UYGULAMALI BİLİMLERDE GÜNCEL ÇALIŞMALAR -I

EDİTÖRLER
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Fatih DEMİREL
Doç. Dr. Osman YILMAZ
Doç. Dr. Özlem ORUNÇ KILINÇ



İKSAD
Publishing House

UYGULAMALI BİLİMLERDE
GÜNCEL ÇALIŞMALAR - I

EDİTÖRLER

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Fatih DEMİREL
Doç. Dr. Osman YILMAZ
Doç. Dr. Özlem ORUNÇ KILINÇ

YAZARLAR

Prof. Dr. Fatmagül YUR
Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN
Prof. Dr. Nazmi YÜKSEK
Prof. Dr. Nuri ALTUĞ
Prof. Dr. Yıldıray BAŞBUĞAN
Doç. Dr. Adnan AYAN
Doç. Dr. Gül Deniz YILMAZ YELVAR
Doç. Dr. Halit Deniz ŞİRELİ
Doç. Dr. Osman YILMAZ
Doç. Dr. Özlem ORUNÇ KILINÇ
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Cihat ÖNER
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Fatih DEMİREL
Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇAKMAKÇI
Vet. Hekim Dr. Priscila ASSIS FERRAZ
Öğr. Gör. Cercis Atahan ATLİ
Arş. Gör. Murat TURAN
Uzm. Fzt. Berna BALCI
Zir. Yük. Müh. Yusuf ÇAKMAKÇI
Y. L. Öğr. Bayram OLCAR
Y. L. Öğr. Fırat BÜLBÜLLER
Y. L. Öğr. Selma DALGA
Cahit ABİ

İKSAD Publishing House

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

It is responsibility of the author to abide by the publishing ethics rules.
Iksad Publications – 2023©
ISBN: 978-625-367-523-3
Cover Design: İbrahim KAYA
December / 2023
Ankara / Türkiye
Size= 16x24cm

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ……...……1

BÖLÜM I
VETERİNER FİZYOTERAPİDE MANUEL TERAPİ UYGULAMALARI
Uzm. Fzt. Berna BALCI
Doç. Dr. Osman YILMAZ
Doç. Dr. Gül Deniz YILMAZ YELVAR……..……..3

BÖLÜM II
AKILLI HAYVANCILIK TEKNOLOJİLERİ: YAPAY ZEKÂ DESTEKLİ HAYVAN İZLEME ÇÖZÜMLERİ
Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇAKMAKÇI
Arş. Gör. Murat TURAN
Zir. Yük. Müh. Yusuf ÇAKMAKÇI
Vet. Hekim Dr. Priscila ASSIS FERRAZ
Y. L. Öğr. Fırat BÜLBÜLLER
Y. L. Öğr. Selma DALGA
Y. L. Öğr. Bayram OLCAR
Doç. Dr. Halit Deniz ŞİRELİ……..……..23

BÖLÜM III
BİTLİS İLİ BÜYÜKBAŞ HAYVANCILIĞININ MEVCUT DURUMU ÜZERİNE GENEL DEĞERLENDİRME
Öğr. Gör. Cercis Atahan ATLİ
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Fatih DEMİREL……...….37

BÖLÜM IV
İSHALLI BUZAĞILARDA PROBIYOTIK KULLANIMININ GENEL DURUM, IMMUNOGLOBULIN DÜZEYLERI, HEMATOLOJIK VE BIYOKIMYASAL PARAMETRELER ÜZERINE ETKISININ ARAŞTIRILMASI
Doç. Dr. Özlem ORUNÇ KILINÇ
Prof. Dr. Nazmi YÜKSEK
Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN
Prof. Dr. Yıldıray BAŞBUĞAN
Prof. Dr. Nuri ALTUĞ……..….55

BÖLÜM V
BİTKİLERİN FİTOÖSTROJENİK ETKİLERİ
Prof. Dr. Fatmagül YUR
Dr. Öğr. Ü. Ahmet Cihat ÖNER……..…..85

BÖLÜM VI
LABORATUVAR HAYVANLARINDA ÇÖREK OTU (*Nigella sativa*) İLE İLGİLİ YAPILAN ÇALIŞMALAR
Doç. Dr. Özlem ORUNÇ KILINÇ
Doç. Dr. Adnan AYAN
Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Cihat ÖNER
Cahit ABİ……103

ÖNSÖZ

Son yıllarda akademik çalışmalarda bilimsel manada çok önemli gelişmeler yaşanmakta ve multidisipliner yaklaşımlar artmaktadır. Bu kitabın amacı, multidisipliner çalışma alanlarında ortak bir çalışma yapıp ve bilim dünyasına farklı bakış açılarıyla birlikte yeni ufuklar kazandırmaktır. Bu bağlamda, farklı alanlarda çalışan bilim adamlarının akademik çalışmalarını bir araya getirerek, ortak bir kitapta buluşulması bilimsel kültür açısından oldukça önemli bir yer tutmaktadır. Kitabımızda emeği geçen tüm bilim insanlarına teşekkür ederiz. Kitabın mizanpajında ve hazırlanmasında emeği geçenlere, ayrıca basımında her türlü desteği veren İKSAD yayınevine sonsuz şükranlarımızı sunuyoruz.

Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Fatih DEMİREL
Doç. Dr. Osman YILMAZ
Doç. Dr. Özlem ORUNÇ KILINÇ

Van – 2023

BÖLÜM IV

İSHALLI BUZAĞILARDA PROBIYOTIK KULLANIMININ GENEL DURUM, IMMUNOGLOBULIN DÜZEYLERI, HEMATOLOJIK VE BIYOKIMYASAL PARAMETRELER ÜZERINE ETKISININ ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Özlem ORUNÇ KILINÇ[1]
Prof. Dr. Nazmi YÜKSEK[2]
Prof. Dr. İsmail Hakkı EKİN[3]
Prof. Dr. Yıldıray BAŞBUĞAN[4]
Prof. Dr. Nuri ALTUĞ[5]

DOI: https://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10413820

[1]Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Özalp Meslek Yüksekokulu, Van, Türkiye. ozlemkilinc@yyu.edu.tr, ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6233-7109
2Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dahiliye Anabilim Dalı, Van, Türkiye. nyuksek@yyu.edu.tr, ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4613-9334
[3]Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Van, Türkiye. ihekin@yyu.edu.tr, ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5029-8130
[4]Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dahiliye Anabilim Dalı, Van, Türkiye. yildiraybasbugan@yyu.edu.tr, ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5124-7853
[5]Necmettin Erbakan Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veterinerlik İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ereğli, Konya, Türkiye. nurialtug@gmail.com, ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5805-0340

1. GİRİŞ

Buzağı ishali olguları enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan nedenlerden dolayı çok sayıda ve sulu dışkılama ile karşımıza çıkmaktadır (Argenzio 1984; Hall ve ark., 1992). Yenidoğan buzağılarda ishal, sıklıkla yenidoğan dönemi olarak bilinen doğumu takip eden ilk 2 ila 10 gün arasında görülür. Yenidoğan ishal vakalarının etiyolojik faktörlerin oldukça karmaşık olması, etkili bir tedavi uygulanmasının zor olması, sıvı-elektrolit tedavisinin düzenli ve doğru şekilde yapılamaması nedeniyle sığır yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından biri olduğu belirtilmektedir (Altuğ ve ark., 2016; Bartels ve ark., 2010; Lorenz ve ark., 2011).

Yenidoğan ishalleri önemli bir ölüm nedenidir. Hem ölümler hem de tedavi için yapılan harcamalar ciddi maddi kayıplara neden olmaktadır. Bu nedenle tedavi ve koruyucu hekimliğin planlanmasında faktörlerin doğru izolasyonu önemlidir. Profilaksi ve tedavi alanındaki tüm gelişmelere rağmen yenidoğan buzağılarda ishal hala önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu durum ishal etiyolojisinde rol oynayan faktörlerin karmaşık olmasından kaynaklanmaktadır. Yenidoğan ishal vakalarında bulaşıcı ajanlar arasında bakteri, virüs ve parazitler bulunur. Bu enfeksiyon etkenleri buzağılarda tek başına ve/veya karışık enfeksiyonlar şeklinde ishale neden olur (Bartels ve ark., 2010; Hall ve ark., 1992). Daha önce yapılan çalışmalarda (Aurich ve ark., 1990; Bartels ve ark., 2010; Khan ve Khan 1991; Sbodgrass ve ark., 1986; Young ve Yoon 2014), buzağı ishallerinin en sık görülen nedenleri bakteriyel faktörlerden Esccheria coli (E. coli), viral faktörlerden rotavirüsler ve koronavirüsler, paraziter faktörlerden ise *Cryptosporidium*, *Giardia*, *Toxocara* ve *Eimeria* türleridir. Khan ve Khan (1991), buzağılarda ishal ve mortaliteden sorumlu enfeksiyöz nedenlerin çoğunlukla *rotavirüs*, *koronavirüs*, *E. coli*, *Salmonella* ve *cryptosporidium* faktörlerini içerdiğini, özellikle *E. coli* ve rotavirüslerin yüksek morbiditeye neden olan neonatal buzağı ishallerinin ana nedenleri olduğunu belirlemişlerdir. Bu etiyolojik faktörlerin bir araya gelerek daha ciddi kayıplara neden olması, buzağı ishali vakalarının önemini arttırmıştır (Ok ve ark., 2009).

