



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



**CRYPTOSPORİDİOSİS'Lİ BUZAĞILARDA İNEK  
KOLOSTRUMUNUN TEDAVİDEKİ ETKİNLİĞİNİN VE KAN  
SERUMUNDAKİ PROTEOMİK YAPI ÜZERİNE ETKİSİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YIĞİT KAÇAR**

**ORCID ID : 0000-0002-8389-4833**

**DOKTORA TEZİ**

**BURSA-2020**





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



**CRYPTOSPORİDİOSİS'Lİ BUZAĞILARDA İNEK KOLOSTRUMUNUN  
TEDAVİDEKİ ETKİNLİĞİNİN VE KAN SERUMUNDAKİ  
PROTEOMİK YAPI ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**YİĞİT KAÇAR**

**ORCID ID : 0000-0002-8389-4833**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN:**

**Prof.Dr. Hasan BATMAZ**

**DDP(V)-2019/14 –BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BİRİMİ  
BURSA-2020**

**T.C.**  
**BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ETİK BEYANI**

Doktora tezi olarak sunduğum “**Cryptosporidiosis’li Buzağularda İnek Kolostrumunun Tedavideki Etkinliğinin ve Kan Serumundaki Proteomik Yapı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi**” 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.

**Yiğit KAÇAR**  
19.11.2020

**İmza**



TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

20.11.2020

Adı Soyadı: Yiğit KAÇAR

Anabilim Dalı: İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Konusu: CRYPTOSPORİDİOSİS'Lİ BUZAĞILARDA İNEK KOLOSTRUMUNUN TEDAVİDEKİ ETKİNLİĞİNİN VE KAN SERUMUNDAKİ PROTEOMİK YAPI ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

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

DANIŞMANONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Hasan BATMAZ

İmza:

## İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYAN.....	II
TEZ KONTROL BEYAN FORMU.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TÜRKÇE ÖZET.....	VII
İNGİLİZCE ÖZET.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Neonatal Dönem ve Önemi.....	5
2.1.1. Pasif Transfer Yetmezliği.....	5
2.1.2. Neonatal Dönemin Önemli Hastalıkları.....	9
2.2. Cryptosporidiosis.....	13
2.2.1. Tanım ve Tarihçe.....	14
2.2.2. Cryptosporidiosis Türleri ve Etkilediği Hayvan Türleri.....	16
2.3. Sığırlarda Cryptosporidiosis.....	16
2.3.1. Etiyoloji.....	17
2.3.2. Epidemiyoloji.....	18
2.3.2.1. Risk Faktörleri.....	18
2.3.2.2. Bulaşma.....	24
2.3.2.3. Prevalans, Morbidite ve Mortalite.....	26
2.3.3. Hayat Siklusu ve Patogenez.....	27
2.3.4. Klinik Bulgular.....	31
2.3.5. Laboratuvar Bulguları.....	32
2.3.6. Nekropsi Bulguları.....	32
2.3.7. Tanı ve Tanı Yöntemleri.....	32
2.3.7.1. Mikroskopik Yöntemler.....	33
2.3.7.2. Serolojik Yöntemler.....	34
2.3.7.3. Moleküler Yöntemler.....	35
2.3.7.4. Diğer Yöntemler.....	35
2.3.8. Prognoz.....	36
2.3.9. Sağaltım.....	36
2.3.9.1. Primer Tedavi.....	36
2.3.9.2. Destekleyici Tedavi.....	38
2.3.10. Koruma.....	39
2.3.10.1. Sürü Yönetim Uygulamaları.....	39
2.3.10.2. Dezenfeksiyon Uygulamaları.....	40
2.3.10.3. Profilaktik İlaç Uygulamaları.....	41
2.3.10.4. Aşı Çalışmaları.....	43
2.3.11. Tedavi ve Korumada Yeni Arayışlar/Yöntemler.....	44
2.4. İnsanlarda Cryptosporidiosis.....	45

