors

Enteropatojenler	n	%
<i>Criptosporodium</i>	22	19
Rota virus	15	13
<i>E.coli</i>	7	6
Corona virüs	7	6
<i>Giardia</i>	7	6
<i>Criptosporodium- E.coli</i>	13	11
<i>Criptosporodium- Rota virüs</i>	26	22
Sağlıklı	20	17

Tablo 2. Enfeksiyon gruplarında etiyolojik ajanlara göre klinik bulguların değerlendirilmesi

Table 2. Evaluation of clinical findings according to etiological agents in infection group

GRUPLAR	PARAMETRELER			
	Dehidrasyon (%) $\bar{X} \pm SH$	Beden Isısı (°C) $\bar{X} \pm SH$	Kalp Frekansı (atım/dk) $\bar{X} \pm SH$	Solunum Sayısı (sayı/dk) $\bar{X} \pm SH$
Rotavirus	8.13 ± 0.40	38.07 ± 0.31	109.87 ± 4.04	40.80 ± 2.93
Coronavirus	7.57 ± 0.48	38.46 ± 0.38	106.29 ± 3.96	42.29 ± 5.37
<i>E. coli</i>	8.71 ± 0.78	36.91 ± 0.95	115.86 ± 19.79	37.57 ± 8.21
<i>Cryptosporodium</i>	8.23 ± 0.25	37.87 ± 0.31	108.68 ± 5.30	39.14 ± 2.56
<i>Giardia</i>	7.71 ± 0.42	37.03 ± 0.94	127.43 ± 13.99	34.86 ± 7.69
Rotavirus- <i>Cryptosporodium</i>	8.31 ± 0.29	37.26 ± 0.33	108.9 ± 4.42	39.66 ± 2.17
<i>E.coli-Cryptosporodium</i>	7.92 ± 0.38	38.40 ± 0.38	115.38 ± 9.18	45.23 ± 4.35

Tablo 3. Enfekte gruplarda ve sağlıklı grupta hematolojik değerlendirmeler
Table 3. Hematologic evaluations in the infected groups and healthy group

PARAMETRELER	GRUPLAR			P değeri
	Monoenfekte $\bar{X} \pm SH$	Koenfekte $\bar{X} \pm SH$	Sağlıklı $\bar{X} \pm SH$	
WBC ($10^9/L$)	17.28 \pm 1.53	21.48 \pm 2.28 ^b	10.01 \pm 0.76 ^a	0.014
NUE ($10^9/L$)	8.47 \pm 0.74 ^b	8.11 \pm 0.70 ^b	5.07 \pm 0.72 ^a	0.027
RBC ($10^{12}/L$)	8.15 \pm 2.31	8.99 \pm 3.03	6.11 \pm 0.36	0.104
HCT (%)	24.45 \pm 1.36	26.99 \pm 1.30 ^b	20.01 \pm 2.20 ^a	0.004

Tablo 4. Enfekte gruplarda ve sağlıklı grupta kan pH' sı ve elektrolit değerlendirmeleri
Table 4. Blood pH and electrolyte evaluation in the infected groups and healthy group

PARAMETRELER	GRUPLAR			P değeri
	Mono-enfekte $\bar{X} \pm SH$	Ko-enfekte $\bar{X} \pm SH$	Sağlıklı $\bar{X} \pm SH$	
pH	7.28 \pm 0.02	7.32 \pm 0.01	7.34 \pm 0.01	0.211
Na ⁺ (mmol/L)	132.18 \pm 0.99	131.30 \pm 1.40	134.22 \pm 0.72	0.378
K ⁺ (mmol/L)	5.1 \pm 0.19	5.19 \pm 0.33	4.79 \pm 0.10	0.590
iCa (mmol/L)	1.17 \pm 0.03 ^b	1.17 \pm 0.03 ^b	1.27 \pm 0.03 ^a	0.006

Tablo 5. Enfeksiyon alt gruplarında ve sağlıklı grupta kan pH' sı ve elektrolit değerlendirmeleri
Table 5. Blood pH and electrolyte evaluations in infectious subgroups and healthy group