Şiddetli ishallerde, kısa sürede sıvı kaybıyla gelişen hipovolemi sonucu böbrek yetmezliği, elektrolit (bikarbonat) kaybı ve/veya yer değiştirmesi (Na++, K+, H+) sonucu gelişen metabolik asidoz ve bunun sonucunda kalp

bloğu oluşması. hiperkalemi buzağılarda ölümlere neden olur (Altuğ ve ark., 2016; Setia ve ark., 1990). Bu durumu önlemek için etiyolojik tanının kısa sürede konulması ve tedavinin yönetilmesi son derece önemlidir. Etiolojik tanı amacıyla genellikle *E. coli* için bakteri kültürleri, rotavirüsler ve koronavirüsler için poliakrilamid jel elektroforezi, fluoresan antikor ve ELISA yöntemleri, *Cryptosporidium* için boyama teknikleri kullanılmaktadır (Aslan ve ark., 2013; Bartels ve ark., 2010; Çabalar ve ark., 2001; Khan ve Khan 1991; Young ve Yoon 2014; Thorns ve ark., 1992). Ancak son yıllarda bu yöntemlere ek olarak, özellikle ishal gelişiminde en büyük rolü oynadığı bilinen bu etkenlerin dışkıdan hızlı etiyolojik tanısına olanak sağlayan immünokromatografik test kitlerinin sahada kullanılabileceği belirtilmektedir (Al-Yousif ve ark., 2002; Luginbühl ve ark., 2005; Trotz ve ark., 2005). Benzer şekilde son zamanlarda moleküler testlerin de etken tanısında oldukça başarılı ve duyarlı olduğu rapor edilmiştir.

İshalli buzağıların tedavisinde öncelikle beslenme tedbirlerinin alınması, hidrasyonun sağlanması ve asit-baz ve elektrolit dengesinin onarılması önemlidir. İshalin neden olduğu dehidrasyon ve hipovolemi sonucu gelişen böbrek yetmezliği tedavisinde sağlanacak sıvının hacmi, doğrudan ishalin tedavisine yönelik tedavi uygulamaları (özellikle bikarbonat veya bikarbonat öncüllerini içeren intravenöz solüsyonlar) ishal tedavisinin en önemli hususlarıdır. Bikarbonat kaybı sonucu gelişen metabolik asidozun tedavisinde bikarbonat eksikliğinin dolaylı olarak telafi edilmesi gerekmektedir (Groutides ve Michell 1990; Ulutaş 1998).

Yenidoğan ishal vakalarının tedavisi zahmetli olup, etkene karşı doğru tedavilerin uygulanması tam iyileşme için şarttır. Ancak ajanın doğru izolasyonu gereklidir. Genel olarak ishal tedavisinde antibiyotikler kullanılır ancak viral ve paraziter hastalıklarda bunun faydası yoktur. Bu nedenle ekonomik kayıpların önlenmesinde alınacak önleyici tedbirlerin önemi büyüktür. Son otuz yılda bağırsak ve işkembedeki mikrobiyota popülasyonunu karakterize etmek ve bunun ruminant beslenmesi ve sağlığındaki önemini anlamak için birçok çalışma yapılmıştır. Süt sığırlarında ana fermantasyon odası olan işkembe, 100 milyar bakteri, protozoa, metanojen ve diğer anaerobik mantarları içeren farklı mikrobiyal popülasyonları içerir. Bağırsak mikrobiyotasının dengelenmesine yardımcı olmak için, yararlı mikropların/probiyotiklerin geviş getiren hayvanların yetiştirilmesinde

uygulanmasına ve bağırsak sağlığının iyileştirilmesi yoluyla antibiyotik kullanımına potansiyel bir alternatif bulunmasına yönelik araştırma ilgisi giderek artmaktadır. Probiyotikler "yeterli miktarda verildiğinde konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak biliniyor. Probiyotikler yaygın olarak sağlık yararları olan patojenik olmayan mikroplar olarak kabul edilmektedir (He ve ark., 2017; Nageshwar ve ark., 2016). Son zamanlarda buzağılarda ishalin önlenmesinde probiyotiklerin kullanımı ve gelişim performansına etkileri üzerine yapılan çalışmaların sayısı sürekli artmaktadır (Işık ve ark., 2004; Le ve ark., 2017; Valencia ve ark., 2017). Valensiya ve ark. (2017) antibiyotik tedavisini desteklemek amacıyla probiyotik kullanımının ishalli hayvanlarda tedaviye erken yanıt verilmesini sağladığını ve büyümelerine olumlu katkı sağladığını bildirmişlerdir. Nageshwar ve ark. (2016) probiyotik bakteri olarak Lactobacillus sporogens ve Saccharomyces cerevisiae'yi kullanmışlar ve her iki türün de büyüme performansını artırdığını ve ishale karşı direnç geliştirdiğini ortaya koymuşlardır.

Bu çalışmada neonatal ishalli buzağılarda rutin ishal tedavisine ek olarak probiyotik (*Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum* ve Lactobacillus casei) uygulamasının hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine ve tedavi başarısına etkileri araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Malzeme

Bu çalışmanın hayvan materyalini Türkiye'nin Van ili ve çevresinden temin edilen ishalli 20 buzağı oluşturdu. Araştırmaya başlamadan önce Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan 30.11.2017 tarih ve 11 numaralı etik kurul onayı alındı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Grupların oluşturulması ve tedavi uygulamaları ve kan analizleri

Klinik muayenelerinde hafif derecede dehidrasyon görülen ve parenteral sıvı-elektrolit tedavisine ihtiyaç duymadığı düşünülen buzağılara sadece etiyolojik etkene yönelik tedaviler ve oral rehidrasyon uygulandı. Çalışmaya

sadece orta ila şiddetli dehidrasyon tespit edilen ve potansiyel olarak metabolik asidoz ve hiperkalemiye sahip olduğu tespit edilen ishalli buzağılar dahil edildi. İshalli buzağılar 10'arlı iki gruba ayrıldı. Her iki gruptan da 0. saatte kan örnekleri alınarak aşağıda belirtilen farklı tedavi seçenekleri uygulandı.

Grup I'deki hayvanlara (RTG: rutin tedavi grubu), %1,3 NaHCO3 +%0,9 NaCl + rutin ishal tedavisi uygulandı. Grup II'deki hayvanlara (PTG: rutin tedaviye ek olarak probiyotik verilen grup), %1,3 NaHCO3 + %0,9 NaCl + Oral takviyesi (*Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus* probiyotiklerini içeren Novostrum (Novakim®) ile tedavi uygulandı. plantarum ve *Lactobacillus casei*) + rutin ishal tedavisi.

Uygulama (tedavi) sonrasında 3. gün gruplardan tekrar kan örnekleri alınarak hematolojik ve biyokimyasal parametreler analiz edildi.

Kan örneklerinde hematolojik parametrelerden hematokrit değeri, hemoglobin konsantrasyonu, lökosit sayısı ve trombosit sayısı veteriner hematoloji analiz cihazı (MS4-s Veteriner Kan Sayımı Cihazı) kullanılarak belirlendi.

Biyokimyasal parametrelerden glukoz, total protein, albümin, üre, kreatinin, CK, AST, ALT ve LDH düzeyleri ölçüldü (Mindray BS 400® Veteriner Biyokimyasal Analiz Cihazı). Kan gazları (pH, PO2, PCO2, HCO3, TCO2, BE, O2SAT, O2CT, BB, SBE, SBC, AaDO2, RI) ve serum Na, K ve Cl düzeyleri ölçüldü (Radiometer ABL80®).

Ayrıca serum IgG (SunRed® bovine IgG ELISA kiti katalog No: DZE201040108), IgM (SunRed® bovine IgM ELISA kiti katalog No: DZE201040149), IgA (SunRed® bovine IgA ELISA kit katalog No: DZE201040109) ve IgE (SunRed® bovine) IgM ELISA kiti katalog No: DZE201040151) seviyeleri, türe özgü bir şekilde uygulanan bir ELISA kiti (DAS® İtalya) kullanılarak belirlendi.

2.2.2. Dışkı örneği alınması ve faktörlerin araştırılması

Öncelikle ishalli buzağıların tamamından steril dışkı kaplarına dışkı örnekleri toplandı. Toplanan dışkı örneklerinde dışkı bazlı hızlı test kitleri kullanılarak etiyolojik etkenlerin belirlenmesi amaçlandı. Dışkı örnekleri ayrıca parazitolojik incelemelere (nativ, sedimantasyon, flotasyon) tabi tutularak diğer paraziter etkenler (*Coccidia, Giardia, Toxocara*) açısından da analiz edildi.

Hızlı test kitleri ile ajanların tanımlanması

Laboratuvara getirilen örnekler ilk önce BoviD- 5 Ag (Bionote®) hızlı teşhis kitleri ile test edilerek *Coronavirus, Rotavirus*, E. coli K99, *Cryptosporidium* ve *Giardia* antigen yönünden bakıldı. Uygulama üretici firma önerileri doğrultusunda değerlendirildi. Pozitif sonuç alınan örneklerde viral ve bakteriyel etkenler PCR yöntemi ile doğrulandı.