2.5. Kolostrum.....	48
2.5.1. Kolostrum ve Önemi.....	48
2.5.2. Kolostrum Kalitesini Etkileyen Faktörler.....	48
2.5.3. Kolostrumun Kullanıldığı Çalışmalar .....	49
2.5.4. Kolostrum ve Cryptosporidiosis.....	50
2.6. Omik Analizler .....	51
2.6.1. Proteomik Analizler.....	53
2.6.1.1. Nedir, Neden Yapılır.....	53
2.6.1.2. Kullanıldığı Yerler ve Önceki Çalışmalar.....	55
2.6.1.3. Kolostrumda Proteomik Analizler.....	56
<b>3.GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>59</b>
3.1. Hayvan Materyali.....	59
3.2. Grupların Oluşturulması.....	59
3.3. Buzağuların Günlük Klinik Kontrolü .....	61
3.4. Numunelerin Toplanması ve Değerlendirilmesi .....	61
3.4.1. Buzağılardan Kan Numunelerinin Toplanması.....	61
3.4.1.1. Kan Serumlarında İmmunoglobulin G (IgG) Konsantrasyonunun Ölçülmesi.....	62
3.4.1.2. Kan Serumlarında Brix % Değerinin Ölçülmesi.....	62
3.4.1.3. Kan Serumlarında Total Protein (TP) Konsantrasyonunun Ölçülmesi.....	62
3.4.1.4. Kan Serumlarında Gammaglutamyl Transferase (GGT) Düzeyinin Ölçülmesi.....	62
3.4.2. Buzağılardan Dışkı Numunelerinin Toplanması.....	63
3.4.2.1. Dışkı Skorlarının Belirlenmesi.....	63
3.4.2.2. Dışkı Numunelerinde <i>Cryptosporidium spp.</i> Ookist Muayenesi ve Sayımı...	63
3.4.2.3. Dışkı Numunelerinde Hızlı Testlerin Uygulanması.....	64
3.4.3. Kolostrum Numunelerinin Toplanması ve Değerlendirilmesi.....	64
3.4.4. Proteomik Analizlerin Yapılması.....	65
3.5. İstatistiksel Analiz.....	68
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>69</b>
4.1. Buzağuların Günlük Klinik Muayene ve Gözlem Bulguları.....	69
4.2. Buzağuların Dışkı Bulguları.....	70
4.2.1. Buzağılarda Dışkı Skoru Bulguları.....	70
4.2.2. Buzağuların Dışkılarında Ookist Sayıları.....	74
4.3. Buzağuların Laboratuvar Bulguları.....	78
4.3.1. Buzağuların İmmunoglobulin G (IgG) Konsantrasyonları.....	78
4.3.2. Buzağuların Gamma-Glutamyl Transferaz (GGT) Düzeyleri.....	78
4.3.3. Buzağuların Total Protein (TP) Konsantrasyonları.....	79
4.3.4. Buzağuların Brix % Bulguları.....	79
4.4. Kolostrum Laboratuvar Bulguları.....	80
4.5. Proteomik Analiz Bulguları.....	81
4.5.1. Buzağı Serum Proteomik Analiz Bulguları.....	81
4.5.2. Kolostrum Proteomik Analiz Bulguları.....	103
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>122</b>
5.1. Cryptosporidiosisli Buzağılarda Dışkı Bulgularının Değerlendirilmesi.....	122
5.2. Cryptosporidiosisli Buzağılarda Serum Laboratuvar	

Bulgularının Değerlendirilmesi .....	126
<b>5.3. Kolostrum Bulgularının Değerlendirilmesi.....</b>	<b>129</b>
<b>5.4. Cryptosporidiosisli Buzağılarda Serum Proteomik Bulgularının</b> <b>Değerlendirilmesi.....</b>	<b>130</b>
<b>5.5. Kolostrum Proteomik Bulgularının Değerlendirilmesi .....</b>	<b>140</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>154</b>
<b>7. SİMGE VE KISALTMALAR.....</b>	<b>187</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>189</b>
<b>9. TEŞEKKÜR.....</b>	<b>194</b>
<b>10. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>195</b>

## ÖZET

Cryptosporidiosisli buzağlarda tedavi amaçlı kolostrumun, bikarbonatlı veya bikarbonatsız şekilde paramomisin ile kombine edilmesinin, etkinliği ve serum proteomik profiline etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca ilk kez yüksek ve düşük kaliteli kolostrumların proteomik analizlerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada, yalnızca Cryptosporidium ile enfekte, 21 günden küçük 30 Holştayn buzağı üç eşit gruba ayrılmıştır. Her üç gruba 1x100 mg/kg dozunda paramomisin (5 gün) ilave olarak, Grup 1 ve 2' ye 2x250 ml kolostrum (3 gün) ve Grup 1'e kolostrum öncesinde 2x6 g sodyum bikarbonat uygulanmıştır. Tedavi öncesinde ve sonrasındaki 10 gün buzağların klinik muayeneleri, dışkı skorlaması ve ookist sayımları yapılmıştır. Tedavinin 0, 1, 2, 3, 5 ve 7. gün serumlarından Brix% ve total protein (TP), 0 ve 3. günde immunglobulin G (IgG), gamma-glutamyltransferase (GGT) ölçümleri ve proteomik analizler yapılmıştır.