GRUPLAR	PARAMETRELER			
	pH $\bar{X} \pm SH$	Na ⁺ (mmol/L) $\bar{X} \pm SH$	K ⁺ (mmol/L) $\bar{X} \pm SH$	iCa (mmol/L) $\bar{X} \pm SH$
<i>Rotavirus</i>	7.28 \pm 0.03	130.31 \pm 2.11	4.96 \pm 0.32	1.10 \pm 0.04 ^b
<i>Coronavirus</i>	7.33 \pm 0.04	133.14 \pm 3.68	4.96 \pm 0.30	1.11 \pm 0.09
<i>E. coli</i>	7.24 \pm 0.05	132.67 \pm 2.76	6.37 \pm 0.84	1.31 \pm 0.19
<i>Cryptosporidium</i>	7.27 \pm 0.04	132.82 \pm 1.39	4.67 \pm 0.39	1.20 \pm 0.05
<i>Giardia</i>	7.27 \pm 0.05	132.63 \pm 3.09	5.46 \pm 0.50	1.09 \pm 0.08
<i>Rotavirus- Cryptosporidium</i>	7.31 \pm 0.02	130.54 \pm 1.85	5.5 \pm 0.49	1.17 \pm 0.49
<i>E.coli-Cryptosporidium</i>	7.34 \pm 0.02	132.8 \pm 1.9	4.56 \pm 0.13	1.14 \pm 0.04
Sağlıklı	7.34 \pm 0.01	134.22 \pm 0.72	4.79 \pm 0.10	1.27 \pm 0.03 ^a
<i>P değeri</i>	0.439	0.814	0.073	0.038

Tablo 6. Enfeksiyon gruplarında ve sağlıklı gruplarda Vitamin D ve Fibrinojen düzeyleri
Table 6. Vitamin D and Fibrinogen levels in infection groups and healthy group

PARAMETRELER	GRUPLAR			P değeri
	Mono-enfekte	Ko-enfekte	Sağlıklı	
	$\bar{X} \pm SH$	$\bar{X} \pm SH$	$\bar{X} \pm SH$	
Vitamin D (ng/ml)	39.0 \pm 2.33 ^b	36.85 \pm 2.10 ^b	65.86 \pm 2.81 ^a	0.001
Fibrinojen (mg/dL)	281.17 \pm 11.98 ^b	304.45 \pm 11.14 ^b	126.37 \pm 8.32 ^a	0.001

Tablo 7. Enfeksiyon alt gruplarında ve sağlıklı grupta Vitamin D ve Fibrinojen seviyeleri
Table 7. Vitamin D and Fibrinogen levels in infectious subgroups and healthy group

GRUPLAR	PARAMETRELER	
	D vitamini (ng/ml)	Fibrinojen (mg/dL)
	$\bar{X} \pm SH$	$\bar{X} \pm SH$
Rotavirus	34.48 \pm 4.77 ^b	306.76 \pm 16.08 ^b
Coronavirus	36.40 \pm 8.53 ^b	339.85 \pm 18.10 ^b
<i>E. coli</i>	51.70 \pm 6.14 ^a	246.09 \pm 47.96 ^a
<i>Cryptosporidium</i>	37.36 \pm 2.75 ^b	252.29 \pm 19.79 ^b
Giardia	43.08 \pm 9.00 ^a	293.50 \pm 39.98 ^b
Rotavirus- <i>Cryptosporidium</i>	35.70 \pm 2.30 ^b	289.07 \pm 14.83 ^b
<i>E.coli-Cryptosporidium</i>	39.12 \pm 4.39 ^b	335.20 \pm 11.97 ^b
Sağlıklı	65.86 \pm 2.81 ^a	126.37 \pm 8.32 ^a
P değeri	0.001	0.001