BoviD- 5 Ag hızlı teşhis kiti ile *E. coli* K99 yönünden pozitif bulunan örnekler ise Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda incelendi. Bu amaçla hızlı teşhis kiti ile pozitif bulanan dışkı örnekleri MacConkey ve Eozin Metilen Blue (EMB) agar besiyerine ekilerek aerobik ortamda 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda MacConkey agar besiyerinde pembe renkli koloni oluşturan ve EMB agar besiyerinde metalik parlaklık veren koloniler Gram yöntemi ile boyanarak Gram negatif çomak şeklinde ve oksidaz reaksiyonu negatif olanlar E. coli K99 şüpheli olarak kabul edildi (Franck ve ark., 1998; Quinn ve arkç., 2011).

Ajanların PCR ile Moleküler Tanımlanması

a-Virolojik Analiz

Gaita örneklerinin hazırlanması

Virolojik çalışma amacıyla alınan gaita örnekleri 25000U/ml Penisilin ve 20mg/ml Streptomisin içeren PBS (Phosphat Buffer Saline) ile 1/10 oranında homojen hale getirildikten sonra, 3000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda Sığır Rotavirus ve Coronavirus nükleik asit varlığını araştırmak için, 400µl süpernatant alınarak RNA ase bulunmayan steril bir tüpe alındı.

Viral RNA izolasyonu

Sığır Rotavirus ve Coronavirus yönünden şüpheli hayvanlardan alınan marazi materyallerde bu viruslara yönelik nükleik asit varlığını araştırmak için RNA ekstraksiyonu Chomczynski ve Sacchi (1987) tarafından bildirilen yöntemle yapıldı. Elde edilen RNA'lar RT-PCR çalışmasında kullanılana kadar -20˚C'de saklandı.

Viral RNA'nın Ters Transkripsyonu

Sığır Rotavirus ve Coronavirus nükleik asit varlığını araştırmak için elde edilen viral RNA'ların komplementer DNA'ya (cDNA) çevrilmesi gerçekleştirildi. Bu amaçla Revertaid First StrandcDNA kiti (Fermentas, Litvanya) bildirilen prosedüre uygun olarak kullanıldı. Elde edilen cDNAlar konvansiyonel RT-PCR'da kullanılmak amacıyla -20˚C'de saklandı.

Konvansiyonel RT-PCR

Moleküler tanı amacıyla alınan gaita örneklerinde Sığır Rotavirus RNA'sını RT-PCR yöntemi ile ortaya koyabilmek için Miren ve ark. (2002) tarafından bildirilen primer dizinleri ve koşullar uygulanarak, Sığır Coronavirus RNA'sını RT-PCR yöntemi ile ortaya koyabilmek için Bok M. ve ark. (2015) tarafından bildirilen primerler ve amplifikasyon koşulları modifiye edilerek kullanıldı.

Nested PCR ile Cryptosporidium etkenlerinin teşhisi

Bu aşamada, iyice homojenize edilen dışkı örneklerinin her birinden QIAamp DNA Stool mini kit kullanarak DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA'lar PCR işleminde kullanılmak üzere -20 °C'de muhafaza altına alınmışlardır. *Cryptosporidium* spp.'nin SSU rRNA gen bölgesini amplifiye etmek için çalışmalarda kullanılan ilgili primerlerle Nested PCR gerçekleştirildi (Xiao ve ark. 2001; Ayan ve ark. 2020; Ayan ve Orunç Kılınç, 2020; Ertaş ve Ayan, 2021; Aslan Çelik ve ark. 2023a; Aslan Çelik ve ark. 2023b; Aslan Çelik ve ark. 2023c; Çelik ve ark. 2023a; Çelik ve ark. 2023b). PCR aşamasında 1325 bp büyüklüğndeki SSU rRNA gen bölgesini amplifiye etmek için 5'- TTCTAGAGCTAATACATGCG-3' ve 5'-CCCATTTCCTTCGAAACAGGA-3' primerleri Nested PCR aşamasında 5'-GGAAGGGTTGTATTTATTAGATAAAG-3' ve 5'-AAGGAGTAAGGAACAACCTCCA-3' primerleri kullanılmıştır. Reaksiyon koşulları Çelik ve ark. (2023c) e göre gerçekleştirilmiştir. Her iki reaksiyonda, 25 µl mastermix içerisinde 5 pmol forward ve reverse primer, 200 µM dNTPs, 3 mM $MgCl_2$, 1U Taq polymerase, 10 × PCR buffer (0.8 M Tris-HCl, pH 8.8, 0.2 M (NH4)2SO4, 0.1% Tween®20), Nuclease Free Water ve 2 µl of DNA kullanıldı. Her iki reaksiyonda denatürasyon Her iki reaksiyonda 95°C'de 15

dakikalık ön denatürasyonu takiben, her siklus denatürasyon (95°C'de 1 dakika), bağlanma (60°C'de 1 dakika) ve uzama (72°C'de 1 dakika) aşamalarından oluşmak üzere 35 siklus ve 72°C'de 7 dakikalık son uzama olacak şekilde gerçekleştirildi. Reaksiyon Thermal cycler cihazında yapıldı. Daha sonra % 1,5'luk agaroz jel hazırlanıp Safe-T-Stain ile boyandı. Ardından PCR ürünleri agaroz jelde koşturulup jel görüntüleme cihazında (Syngene bio imaging system) görüntüleri elde edildi.

Bakteriyolojik Çalışma

DNA izolasyonu

Bakteriyolojik çalışma amacıyla alınan gaita örnekleri PBS (Phosphat Buffer Saline) ile 1/10 oranında homojen hale getirildikten sonra santrifüj edildi. Şüpheli hayvanlardan alınan marazi materyallerde *E.coli ye* yönelik nükleik asit varlığını araştırmak için DNA ekstraksiyonu Chomczynski ve Sacchi (1987) tarafından bildirilen yönteme uygun yapıldı. Elde edilen DNA'lar PCR çalışmalarında kullanılana kadar -20˚C'de saklandı.

Konvansiyonel PCR ve Agaroz Jel Elektroforezi

Moleküler tanı amacıyla alınan gaita örneklerinde *Escherichiacoli* DNA'sını PCR yöntemi ile ortaya koyabilmek için Ajmi ve ark. (2006) tarafından bildirilen primer dizinleri ve koşullar uygulanarak PCR ürünlerinin jelde görüntülenmesi amacıyla, %1'lik agaroz jel ve jel görüntüleme sistemi kullanılarak PCR sonuçları (*E.coli:* 252bp) görüntülendi (Şekil 3).

İstatiksel analiz:

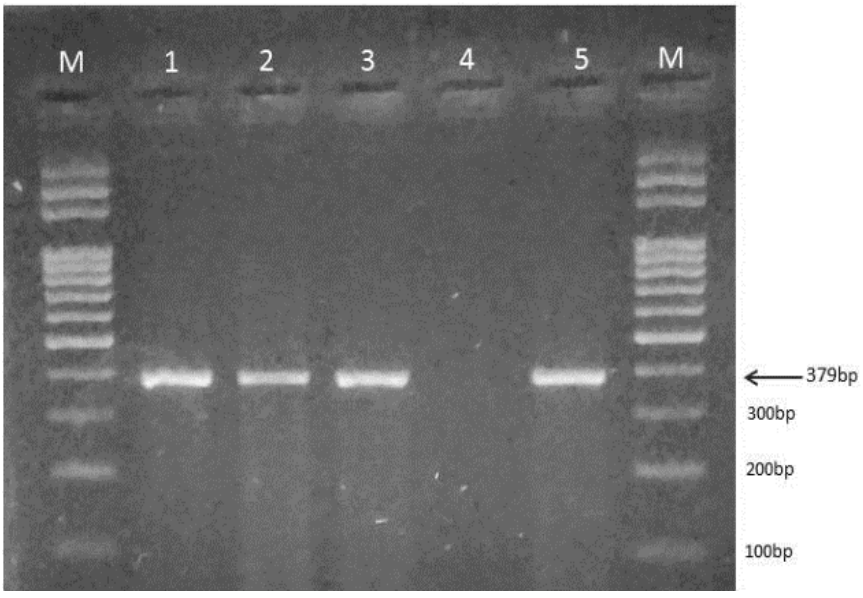
Biyokimyasal analiz sonuçları, ortalama ve standart sapma (X ± SD) hazır program (Minitabfor Windows) kullanarak standart metotlara göre yapıldı. Grup ortalamaları ve canlı ağırlıkları arasındaki fark Oneway ANOVA testine göre gerçekleştirildi. Değişiklikler arasındaki farklar da chi-quare testi ile belirlendi.