Dışkı skorları, Grup 1 ve 2' de 2. günde tedavi öncesine göre belirgin şekilde ( $p<0,05$ ) azalırken, Grup 3 (kontrol grubu)'te bu fark 8. günde belirginleşmiştir. Benzer şekilde ookist sayıları Grup 1'de 2. gün, Grup 2'de 3. gün düşmesine karşın Grup 3'te ancak 10. günde fark belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Kolostrum tedavisine rağmen IgG, TP, Brix% ve GGT düzeylerinin azalması büyük moleküllü proteinlerin yeterince emilmediğini; kolostral tedavi ile Grup 1'de A1AT, SAA, ACTG, HP20; Grup 2'de ise A1BG, S39AB, CTHL1, ACTB APOA4 proteinlerinde değişim olması, ancak Grup 3'te hiçbir proteinde anlamlı değişim olmaması tedavide kolostrum kullanımının buzağı serum proteomisine etkileri olduğunu göstermiştir. Ayrıca, yüksek kaliteli kolostrumda 8, düşük kaliteli kolostrumda ise 11 protein daha yüksek konsantrasyonda tespit edilmiştir.

Sonuçta, cryptosporidiosis tedavisinde paramomisine ilaveten özellikle bikarbonat ve kolostrum kullanımının daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** buzağı, cryptosporidiosis, kolostrum, proteomik analiz, paramomisin



## SUMMARY

### EVALUATION OF EFFECTIVENESS OF COW COLOSTRUM ON TREATMENT AND ITS EFFECT ON PROTEOMIC STRUCTURE IN BLOOD SERUM IN CALVES WITH CRYPTOSPORIDIOSIS

Aim of the presented study was investigate the effect of using colostrum combined with or without bicarbonate in addition to paramomycin, on the treatment outcome and serum proteomic profiles in calves with cryptosporidiosis. In addition, it was aimed to compare proteomic analysis results of high and low quality colostrums for the first time.

Thirty Holstein calves younger than 21 days that were infected only with *Cryptosporidium spp.* were allocated into three equal groups. Paramomycin was administered 1x100 mg / kg for 5 days to all three groups. Additionally 250 ml colostrum was fed twice a day for 3 days to Groups 1 and 2. Additionally Group 1 received 6g oral sodium bicarbonate twice a day before colostrum administration. Clinical examinations, fecal scoring and oocyst counts of calves were conducted before and 10 days following the initiation of treatment.

Brix% and total protein (TP) levels were analysed from sera at day 0, 1, 2, 3, 5 and 7 days; immunoglobulin G (IgG), gamma-glutamyltransferase (GGT) measurements and proteomic analyzes were performed at day 0 and 3 day.

Fecal scores decreased significantly ( $p < 0,05$ ) on the second day of the treatment in Group 1 and 2 comparing to pretreatment levels. But same decrement was not observed in Group 3 (control group) till the 8<sup>th</sup> day of the treatment. Similarly, oocysts counts decreased in Group 1 and Group 2 respectively on 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> day of the treatment however decrement was detected in Group 3 on the 10<sup>th</sup> day ( $p < 0,05$ ). Decrement of IgG, TP, Brix% and GGT showed that large molecules were not absorbed enough in spite of colostrum treatment. Colostral treatment used in Group 1 and 2 changed the levels of A1AT, SAA, ACTG, HP20 proteins and A1BG, S39AB, CTHL1, ACTB APOA4 proteins respectively but there was no differences for proteomic structure in Group 3. Results showed that using colostrum in the treatment effects the calf serum proteomic. In addition, 8 proteins in high quality and 11 proteins in low quality colostrum were detected high concentration.

In conclusion, using paramomycin with bicarbonate and colostrum gave better outcome in cryptosporidiosis treatment.

**Keywords:** calf, cryptosporidiosis, colostrum, proteomic analysis, paramomycin

## 1. GİRİŞ

Buzağılarda doğumla başlayan ve ilk 4 haftayı kapsayan dönem, neonatal dönem olarak tanımlanmaktadır (Armengol ve Fraile, 2016; Raboisson ve diğerleri, 2013). Neonatal dönem, buzağı yetiştiriciliğinde buzağı sağlığı ve yönetimi açısından çok büyük öneme sahiptir. Neonatal dönem, iyi yönetilmediğinde buzağı mortalitesinin yoğun yaşanabildiği bir dönem olabilmektedir. Bu dönemdeki kayıplar sadece buzağının ölümü ve tedavi masraflarıyla sınırlı olmayıp, bunun yanında laktasyondaki hayvanların sürüden çıkarılabilmesi için daha az düve adayı oluşturulması dolayısıyla sürüde genetik ilerlemede gecikme sonucu ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Hyde ve diğerleri, 2020; Raboisson ve diğerleri, 2013). Ülkemizde yılda yaklaşık 5000.000 buzağı doğduğu, ancak bunun %10 kadarının (500.000) çeşitli nedenlerle öldüğü tahmin edilmektedir. Bir buzağının, değerinin yaklaşık 2.500- 3.000 TL (350-400 \$) olduğu düşünülürse, yıllık ekonomik kaybımızın ne kadar yüksek olduğu tahmin edilmektedir.