TARTIŞMA

Bu çalışma kapsamında farklı etiyolojik ajanlara maruz kalarak ishal semptomu gösteren buzağılarda ishalden etkilenme derecesi, yangısal cevabın durumu ve 25 (OH) D₃ seviyelerindeki değişimlerin değerlendirilmesi amaçlandı. Araştırma kapsamında değerlendirilen ishali buzağuların %6'sı *E. coli*, %19'u *Cryptosporidium*, %13'ü Rotavirus, %6'sı Coronavirus, %6'sı Giardia, %11'i *Cryptosporidium* + *E. coli* ve %22'si *Cryptosporidium* + Rotavirus ile enfekte olduğu belirlendi. Lokal ve sistemik enfeksiyon durumları ile karakterize olabilen ishal durumlarında hematolojik parametrelerden total lökosit (WBC) sayılarına ve lökosit diferansiyasyonlarında değişimlere neden olabilmektedir. Özellikle etiyolojik faktörlerinde etkisi altında kalarak gelişen enteritis tablosunun bu değişimleri hematolojik verilere yansıttığı görülmektedir (Taylor 2000, Darabus ve ark. 2009). Araştırma kapsamında değerlendirilen monoenfekte ve koenfekte buzağuların WBC ve NEU sayıları sağlıklı buzağılara göre anlamlı derecede yüksek, enfeksiyon alt gruplarında ise söz konusu değişimlerin Rotavirus ile monoenfekte ve rotavirus+cryptosporidium ile koenfekte buzağılarda

sağlıklı gruba göre anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. Söz konusu değişimlerin enfeksiyon alt gruplarında sağlıklı kontrol grubunda bulunan buzağılara göre istatistiksel anlamlı farklılığın bulunmadığı gruplarda enfeksiyonun süresi ve yangısal cevabın derecesi ile ilişkili olabileceği düşünüldü. İshal durumlarında HCT değerinde artış şekillenmekte ve söz konusu artışların ishali neden olduğu dehidrasyon ve dehidrasyonun şiddetine bağlı değişim gösterebileceği bildirilmektedir (Slanina 1988, Constable ve ark. 1998). Viral ve bakteriyel kökenli ishallerde HCT değerinde belirtilen artışların gelişebileceği ancak paraziter kökenli enteritislerde gelişen anemiye bağlı olarak HCT seviyelerinin normal sınırlar içerisinde de bulunabileceği bildirilmektedir (Hafez 1974). Çalışmada enfeksiyon grubunu oluşturan buzağuların HCT değerlerinin sağlıklı gruba göre HCT değerinde anlamlı derecede artışlar gösterdiği belirlendi (Tablo 3). Enfeksiyon grupları içerisinde bulunan buzağuların klinik değerlendirmelerinde de dehidrasyon derecelerinin %8 seviyelerinde olduğu ve ishale bağlı gelişen dehidrasyondan orta derecede etkilendikleri söylenebilir.