SONUÇ

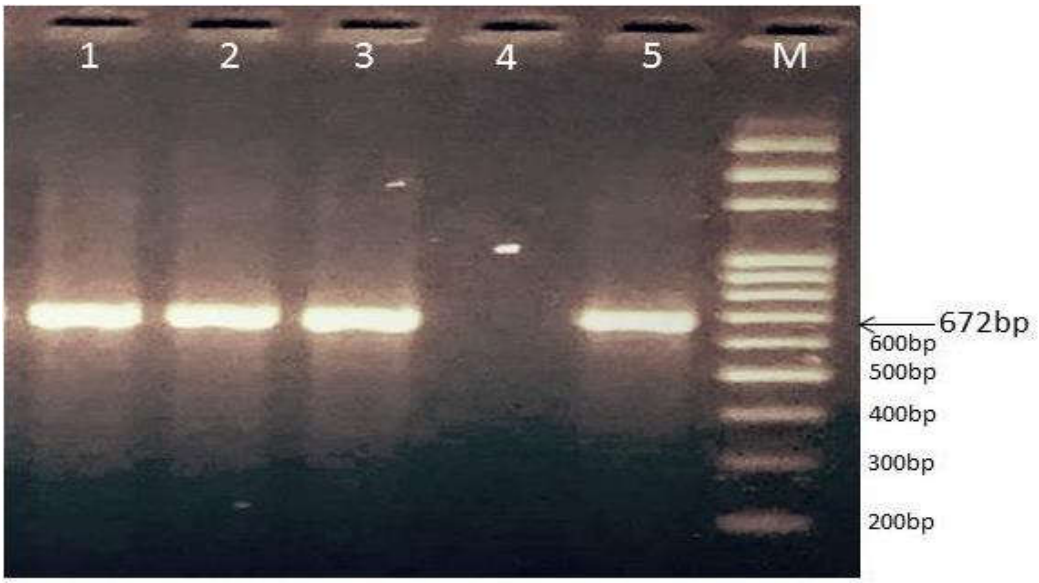
Yapılan klinik muayenelerde buzağıların tamamında ishal, dehidrasyon, hipotermi, kardiyak aritmi, taşikardi, cilt elastikiyetinde azalma ve gözlerde torbalanma olduğu belirlendi. Moleküler PCR testleri ve hızlı test kitleri ile yapılan test sonuçlarına göre RT grubundaki buzağıların 6'sında rotavirus, 5'inde koronavirus, 4'ünde cryptosporidium, 2'sinde ise *E. coli* tespit edildi. Prebiyotik grubundaki buzağıların 4'ünde rotavirüs, 4'ünde koronavirüs, 1'inde cryptosporidium ve 3'ünde E. coli tespit edildi (Tablo 1, PCR sonuçları şekil 1,2,3,4'te gösterilmiştir).

Tablo 1. I. ve II. grup buzağılarda tespit edilen etiyolojik bulgular

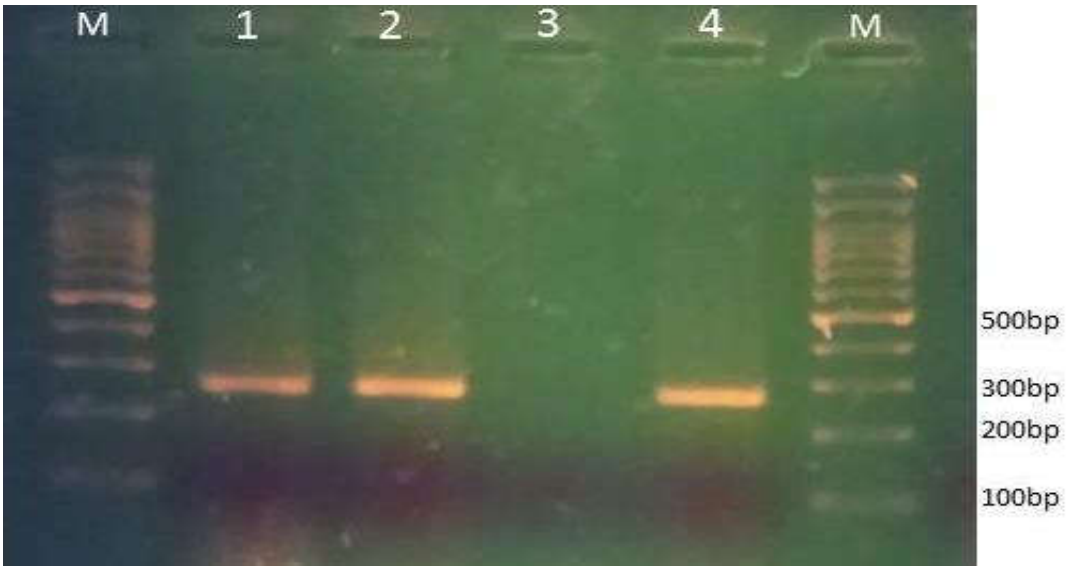
Etiyolojik Etkenler	I.GRUP	II. GRUP
Rota virüs	6	4
Corona virüs	5	4
Cryptosporidium spp	4	1
Escherichia coli	2	2



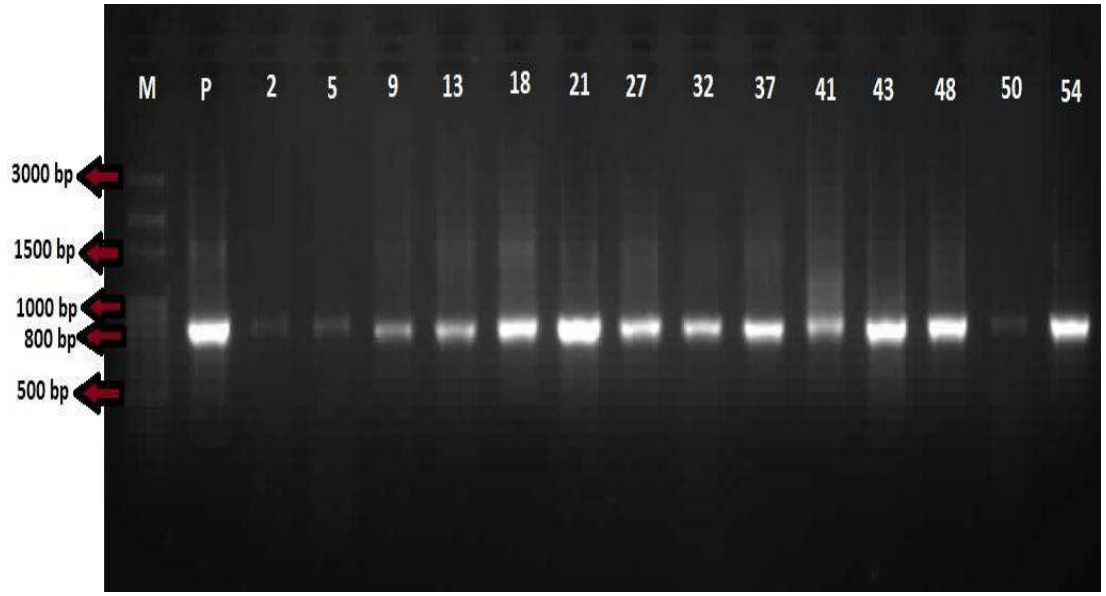
Şekil-1: Sığır *Rota* virus nükleik asiti yönünden RT-PCR agaroz jel görüntüleri (M: DNA ladder 100bp, 1,2,3: pozitif örnekler, 4: negatif kontrol, 5: pozitif kontrol).



Şekil-2: Sığır *Corona* virus nükleik asiti yönünden RT-PCR agaroz jel görüntüleri (M: DNA ladder 100bp, 1,2,3: pozitif örnekler, 4: negatif kontrol, 5: pozitif kontrol)



Şekil-3: *Escherichia coli* nükleik asiti yönünden PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüleri (M: DNA ladder 100bp, 1,2: pozitif örnekler, 3: negatif kontrol, 4: pozitif kontrol)



Şekil-4: *Cryptosporidium* spp. nükleik asiti yönünden PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüleri (M: DNA ladder 100bp, 1,3,4: pozitif örnekler, 2: negatif örnek, 5. negatif kontrol, 6: pozitif kontrol)

Alınan kan örneklerinden elde edilen hematolojik bulgular Tablo 2'de, elde edilen serumlardan yapılan biyokimyasal analizler Tablo 3'te ve venöz kandan elde edilen kan gazı analizleri Tablo 4'te verilmiştir., Serolojik analizlerle elde edilen Ig düzeyleri Tablo 5'te listelenmiştir. Bu çalışmada tedaviye ek olarak probiyotik uygulanan buzağıların tedavi sonrası WBC değerleri tedavi öncesine göre daha düşük olmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 2). Öte yandan BA seviyelerinde önemli bir artış, RBC, HCT ve HG seviyelerinde ise önemli azalmalar gözlendi. Rutin tedavinin uygulandığı grupta da benzer durum görüldü. Bu sonucun genellikle 3. günde ortaya çıkan tedaviye yanıttaki normalleşme süreciyle ilişkili olduğu değerlendirildi.

Sonuçlara göre 1. ve 2. grubun tedavi sonrası hematolojik parametreleri karşılaştırıldığında WBC, LYM ve HCT düzeylerinde normalleşme oranı 2. grupta daha yüksek iken aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Biyokimyasal incelemelerde tedavi öncesi ve sonrası sonuçlarda gruplar içi ve gruplar arasında istatistiksel fark saptanmadı (Tablo 3).

Kan gazı değerlerinin karşılaştırılması sonuçlarına göre 2. grupta tedavi öncesine göre pH, pO2, HCO3-, Na+ ve Cl- düzeylerinde artış, pCO2, HCT, K+ ve Baz düzeylerinde ise azalmalar olduğu görüldü. tedavi sonrası aşamaya kadar (Tablo 4). Bu değişikliklerden sadece Na+ ve Cl- değişikliklerinin

istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$). Bu artış ve azalmalar hayvanın uygulanan tedaviye olumlu yanıt verdiğini gösteriyordu. 1. grupta ön işlem aşamasından işlem sonrasına kadar pH, pO2 ve HCO3- düzeylerinde artışlar, pCO2, HCT, K+, Baz, Na+ ve Cl- düzeylerinde ise azalmalar meydana geldi. Her ne kadar 2. grupta 1. gruba göre tedaviye daha iyi yanıt alındığı düşünülebilirse de her iki grupta da Na+ ve Cl- düzeyindeki kayıplar akılda tutulmalıdır.

Tedavi sonrası gruplarda parametre düzeyleri karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir fark görülmedi (Tablo 4). İshale neden olan enfeksiyon etkenlerinin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri bilinmektedir. Savunma sistemi ishale neden olan enfeksiyon etkenleriyle savaşırken aynı zamanda vücudu tehdit eden diğer etkenlerle de savaşır. Bu çalışmada 2. grup hayvanlarında TS'den elde edilen bağışıklık sistemi hücrelerinde Ig M ve Ig G düzeylerinde artış, Ig A Ig E düzeylerinde ise azalma tespit edildi ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Tablo 2.Örnek gruplarının TÖ ve TS hematolojik düzeyleri

	I. Grup			**II. Grup**		
Parametre	**TÖ**	**TS**	**P**	**TÖ**	**TS**	**P**
WBC(m/mm^3)	16,75±2,9	13,83±2,8	0,354	13,41±2,	8,83±1,0	0,07
LYM(%)	38,97±4,9	42,70±2,9	0,466	37,18±6,	46,57±4,	0,11
MON(%)	8,95±1,63	8,66±1,43	0,868	5,31±0,7	7,46±1,1	0,05
NEU(%)	43,46±6,8	43,51±4,2	0,994	50,76±5,	42,87±5,	0,21
EO(%)	7,72±1,85	5,12±1,35	0,145	6,18±1,8	2,78±1,3	0,07
BA(%)	0,31±0,05	0,57±0,08	0,061	0,55±0,1	0,30±0,0	0,10
RBC(m/mm^3)	8,82±0,71	7,43±0,61^b	0,004	9,27±0,9	7,56±0,7	0,03
HCT(%)	33,04±3,0	26,70±2,5	0,001	33,55±3,	26,15±2,	0,01
HB(g/dL)	12,31±1,2	10,44±1,1	0,005	12,71±1,	10,48±1,	0,11

Grup içi Hematolojik parametrelerin TS' nin TÖ ye göre kıyaslamada aynı satır üzerinde bulunan harfler, TS nin TÖ ye göre istatisitiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olduğunu göstermektedir (a; $p<0,05$, b; $p<0,01$ ve c; $p<0,001$). I. Grup ile II. Grup arasında TS kıyaslama da; anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Grup 1 de hayvanlarından elde edilen Ig seviyelerinde Ig M seviyelerinde azalma, Ig G, Ig A ve Ig E seviyelerinde ise artış gözlendi. Bu değişiklikler 2.grupta olduğu gibi istatistiksel olarak anlamsızdır. Her iki grubun tedavi sonrası değerlendirmeleri değerlendirildiğinde, 2. grupta Ig M, Ig G, düzeylerinde daha belirgin bir değişiklik mevcut ancak bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlı değildi(Tablo 5). Bu durum, 1. grupta yer alan hayvanların, enfeksiyon etkenlerinin yüksek karakterine rağmen tedaviye daha iyi yanıt vermiş olabileceğinin bir göstergesi olabilir.

Tablo 3. I. ve II. Gruptan alınan kan örneklerinde TÖ ve TS biyokimyasal düzeyleri

	I. Grup		**II. Grup**	
Parametreler	**TÖ**	**TS**	**TÖ**	**TS**
LDH(U/L)	733,20±35,94	909,10±70,94	1002,77±184,92	945,55±135,05
CK(U/L)	698,85±193,02	965,85±436,69	843,22±575,86	469,00±103,13
CK-MB(U/L)	229,0±75,19	168,0±22,81	302,22±54,55	187,11±51,58
ALT(U/L)	27,90±3,12	36,40±5,87[a]	31,22±7,38	43,00±8,00[c]
AST(U/L)	58,80±7,61	79,90±12,93[a]	114,00±40,71	96,33±13,81
URE(mg/dL)	47,42±14,79	58,31±18,44	34,91±10,20	40,90±22,51
TP(g/dL)	9,83±0,51	8,85±0,29	12,00±1,13	8,19±1,25
ALB(g/dL)	3,95±0,14	3,71±0,16[a]	3,65±0,25	3,51±0,30
GLU(mg/dL)	100,86±8,82	105,66±7,83	97,07±8,50	113,37±8,65
Crea(mg/dL)	3,87±0,67	4,92±0,97	4,12±0,45	3,95±1,65

Grup içi biyokimyasal parametrelerin TS' verilerinin TÖ sine verilerine göre kıyaslamada aynı satır üzerinde bulunan harfler (a; $p<0,05$ ve c; $p<0,001$) TÖ verilerine göre istatisitiksel olarak önemli farklılık olduğunu göstermektedir. Gruplar arası TS kıyaslama da ise; I. Grup TS verileri ile II. Grup TS verileri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

Tablo 4. I. ve II. grup TÖ ve TS kan gazı düzeyleri

	I. Grup		II. Grup	
Parametreler	**TÖ**	**TS**	**TÖ**	**TS**
pH	7,22±0,05	7,34±0,34	7,23±0,06	7,28±0,07
pCO2(mmHg)	38,97±4,05	37,52±2,71	36,78±2,01	32,74±2,41
pO2(mmHg)	34,40±2,43	41,60±7,51	39,55±3,19	40,55±2,55
HCT %	35,80±3,38	24,80±2,55^{c}	27,50±3,20	25,25±2,81
cNa(mmol/L)	134,30±2,18	132,00±3,47	132,22±3,79	140,22±2,02$^{a\#}$
K^+ (mmol/L)	5,77±0,39	4,97±0,36	6,29±0,57	5,36±0,16
Ca^{+2}(mmol/L)	1,32±0,04	1,32±0,03	1,28±0,05	1,29±0,03
Cl^-(mmol/L)	98,90±2,07	97,60±2,92	94,22±2,50	102,22±1,80^{a}
Hb(g/dL)	11,66±1,12	7,92±0,85^{c}	8,91±1,07	8,12±0,94
HCO3(P) (mmol/L)	15,60±1,56	21,43±2,34 ^{b}	15,65±2,34	16,38±2,86
HCO3(Pst) (mmol/L)	15,15±1,53	21,64±2,10 ^{b}	15,75±2,40	17,13±2,76
Base (mmol/L)	-11,60±2,27	-3,21±2,42 ^{b}	-10,72±3,07	-4,77±4,57
Anion Gap(K^+)(mmol/L)	25,38±1,38	20,52±2,53	28,95±2,86	26,88±2,33
Anion Gap (mmol/L)	20,04±1,48	18,36±2,42	22,43±2,98	21,50±2,34

Grup içi TS' nin TÖ ye göre kıyaslamasında aynı satır üzerinde bulunan harfler TS nin TÖ ye göre istatisitiksel olarak farklılığının önemli olduğunu göstermektedir. (a; $p<0,05$, b; $p<0,01$ ve c; $p<0,001$). Gruplar arası bazı parametrelerde TS kıyaslamalarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmiştir (#; $p<0,05$).

Tablo 5. I. ve II. grup TÖ ve TS İmmunglobulin düzeyleri

	I. Grup		II. Grup	
Parametreler	**TÖ**	**TS**	**TÖ**	**TS**
Ig M (mg/ml)	0,93±0,21	1,13±0,31	0,50±0,10$^{\#}$	0,93±0,21
Ig G(mg/ml)	2,44±0,12	2,78±0,25	2,06±0,24	2,44±0,12
Ig E(µg/ml)	307,12±29,80	282,96±37,33	264,15±23,07	307,12±29,80
IgA(µg/ml)	0,23±0,04	0,22±0,03	0,22±0,02	0,23±0,04

Parametrelerde grup içi TS' nın TÖ ye göre karşılaştırılmasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmamıştır. Gruplar arası ise; TS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir (#; $p<0,05$).