İshalli buzağılarda dehidrasyon ve metabolik asidozis ishali doğurduğu başlıca sonuçlar olarak karşımıza çıkmakta ve HCO₃ kaybı, perfüzyon eksikliğine bağlı olarak dokularda laktik asit birikimi, H⁺ iyonlarının böbreklerden atılmasının azalması ve intestinal alanda meydana gelen fermentasyon sonucu oluşan organik asitlere bağlı olarak şekillenmektedir (Bouda ve ark. 1997, Lorenz 2009, Şen ve ark. 2013, Smith 2014). Bu çalışmada değerlendirilen buzağuların araştırmacıların bildirimlerine benzer şekilde pH değişimleri yaşadığı ve bu değişimlerin söz konusu buzağılarda hafif ve orta şiddette bir metabolik asidozis şeklinde olduğu belirlendi. İshal ile birlikte dışkı içerisinde Na⁺, Cl⁻ ve K⁺ iyonlarının kaybı şekillenmekte ve bu kayıplara bağlı olarak söz konusu iyonların toplam vücut sıvılarındaki düzeyleri azalmaktadır (Constable 2013). Bu çalışma kapsamında değerlendirilen ishalli buzağuların Na ve K seviyelerinin sağlıklı buzağuların ortalamalarına göre istatistiksel anlamlı değişimler göstermediği buna karşın iCa konsantrasyonlarındaki değişimlerin mono ve koenfekte gruplarda sağlıklı gruba göre p<0,05 düzeyinde düşük olduğu belirlendi. Potasyum seviyesinde meydana gelen değişimlerde istatistiksel anlamlı farklılıkların bulunmaması söz konusu buzağuların dehidrasyondan orta derecede etkilenmelerine rağmen metabolik asidozisten aynı düzeyde etkilenmemeleri ile açıklanabilir. Ancak ishal ile birlikte gelişen metabolik asidozisin tamponlanması açısından H⁺ iyonlarının hücre içersine taşınıp K iyonlarının hücre dışarısına gönderilmesi ve K iyonlarının renal tübüler atılmalarının azalmasına bağlı olarak serumdaki K konsantrasyonları artış eğilimindedir (Constable 2013, Şen ve Constable, 2013). Organizmada K noksanlığı olarak karşımıza çıkan bu durumun metabolik asidozisin derecesine ve süresine bağlı olarak farklı derecelerde artışlar ile karakterize olabileceği, orta şiddette dehidre buzağılarda serum K konsantrasyonlarının 5,36 ± 0,35 mmol/L (Güzelbektaş ve ark, 2007), 4,86 ± 0,22 ve 5,18 ± 0,35 mmol/L (Coşkun ve ark, 2010) ve 5,66 ± 1,43 mmol/L (Öcal ve ark, 2006) seviyelerinde olabileceği bildirilmektedir. Sodyum konsantrasyonlarındaki değişimlerin literatürler ile uyumlu olduğu araştırma kapsamında değerlendirilen buzağuların ishale yakalanma süreleri göz önüne alındığında Na kayıplarının sağlıklı buzağulara göre anlamlı değişimler göstermediği görülmektedir. İshalli buzağılarda süt emme isteksizliği ve literatürlerde bildirildiği gibi (Grove-White ve Mitchell 2001) çalışmada değerlendirilen buzağularında ılımlı düzeyde hipokalsemik oldukları belirlendi.

Çocuklarda ishale neden olan Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, S. typhimurium, Salmonella ve Shigella üzerinde bakterisit etkileri olan anti-mikrobik peptitlerin vitamin D seviyeleri ile ilişkili olarak düzenlediğini bildirilmektedir. (Ouellette ve ark 1994, Welkamp ve ark. 2007, Gudmundsson ve ark. 2010). Söz konusu

etkilerinin yanı sıra bağırsak yüzeyindeki enfeksiyonlara karşı koruma sağlayan ve sızıntılı bağırsak sendromunuda gelişmesini engelleyen gap junksınları güçlendirdiği bilinmektedir (Kong ve ark. 2008, Fujita ve ark. 2008). İnflamatuar bağırsak hastalığı'nda (IBH) kan serumlarındaki 25 (OH) D₃ seviyelerinin normal ya da düşük seyir edebileceği ya da 25 (OH) D₃ seviyelerindeki azalmaların hastalığın bir sonucu olarak da şekillenebileceği yönü ile araştırmalara da ulaşılmaktadır (Aaron ve Andrew 2015). Çalışma kapsamında değerlendirilen monoenfekte ve koenfekte ishalli buzağılarda serum 25 (OH) D₃ seviyelerinin sağlıklı gruba karşın anlamlı derecede (p<0,01) düşük olduğu belirlendi. Monoenfekte grupta bulunan buzağılarda serum 25 (OH) D₃ seviyelerinin 39,0 ± 2,33 ng/ml seviyesinde olduğu, enfeksiyonun daha şiddetli olduğu ko-enfekte grupta ise serum vitamin D₃ seviyelerinin 36,85 ± 2,10 ng/ml seviyelerinde olduğu enfeksiyonun şiddeti arttıkça 25 (OH) D₃ seviyelerinin azalmalarının belirginleştiği görülmektedir. Sağlıklı sığırlarda 25 (OH) D₃ seviyelerinin plazmadaki konsantrasyonlarının 20- 50 ng / ml arasında olması gerektiği bildirilmektedir (Horst ve ark 1994). Bu çalışmada belirlenen sağlıklı sığırlara ait 25 (OH) D₃ seviyelerinin 65,86 ± 2,81 ng/ml seviyelerinde olduğu ve literatürlerde bildirilen değerlere ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu belirlendi. Yine mono ve koenfekte gruplarda bulunan buzağuların 25 (OH) D₃ seviyelerinin araştırmanın kontrol grubu değerlerine göre düşük olmasına rağmen literatür verileri ile karşılaştırıldığında referans aralıklar içerisinde bulunduğu belirlendi. Bu durumun ishal gelişen buzağuların beslenmesinde kullanılan konsantre yemler içerisinde bulunan 25 (OH) D₃ seviyeleri ile ilişkili olduğu düşünülmekte ve sağlıklı referans aralıkların belirlenmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunun göstergesi olarak açıklanabilir.