4. TARTIŞMA

Yenidoğan buzağılarda ilk 3 haftalık dönemde ishal, sıklıkla karşılaşılan, hem enfeksiyöz hem de enfeksiyöz olmayan faktörlerden kaynaklanabilen, yüksek mortalite oranlarıyla seyreden komplike bir klinik durumdur. İshal vakalarında ölümler, tedavi masrafları ve iş gücü önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bunun için en akılcı yaklaşım önleyici tedbirlerin alınmasıdır. Buzağı ishallerinin etiyolojisinde viral, bakteriyel ve protozoal etkenler gibi çeşitli faktörler büyük rol oynamaktadır. İshalli yenidoğan buzağılarda gözlenen enteropatojenik faktörlere, sağlıklı buzağılardan alınan dışkı örneklerinde de rastlanabilir ve dolayısıyla patojenin varlığı mutlaka hastalığın nedeni olacağı anlamına gelmez (Groutides ve ark., 1990; Lorenz ve ark., 2011a; Lorenz ve ark., 2011b; Naylor 1987; Şahl ve ark., 1994; Özkan ve Akgül 2004). İshalin gelişmesinde etkili olan faktörler arasında uygun olmayan barınma koşulları, toplu yetiştirme yapılan barınma tesislerinde kullanılan aletlerin yeterince temizlenmemesi ve dezenfekte edilmemesi, yenidoğan buzağıya kolostrumun zamanında verilmemesi, bağırsak florasının yetersiz olması ve zayıf bağışıklık sayılabilir (Lorenz ve ark., 2011a; Lorenz ve ark., 2011b; Özkan ve Akgül 2004). İshalin etiyolojik faktörleri arasında yer alan enfeksiyon etkenleri buzağılarda sıklıkla ishale neden olabilmekte ve ishale bağlı buzağı ölüm oranlarını artırabilmektedir. İshalli buzağılarda en sık izole edilen etkenlerin *Escherichia coli*, Salmonella, Rotavirüsler, Coronavirüsler, *Cryptosporidium* spp., *Coccidia* spp. ve Giardia olduğu rapor edilmiştir (Aslan

ve ark., 2023; Aurich ve ark., 1990; Al-Yousif ve ark., 2002; Hall ve ark., 1992; Khan ve Khan 1991; Luginbühl ve ark., 2005; Sbodgrass ve ark., 1986; Young ve Yoon 2014) Bu çalışmada buzağıların dışkı muayeneleri pratik etiyolojik tespite olanak sağlayan Speed® V DIAR 5 (BVT® Diagnostica Veterinaria, Fransa) testi ile yapılmış ve PCR testleri ile sonuçlar doğrulanmıştır.

İshalli buzağılarda gözlenen klinik belirtiler arasında iştah kaybı, yumuşak veya sulu dışkı, hipoglisemi, hipotermi, halsizlik ve emme refleksinin kaybı yer aldığı gibi dizanteri ve kolik semptomları da mevcut olabilir. Ayrıca ishalli buzağıların ortalama vücut sıcaklığının 38,6°C, ortalama solunum sayısının dakikada 32 (24 ve 48) olduğu ve bu buzağılarda taşikardi gözlendiği belirtildi. İshal sonucu gelişen dehidrasyon ve asidoz, yeni doğan buzağıların ölümüne yol açabilmektedir. Çalışmaya dahil edilen buzağılarda dehidrasyon, metabolik asidoz, aritmi, taşipne ve hipotermi gibi bulgular görüldü. Bu sonuç daha önceki çalışmalarda bildirilen buzağı ishal vakalarında gözlenen klinik bulgularla uyumluydu (Başoğlu ve ark., 1992; Brobst 1986; Hartmann ve Kronberger 1976; Kirti ve ark., 1990; Özkan ve Akgül 2004).

Enfeksiyöz buzağı ishal vakaları büyüme geriliğine ve hatta ölüme neden olmakta ve bunun sonucunda ekonomik kayıplar yaşanmaktadır. Antibiyotikler bakteriyel etkenlere karşı faydalı kemoterapötik ajanlardır. Ancak viral ve paraziter etkenlere karşı etkili olmaları beklenmemektedir. Ayrıca antibiyotiğe dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına ve protozoal ishal vakalarının artmasına neden olabilirler. Bu nedenle ishal konusunda yeni, alternatif bir önleme stratejisine ihtiyaç vardır. Probiyotikler son yıllarda ishal tedavisinde kullanılan alternatif seçeneklerden biridir. Probiyotikler, konakçı üzerinde sağlık etkileri olan mikroorganizmalar veya bu mikroorganizmaları içeren gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Yalnızca dışkıyla ilgili iyileştirmeler de dahil olmak üzere insanlardaki klinik etkileri kanıtlanmıştır. Bu probiyotiklerin buzağılardaki hastalıkların tedavisinde de kullanılabileceği bildirildi. Probiyotiklerin buzağılarda hastalık kontrolünde, hayvanların performansını iyileştirme, patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu önleme ve konakçının sindirim sisteminin mikroflora dengesini koruma yetenekleri olan antibiyotiklere alternatif olarak uygulanabileceği rapor edilmiştir. Hayvanlarda, probiyotiklerin düşük dozlarda bile immünomodülatör işlevler gerçekleştirebildiği ve vücudun bağışıklık durumu ile gastrointestinal sistemdeki mikroflora popülasyonu arasında yakın bir ilişki olduğu

gösterilmiştir. (Fuller 1981; He ve ark., Işık ve ark., 2004; 2017; Le ve ark., 2017; Lorenz ve ark., 2011a; Lorenz ve ark., 2011b; Nageshwar ve ark., 2016; Valencia ve ark., 2017) Ancak probiyotik çeşitliliğinin değişkenlik göstermesi ve tutarsız olması nedeniyle probiyotiklerin veteriner hekimlikte tamamlayıcı tedavi olarak kullanımı halen sınırlıdır. Aslında laktik asit bakterileri (LAB) gibi probiyotiklerin kullanıldığı immünstimülasyon yöntemi bir süredir uygulanmaktadır. Bulaşıcı hastalıkların önlenmesinde probiyotiklerin kullanımına ilişkin yeterli çalışma bulunmamaktadır. Kayasaki ve ark. (2021) fermente süt ikame yemi (FMR) ve yüksek konsantrasyonda *Lactobacillus* (LAB-MR) içeren probiyotiklerin sığır rotavirüsüne (BRV) karşı etkili olduğunu, ölüm ve ishal oranlarını azalttığını bildirmiştir. Aynı araştırmacılar ayrıca FMR veya LAB-MR ile beslenen buzağılarda kontrol grubuna göre daha az mukozal lezyon bulunduğunu, FMR ile beslemenin karışık BRV'li çiftliklerde hastalık insidansını, enterit oranlarını ve enterit kaynaklı ölüm oranlarını önemli ölçüde azalttığını belirtmiş ve *Cryptosporidium parvum* enfeksiyonlarında FMR ile beslenen buzağıların daha kısa tedavi süreleri, daha az konsültasyon ve daha düşük tıbbi bakım maliyetleri gerektirdiğini ifade etmişlerdir. Von Buenau ve ark. (2005), Almanya'da tarla koşullarında yaptıkları *Escherichia coli* (Nissle 1917 suşu) çalışmasında probiyotiklerin yenidoğan buzağı ishallerinin oranında önemli bir azalma sağladığını, probiyotik bakterilerin profilaktik uygulamasının ishale karşı koruma sağladığını bildirmişlerdir. Buna karşılık Harp ve ark. (1996) buzağıların özellikle yaşamlarının ilk 10 gününde probiyotik kullanımının gereksiz olduğunu ve buzağıları *C. parvum*'dan korumadığını ileri sürmüştür. Ewaschuk ve ark. (2006) , kendiliğinden gelişen ishalli buzağılarda, insan gastrointestinal sisteminden izole edilen kapsamlı bir şekilde araştırılmış bir probiyotik olan *Lactobacillus rhamnosus* GG'nin ishal tedavisi için uygulanmasının ishal görülme sıklığını veya ölüm oranlarını değiştirmediğini bildirmiştir. Bu çalışmada Kayasaki ve ark. (2021) yaptığı çalışmada olduğu gibi probiyotik kullandıktan sonra. Cryptosporidium spp. ile enfekte edilen buzağının klinik durumlarında iyileşme olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca rotavirüs ve koronavirüs enfeksiyonu geçiren buzağıların klinik durumlarında da kontrol grubuna göre iyileşme gözlendi. Farklı çalışmaların sonuçları arasında çelişkilerin bulunması bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiğini göstermektedir.

Kommensal bağırsak bakterileri, bağışıklık tepkisinin gelişiminde önemli bir rol oynar. Bu bakteriler bağırsakla ilişkili lenfoid doku (GALT) hücreleriyle etkileşime girer. GALT hücreleri arasında B-1 hücreleri ilgi çekicidir. Bu hücreler doğal antikor üretim sürecinde görev alırlar. Yurong ve ark. (2005) probiyotiklerin mukozal bağışıklığı ve antikor yanıtını arttırdığını belirtmiştir. Xu ve diğerleri. (2019) Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum P-8 ve Bifidobacterium Animalis subsp. lactis V9 köpeklerde kullanıldığında hayvan sağlığını iyileştirir ve serum immünoglobulin G, interferon-alfa ve salgı immünoglobulin A (IgA) düzeylerini artırır ve tümör nekroz-alfa'yı azaltır. Yine Bacillus subtilis ve Saccharomyces cerevisiae'nin vücut ağırlığını artırmaya yardımcı olduğu, besinlerin sindirilebilirliğini arttırdığı, ayrıca zararlı mikroorganizmaların çoğalmasını önleyerek, bağırsak konforunu koruyarak ve uyarıcı olarak konak hayvanlar üzerinde gözle görülür umut verici etkilere sahip olduğu rapor edilmiştir. (Kalima ve ark., 2016; Wang ve ark., 2017). Bu çalışmada 1. Grupta TS'de IgM'de artış ve IgG, IgE, IgA düzeylerinde azalma tespit edildi ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı değildi. Saccharomyces cerevisiae, Bacillus subtilis, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus casei* içeren probiyotik ürünün kullanıldığı grupta IgM düzeyinin istatistiksel olarak arttığı belirlendi ($p<0,05$). Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı olmasa da IgG'de artış gözlendi. (Tablo 4). Her iki grubun tedavi sonrası sonuçları değerlendirildiğinde probiyotik grubunda Ig M, Ig G'de daha belirgin bir değişiklik olduğu görüldü.

Bu çalışmada yapılan biyokimyasal ve hematolojik analizlerde gruplar arasında istatistiksel fark bulunamadı. Ayrıca tedavi öncesi ve sonrası gruplarda istatistiksel olarak fark saptanmadı. Bu konuda farklı sonuçlar bildiren çalışmalar mevcuttur (Bedenicki ve ark., 2014; Dar ve ark., 2019; Flores ve ark., 2019)

Bu çalışma sonucunda ishalli buzağılarda hematolojik parametreler, biyokimyasal parametreler, kan gazları ve immunoglobulinler gibi birçok parametrede değişiklik meydana geldiği belirlendi. Son yıllarda birçok hastalıkta beşeri hekimlikte önemi vurgulanan ancak veteriner hekimlikte etkisi ve kullanımı tam olarak bilinmeyen probiyotik uygulamasının WBC, LYM ve HCT düzeylerinde iyileşme sağladığı, Rotavirüs, koronavirüs ve özellikle *Cryptosporidium* spp. ile enfekte olduğu teşhis edilen buzağılarda özellikle akut hastalıklarda ve klinik iyileşmede faydalı olduğu belirlenmiş ve ishal

tedavisinde probiyotiklerin faydalı olduğu ancak probiyotiklerin tam etkilerinin belirlenebilmesi ve daha anlamlı sonuçlar alınabilmesi için daha kapsamlı ve daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

Teşekkür

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından desteklenmiştir. (Proje No: TSA-2017-5879).

KAYNAKÇA

Al-Ajmi, D., Padmanabha, J., Denman, S.E., Gilbert, R.A., Al Jasssim, R.A.M et al. (2006). Evaluation of a PCR detection method for Escherichia coli O157:H7/H– bovine faecal samples. *Letters in Applied Microbiology* , 42(4): 386-391.

Altuğ, N., Yüksek, N., Özkan, C., Başbuğan ,Y., Keleş, İ. et al. (2016). Serum potassium-lowering effects of insulin plus dextrose and adrenalin treatment that enhance intracellular potassium transitions in hyperkalemic diarrheic calves. *Pakistan Veterinary Journal*, 36(2):140-144.

Al-Yousif, Y., Anderson, J., Chard-Bergstrom, C., Kapil, S. (2002). Development, evaluation and Application of Lateral-Flow immunoassay (immunochromatography) for detection of rotavirus in bovine fecal samples. *Clinical and Diagnostic Labaratory Immunology*, 9 (3): 723-724.

Argenzio, R.A. (1984) Pathophysiology of neonatal diarrhea, Agrı-Prac Med; 5 (3): 25-32.

Aslan Çelik, B., Çelik, Ö. Y., Ayan, A., Orunç Kılınç, Ö., Akyıldız, G., İrak, K., ... & Oktay Ayan, Ö. (2023c). Occurence and genotype distribution of *Cryptosporidium* spp., and *Giardia duodenalis* in sheep in Siirt, Turkey. Polish journal of veterinary sciences, 26(3).

Aslan Çelik, B., Çelik, Ö. Y., Ayan, A., Kilinç, Ö. O., Görmez, G., Ayan, Ö. O., ... & Akyildiz, G. (2023a). Cryptosporidium infection of stray cats in Mardin Province, Southeastern Anatolia region, Turkey. Animal Research International, 20(1), 4876-4883.

Aslan Çelik, B., Çiftçi, T., Çelik Ö. Y., Ayan, A., Orunç Kılınç, Ö., Akyildiz, G., Ercan, K., Oktay Ayan, Ö. (2023b). A Survey of the Prevalence and Genotypes of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in Shelter

Dogs in Batman, Turkey. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, DOI: 10.15547/bjvm.2023-0042.

Ayan, A., & Orunç Kılınç, Ö. (2020). Prevalence of Cryptosporidium spp. in Diarrheic Dogs in Van Province. Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences, 11(2): 64-68.

Ayan, A., Orunç Kılınç, Ö., Yüksek, N., & Başbuğan, Y. (2020). Detection of *Cryptosporidium* Spp. in Calves Through Nested PCR and Kinyoun's Acid-Fast Methods in Van, Turkey. International Journal of Ecosystems and Ecology Science (IJEES), 10(2): 271-276.

Aurich, J.E., Dobrinski, I., Grunert, E. (1990). Intestinal cryptosporidiosis in calves on a dairy farm. *Veterinary Record,* 127(15):380-381.

Bartels, C.J.M., Holzhauer, M., Jorritsma, R., Swart, W.A.J.M., Lam TJGM. (2010). Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves, *Preventive Veterinary Medicine*, 93, 162-169.

Başoğlu, A., Maden, M., Turgut, K. (1992). Neonatal ishalli beş buzağıda gözlenen aritmilerin elektrokardiyografik değerlendirmesi, *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 2(2): 8-10.

Bedenicki, M., Potocnjak, D., Harapin, I., Radisic, B., Samardžija, M et al. (2014). Haematological and biochemical parameters in the blood of an indigenous Croatian breed - Istrian cattle. *Archiv fur Tierzucht*, 57(18):1-7.

Bok, M., Miño, S., Rodriguez, D., Badaracco, A., Nuñes, I., et al. (2015). Molecular and antigenic characterization of bovine Corona virus circulating in Argentinean cattle during 1994–2010. *Veterinary Microbiology*, 31(18): 221-229.

Brobst, D. (1986). Review of the pathophysiology of alterations in potassium homeostasis, *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 188(9):1019-1025.

Chomczynski, P., Sacchi, N. (1987). Single-step method of RNA isolation by acid guanidini umthiocyanate-phenol-chloroformextraction. *Analytical Biochemistry*., 162(1): 156-159.

Çabalar, M., Boynukara, B., Gülhan, T., Ekin, İ.H. (2001). Prevalance of Rotavirus, Escherichia coli K99 and O157:H7 in healthy dairy cattle herd in Van Turkey. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences*, 26(2): 191-196.

Çelik, Ö. Y., Aslan Çelik, B., Ayan, A., Orunç Kılınç, Ö., Ercan, K., Selçuk, M., ... & Oktay Ayan, Ö. (2023a). Microscopic and Molecular Prevalence of *Cryptosporidium* spp. in Lambs in Siirt, Turkey. Egyptian Journal of Veterinary Science (Egypt), 54(5).

Çelik, Ö. Y., Koçhan, A., Çelik, B. A., Ayan, A., Akyildiz, G., Kilinç, Ö. O., ... & Ayan, Ö. O. (2023b). Cryptosporidium spp. in Dogs-Prevalence and Genotype Distribution. Acta Scientiae Veterinariae, 51: 1916.

Çelik, Ö. Y., Şahin, T., Çelik, B. A., Kılınç, Ö. O., Ayan, A., Akyıldız, G., & Görmez, G. (2023c). Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. in calves in the Siirt Province, Türkiye. Acta Veterinaria Brno, 92(3), 243-250.

Dar, A.H., Singh, S., Kumar, S., Para, I.A., Devi, K., et al. (2019). Impact of supplementation of probiotic, prebiotic and synbiotic on serum biochemical profile of crossbred calves. *Indian Journal of Animal Research*, 53(2): 232-235.

Ertaş, F., & Ayan, A. (2021). Detection of *Cryptosporidium* spp. in Calves Through Nested PCR and Kınyoun's Acid-Fast Methods in Iğdır, Turkey. International Journal of Ecosystems & Ecology Sciences, 11(4): 791-796.

Ewaschuk, J.B., Zello, G.A., Naylor, J.M. (2006). Lactobacillus GG does not affect D-lactic acidosis in diarrheic calves, in a clinical setting. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(3):614-619.

Flores, G.V.B, Thomaz, G.R., Netto, W.H., Rossi, P.S., Strickler, F., et al. (2019). Effect of the Enterococcus faecium and Saccharomyces cerevisiae in the immunological response, hematological parameters and body weight of calves fed with corn silage. *Veterinária e Zootecnia,* 26:1-11.

Franck, S.M., Bosworth, B.T., Moon, H.W. (1998). Multiplex PCR for enterotoxigenic, attaching and effacing, and shiga toxin-producing Escherichia coli strains from calves. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(6): 1795-1797.

Fuller, R. (1981). Probiotics in human medicine. Gut, 32(4):439-451.

Groutides, C.P., Michell, A.R. (1990). Changes in plasma composition in calves surviving or dying from diarrhoea. *British Veterinary Journal,* 146(3): 205-210.

Groutides, C.P., Michell. A.R. (1990). Intravenous solutions for fluid theraphy in calf diarrhoea. *Research in Veterinary Science*, 49(3): 292-297.