Hastalıkların erken dönemde teşhisi kapsamında hastalık biyobelirteçlerinin değerlendirilmesi ve değişimlerin doğru yorumlanması gerekmektedir. Bu kapsamda akut faz yanıtta meydana gelen değişimlerin değerlendirilmesi beşeri hekimlikte olduğu kadar veteriner hekimliğinde de kullanım alanı bulmaktadır. Dokularda meydana gelen enfeksiyon, doku zedelenmesi, neoplastik oluşumlar ve immünolojik değişimlere bağlı olarak akut faz yanıt gelişmekte ve başta karaciğer olmak üzere birçok doku tarafından sentezlenen proteinlerin seviyelerinde artışlar ve azalmalar ile karakterize durumlar ortaya çıkmaktadır (Pfeffer ve ark. 1993, Petersen ve ark. 2004). Fibrinojen seviyelerinin hayvanlarda enfeksiyöz durumların birçoğunda artış eğiliminde bulunduğu (McSherry ve Horney 1970) özellikle ruminantlarda uzun yıllardan beri enflamasyon düzeylerinin belirlenmesinde kullanıldığı bildirilmektedir (Eckersall ve Conner 1988). Bu çalışma kapsamında değerlendirilen buzağuların fibrinojen

konsantrasyonlarının enfeksiyon gruplarında sağlıklı buzağılara kıyasla $p < 0,01$ düzeyinde yüksek olduğu belirlendi (Tablo 6). Söz konusu değişimlerin literatürlerde bildirilen artışlara paralellik gösterdiği ve değişimlerdeki farklılıkların enfeksiyonun şiddeti ve süresine bağlı olarak değişim gösterebileceği düşünüldü. Beşeri hekimlik alanında yapılan araştırmalarda enflamasyon biyobelirteçleri ve 25 (OH) D₃ seviyeleri arasında önemli ilişkilerin bulunduğu ve söz konusu ilişkinin özellikle kardiyometabolik hastalıklar açısından önem arz ettiği bir çok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Hypponen ve ark. 2001, Lappe ve ark. 2007, Reis ve ark. 2009). Araştırmamız kapsamında ruminantlar için pozitif akut faz proteini olan fibrinojen konsantrasyonlarındaki artışlar ile 25 (OH) D₃ konsantrasyonundaki azalmalar arasında negatif yönlü bir korelasyonun bulunduğu ($r = -0,403$) ve bu değişimlerin $p < 0,05$ seviyesinde anlamlı olduğu belirlendi. Beşeri hekimlikte yapılan araştırmalar göz önüne alındığında ruminantlar için pozitif bir akut faz biyobelirteci olan fibrinojen seviyelerinin insanlardakine benzer şekilde 25 (OH) D₃ konsantrasyonlarında azalmalar ile karakterize olduğu görülmektedir. Araştırmamız kapsamında sağlıklı buzağuların 25 (OH) D₃ konsantrasyonlarının mono-enfekte ve ko-enfekte ishelli buzağularda anlamlı derecede yüksek olduğu belirlendi. Bu durum 25 (OH) D₃'nin akut yangısal durumlarda azaldığını gösteren diğer araştırmalar (Reid ve ark 2011) ile paralellik göstermektedir.

Yapılan incelemelerde ishelli buzağularda akut hastalık bulgularına paralel olarak mono ve ko enfeksiyon gruplarında vitamin D konsantrasyonlarının anlamlı derecede azaldığı ve 25 (OH) D₃ seviyelerinin ishal bulgusu gösteren buzağularda negatif akut faz biyobelirteci olarak kullanılabilirliği sonucuna ulaşıldı.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Ofisi (ADU-BAP) tarafından VTF-18023 proje numarası ile desteklenmiştir.

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda "Neonatal İshelli Buzağularda 25 (OH) D₃ Konsantrasyonlarının Araştırılması" başlığı ile tamamlanan Yüksek Lisans Tezinin bir bölümünden özetlenmiştir.

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunca 64583101/2018/052 numaralı izin dahilinde gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

Aaron S, Bancil- Andrew P. The Role of Vitamin D in Inflammatory Bowel Disease. *Healthcare*, 2015;3:338-350.

- Bouda J, Doubek J, Medina-Cruz M, Paasch ML, Candanosa AE, Dvořák R, Soška V. Pathophysiology of severe diarrhoea and suggested intravenous fluid therapy in calves of different ages under field conditions. *Acta Veterinaria Brno*, 1997;66(2):87-90.
- Conner J, Eckersall P, Wiseman A, Aitchison T, Douglas T. Bovine acute phase response following turpentine injection. *Research in Veterinary Science*, 1988, 44, 82-88
- Constable P. Hyperkalemia in diarrheic calves: Implications for diagnosis and treatment. *The Veterinary Journal*, 2013;195:271-272.
- Constable PD, Walker PG, Morin DE, Foreman JH. Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 1998;212:991-996.
- Coskun A, Sen I, Guzelbektes H, Ok M, Turgut K, Canikli S. Comparasion of the effects
- Dărăbuș G, Oprescu I, Morariu S, Mederle N, Imre K, Imre M, Brudiu I. The study of some haemathological parameters in infection with *Cryptosporidium* spp. and other enteropathogens in calves. *Lucrari Stiintifice-Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, Medicina Veterinara*, 2009;42(1):5-15.
- Eckersall P, Conner J. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet Res Commun*, 1988;12:169-178.
- Fujita H, Sugimoto K, Inatomi S, Maeda T, Osanai M, Uchiyama Y, Yamamoto Y, Wada T, Kojima T, Yokozaki H, Yamashita T, Kato S, Sawada N, Chiba H. Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D-dependent Ca²⁺ absorption between enterocytes. *Molecular Biology of the Cell*, 2008;19:1912-1921.
- Grove-White DH, Michell AR. Comparison of the measurement of total carbon dioxide and strong ion difference for the evaluation of metabolic acidosis in diarrhoeic calves. *Veterinary Record*, 2001;148:365-370.
- Gudmundsson GH, Bergman P, Andersson J, Raqib R, Agerberth B. Battle and balance at mucosal surfaces--the story of Shigella and antimicrobial peptides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2010;396:116-119
- Güzelbekteş H, Coşkun A, Sen I. Relationship between the degree of dehydration and the balance of acid-based changes in dehydrated calves with diarrhoea. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2007, 51, 83-87.
- Hafez AM. Untersuchungen zum Verhalten einiger Elektrolyte in Pansensaft, Blutsrum und Harn sowie des roten und weissen Blutbildes bei gesunden und enteritiskranken Rindern im Hinblick auf therapeutische Schlussfolgerungen. *Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover, Deutschland*, 1974.
- Haque UJ, Bathon JM, Giles JT. Association of vitamin D with cardiometabolic risk factors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2012;64(10):1497-1504.
- Hirvonen J, Pyorala S. Acute-phase response in dairy cows with surgically treated abdominal disorders. *Veterinary Journal*, 1998, 155, 53-61.
- Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA. Adapting to the transition between gestation and lactation: Differences between rat, human and dairy cow. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 2005;10:141-156.
- Hypponen E, Laara E, Reunanen A, et al. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*, 2001;358(9292):1500-1503.
- Jorgensen SP, Agnholt J, Glerup H, et al. Clinical trial: vitamin D3 treatment in Crohn's disease - a randomized double-

blind placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther*, 2010; 32(3):377-383.