Grove-White, D.H., White, D.G. (1993). Diagnosis and treatment of metabolic acidosis in calves: A field study. *Veterinary Record*, 133(20): 499-501.

Haghighi, H.R., Gong, J., Gyles, C.L., Hayes, M.A., Zhou, H., et al. (2006). Probiotics stimulate production of natural antibodies in chickens. *Clinical and Vaccine Immunology*, 13(9):975-980.

Hall, G.A., Jones, P.W., Morgan, J.H. (1992). Calf diarhoea, chapter 12, in "Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle" Editors, A.H., Andrews, R.W., Blowey, H, Boyd, R.G Eddy, 1st Ed., Blackwell Science Ltd.,Oxford 1992.

Harp, J.A., Jordan, P., Atwill, E.R., Zylstra, M., Checel, S. (1996). Field testing of prophylactic measures against *Cryptosporidium parvum* infection in calves in a California dairy herd. *American Journal of Veterinary Researc,* 57(11): 1586-1588.

Hartmann, H., Kronberger, H. (1976). Electrocardiografic examination of calves with coli diarrhoea. *Monatshefte* fur *Veterinaer,* 31(9-10):366-367.

He, Z.X., Ferlisi, B., Eckert, E., Brown, H.E., Aguilar, A., et al. (2017). Supplementing a yeast probiotic to pre-weaning Holstein calves: Feed intake, growth and fecal biomarkers of gut health. *Animal Feed Science and Technology*, 226: 81-87.

Isik, M., Ekimler, F., Özen, N., Firat, M.Z. (2004). Probiyotik kullanmanin buzağı büyüme performansı ve sağlığı üzerine etkileri. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 28(1):63-69.

Kalima, K., Lehtoranta, L., He, L., Pitkäniemi, J., Lundell, R., et al. (2016). Probiotics and respiratory and gastrointestinal tract infections in Finnish military conscripts a randomised placebo-controlled double-blinded study. *Beneficial Microbes*, 7(4):463–471.

Kasari, T.R., Naylor, J.M. (1985). Clinical evaluation of sodium bicarbonate, sodium L-lactate, and sodium acetate for the treatment of acidosis in diarrheic calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 187(4): 392-397.

Kayasaki, F., Okagawa, T., Konnai, S., Kohara, J., Sajiki, Y. et al. (2020). Direct evidence of the preventive effect of milk replacer–based probiotic feeding in calves against severe diarrhea. *Veterinary Microbiology*, doi: 10.1016/j.vetmic.2020.108976. Epub 2021 Jan 5.

Khan, A., Khan, M.Z. (1991). Aetiopathology of neonatal calf mortality, *Journal of Islamic Academy of Sciences*, 4 (2) 159-165.

Kirti, D., Sobti, V.K., Gupta, M.P, Randhawa, S.S. (1990). Electrocardiographic studies on neonatal buffalo calves (Bos bubalis), *Indian Veterinary Journal*, 67: 752-755.

Le, O.T., Dart, P.J., Harper, K., Zhang, D., Schofield, B. et al. (2017). Effect of probiotic Bacillus amyloliquefaciens strain H57 on productivity and the

incidence of diarrhoea in dairy calves. *Animal Production Science,* 57(5):912-919.

Lorenz, I., Fagan, J., More, S.J. (2011b). Calf health from birth toweaning II. Management of diarrhoea in pre-weanedcalves. *Irish Veterinary Journal,* 64(9): 1-6.

Lorenz, I., Mee, J.F., Earley, B., More, S.J. (2011a). Calf health from birthto weaning I. General aspects of disease prevention. Irish Veterinary Journal, 64(10):1-8.

Luginbühl, A., Reitt, K., Metzler, A., Kollbrunner, M., Corboz, L. et al. (2005). Field study about prevalence and diagnostics of diarrhea causing agents in the new-born calf in a Swiss veterinary practice area. *Schweizer Archiv fur Tierheilkunde,* 147 (6): 245-252.

MirenIturriza, G., Cecilia, W., Sandra, B., Ulrich, D., Jim, G. (2002). Molecular characterization of VP6 genes of human Rota virus ısolates: Correlation of geno groups with subgroups and evidence of ındependent segregation. *Journal of Virology,* 76(13): 6596–6601.

Muccio, J.L., Grooms, D.L., Mansfield, L.S., Wise, A.G., Maes, R.K. (2004). Evaluation of two rapid assays for detecting Cryptosporidium parvum in calf feces. *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 225 (7):1090-1092.

Nageshwar, A., Raval, A.P., Bhagwat, S.R., Rajgor, B.B. (2016). Studies on growth, nutrient utilization, ımmune modulatıon, and economıc return at different levels of probiotic feed supplementation in Kankrej female calves. Animal Science, 10(2):55-62.

Naylor, J.M. (1987). Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and under one week of age. *Canadian Veterinary Journal*, 28(4):168-173.

Ok, M., Güler, L., Turgut, K., Ok, U., Sen, I. et al. (2009). 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*, 56(2):94-101.

Özkan, C., Akgül, Y. (2004). Neonatal İshalli buzağılarda hematolojik, biyokimyasal ve elektrokardiyografik bulgular. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1-2):123-129.

Quinn. P.J., Markey, B.K., Leonard, F.C., Fitz-Patrick, E.S., Fanning, S. et al. (2011). Enterobacteriacea, chapter 24, in "Veterinary Microbiology and Microbial Disease" Second Edition, 300-308, John Wiley & Sons Ltd., UK. 2011.

Setia, M.S., Singh, A., Randhawa, S.S. (1990). Alterations in acid-base status and blood gas dynamics during progressive hyperkalaemia in calves. *Veterinary Research Comunications*, 14(5):347-352.

Snodgrass, D.R., Terzolo, H.R., Sherwood, D., Campell, I., Menzies, J.D. (1986). Aetiology of diarrhoea in young calves, *Veterinary Record* , 119(3): 31-34.

Suzuki, K., Kato, T., Tsunoda, G., Iwabuchi, S., Asano, K. et al. (2002). Effects of intravenous infusion of isotonic sodium bicarbonate solution on acidemic calves with diarrhea, *Journal of. Veterinary Medical Sciences,* 64 (12): 1173-1175.

Şahal, M., Kurtdede, A., Börkü, M.K., Ünsüren, H., İmren, H.Y. et al. (1994). Yeni doğan ishalli buzağıların klinik bulguları ve asit-baz dengesi dikkate alınarak sodyum bikarbonat ve elektrolitik sıvılarla sağaltımı, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 41(3-4):509-525.

Thorns, C.J., Bell, M.M., Chasey, D., Chesham, J., Roeder, P.L. (1992). Development of monoclonal antibody ELISA for simultaneous detection of bovine coronavirus, rotavirus serogroup A, and Escherichia coli K99 antigen in feces of calves. *American Journal of Veterinary Research,* 53(1):36-43.

Trotz-Williams, L.A., Martin, S.W., Martin, D., Duffield, T., Leslie, K.E. et al. (2005). Multiattribute evaluation of two simple tests for the detection of *Cryptosporidium parvum* in calf faeces. *Veterinary Parasitology,* 134(1):15-23.

Ulutaş, B. (1998). İshalli buzağılarda böbrek fonksiyon bozukluklarının incelenmesi ve sıvı sağaltım uygulamalarının etkinliği. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 1998.

Valencia, G.L., Zapata-Ramirez, O., Nunez-Gonzalez, L., Nunez-Benitez, V., Landeros-Lopez, H. et al. (2017). Effective use of probiotic-glyconutrient combination as an adjuvant to antibiotic therapy for diarrhea in rearing dairy calves. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences,* 41(4):578-581.

Van den Honert, M.S., Gouws, P.A., Hoffman, L.C. (2020). A preliminary study: Antibiotics resistance patterns of patterns of *Escherichia coli* and *Enterococcus* species from wildlife species subjected to Supplementary Feeding on Various South African Farms. *Animals*, 10(396):1-20.

Von Buenau, R.L., Jaekel, E., Schubotz, S., Schwarz, T., Stroff, T. et al. (2005). *Escherichia coli* strain nissle 1917: Significant Reduction of Neonatal Calf Diarrhea. *Journal of Dairy Science*, 88(1):317-323.

Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei et al. (2017). Antioxidant properties of probiotic bacteria. *Nutrients*, 9(5):521-526.

Watt, J.G. (1965). The use of fluid replacement in the treatment of neonatal diseases in calves. *Veterinary Record*, 77(49):1474-1482.

Xiao, L., Singh, A., Limor, J., Graczyk, T.K., Gradus, S., Lal, A.A. (2001). Molecular characterization of *Cryptosporidium* oocysts in samples of raw surface water and wastewater. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(3):1097-1101.

Xu, H., Huang, W., Hou, Q., Kwok, L.Y., Laga, W. et al. (2019). Oral administration of compound probiotics improved canine feed intake,

weight gain, immunity and intestinal microbiota. *Frontier in Immunology,* 10(2): 666-672.

Young-il, C., Yoon, K.J. (2014). An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, 15(1): 1–17.

Yurong, Y., Ruiping, S., Shimin, Z., Yibao, J. (2005). Effect of probiotics on intestinal mucosal immunity and ultrastructure of cecal tonsils of chickens**.** *Archives of Animal Nutrition,* 59(4):237-246.