Klein D, Kern A, Lapan G, Benetka V, Möstl K, Hassl A, Baumgartner W. Evaluation of Rapid Assays for the Detection of Bovine Coronavirus, Rotavirus A and *Cryptosporidium parvum* in Faecal Samples of Calves. *Vet J*, 2009;182:484-486

Kong J, Zhang Z, Musch MW, Sun J, Hart J, Bissonnette M, Li YC. Novel role of the vitamin D receptor in maintaining the integrity of the intestinal mucosal barrier. *American Physiological Society-Gastrointest and Liver Physiology*. 2008;294:208-216.

Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2007; 85(6):1586-1591

Lorenz I. D-Lactic acidosis in calves. *Veterinary Journal*, 2009;179(2):197-203.

McSherry B, Horney F. Plasma fibrinogen levels in normal and sick cows. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1970, 34, s-191-7

Ok M, Güler L, Turgut K, Ok U, Sen I, Gündüz IK, Birdane MF, Güzelbekteş H. The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. *Zoonoses Public Health*, 2009;56(2):94-101.

Ouellette AJ, Hsieh MM, Nosek MT, Cano-Gauci DF, Huttner KM, Buick RN, Selsted ME. Mouse Paneth cell defensins: primary structures and antibacterial activities of numerous cryptdin isoforms. *Infection and Immunity*. 1994;62:5040-5047.

Öcal N, Duru SY, Yağcı BB, Gazyağcı S. İshalli buzağılarda asit-baz dengesi bozukluklarının saha şartlarında tanı ve sağaltımı. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2006, 12(2),175-183.

Pfeffer A, Rogers K, O'keeffe L, Osborn P. Acute phase protein response, food intake, liveweight change and lesions following intrathoracic injection of yeast in sheep. *Research in Veterinary Science*, 1993;55:360-366.

Reid D, Toole BJ, Knox S, Dinesh T, Johann H, Denis St JO, Scott B, John K, McMillan CD, Wallace AM. The relation between acute changes in the systemic inflammatory response and plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations after elective knee arthroplasty. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2011;93:1006-1011.

Reis JP, Von Muhlen D, Miller ER, Michos ED, Appel LJ. Vitamin D status and cardiometabolic risk factors in the United States adolescent population. *Pediatrics*, 2009; 124(3):371-379.

Shamsir Ahmet AM. Association of Vitamin D status with acute respiratory infection and diarrhoea in children less than two years of age in an urban slum of Bangladesh. PhD Thesis, School of Public Health, The University of Queensland, 2016

Slanina L, Rossow N, Horvath Z, Fischer G. Innere Krankheiten der Haustiere. Bd II: Funktionelle Störungen, Stoffwechselüberwachung in Kaelbernbestaende, 1988;536- 544.

Smith GW, Berchtold J. Fluid therapy in calves. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 2014;30(2):409-427.

Şen İ, Constable PD. General overview to treatment of strong ion (metabolic) acidosis in neonatal calves with diarrhea. *Eurasian Journal of Veterinary Science*, 2013, 29(3), s-14-120.

Şen İ, Güzelbekteş H, Yıldız R. Neonatal buzağı ishalleri: Patofizyoloji, epidemiyoloji, klinik, tedavi ve koruma. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Science*, 2013;4(1);71-78.

Taylor JA. Leukocyte Responses in Ruminants. In, Bernart FF, Joseph GZ, Nemi CJ (Eds): *Schalm's Veterinary Hematology*, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2000;5:391-401.

Wehkamp J, Schaubert J, Stange EF. Defensins and cathelicidins in gastrointestinal infections. *Current opinion in gastroenterology*, 2007;23:32-38.