Neonatal dönemde karşılaşılan problemler başta ishaller olmak üzere, pneumoni, septisemi, göbek enfeksiyonları (omphalitis, omphaloflebitis), pasif transfer yetmezliği ve ilişkili diğer problemler olarak sayılabilmektedir. Neonatal dönemin en yaygın görülen problemi ishallerdir (Batmaz, 2016; Radostits, Gay, Hindcliff ve Constable, 2007; Şentürk, 2018; Topal, 2018). Buzağılarda bu dönemdeki ishaller, tüm dünyada çok yaygın görülmekte ve ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Batmaz, 2016; Radostits ve diğerleri, 2007; Şentürk, 2018). Neonatal buzağı ishalleri multifaktöriyel kaynaklı olup, neonatal dönemde ishal oluşturan başlıca etkenler, *E. coli*, rotavirus, corona virus ve *Cryptosporidium parvum*'dur (Batmaz, 2016; Meganck, Hoflack ve Opsomer, 2014). Ayrıca bunların yanında torovirus, norovirus, nebovirus, astrovirus, kobuvirus, enterovirus, *Giardia spp.*, *Salmonella spp.* gibi diğer etkenler de ishal oluşturabilmektedir (Gomez ve Weese, 2017; Şentürk, 2018). Bunların arasında dünyada ve ülkemizde en sık karşılaşılanları

rota viral enteritisler ve cryptosporidiosis olup (Batmaz, 2016; Meganck ve diğeri, 2014; Sevinç, Irmak ve Sevinç, 2003; Thomson ve diğeri, 2017), buzağı ishallerinin etiolojisinde dünyada rotavirusların %80'e, cryptosporidiosisin ise %70'lere kadar varan oranlarda bulunduğu belirtilmiştir (Batmaz, 2016; Radostits ve diğeri, 2007).

Cryptosporidiosis, *Cryptosporidium* genusunda yer alan coccidial parazit olan *Cryptosporidium spp.* tarafından meydana getirilen protozoal bir enteritistir (Abubakar, Aliyu, Arumugam, Hunter ve Usman, 2007; Arsenopoulos, Theodoridis ve Papadopoulos, 2017). Sığırlar, koyunlar, keçiler ve insanlar başta olmak üzere birçok hayvan türünde enfeksiyon oluşturabilen cryptosporidiosisin mücadelesinde aşısının olmaması (Fichtenbaum, Ritchie ve Powderly, 1993; Innes, Chalmers, Wells ve Pawlowic, 2020), etkenin duyarlı olduğu ilaçların sınırlı ve etkinliklerinin kısıtlı olması nedeniyle mücadelesinin zor olması, bazı olgularda tedavisinin uzun sürmesi, kullanılan ilaçların maliyeti ve ayrıca zoonoz olması hastalığın önemini artırmaktadır. Dolayısıyla hastalığın tedavisinde daha etkili ve pratik yeni alternatif tedavi arayışları sürmektedir (Chalmers ve Katzer, 2013; Innes ve diğeri, 2020; Xiao, Fayer, Ryan ve Upton, 2004).

Kolostrum diğeri birçok memeli türünde olduğu gibi, ineklerde doğum sonrası ilk üç günde meme bezinde üretilen (Dzik ve diğeri, 2017; Solomons, 2002) ve 90'dan fazla biyolojik olarak aktif bileşen içeren (Dzik ve diğeri, 2017), buzağular için ilk besin maddesidir. Kolostrum immunoglobulinler başta olmak üzere, vitaminler, mineraller, büyüme faktörleri, prolinden zengin polipeptidler, laktoferrin, tripsin inhibitörleri, lizozim, lökositler, laktoperoksidaz, laktalbumin ve sitokinler bakımından çok zengin doğal bir maddedir ve buzağının beslenmesi ve yaşatılmasında esansiyel öneme sahiptir (Godden, 2008; Thapa, 2005a). Kolostrum içerisinde, farklı metotlarla elde edilebilen yüksek moleküler ağırlıklı proteinler (HAP) ve düşük moleküler ağırlıklı proteinler (LAP) olarak adlandırılan protein tabiatında maddeler bulunmaktadır. HAP'lar genel olarak pasif transferin sağlanmasında görev alırken, LAP'ların immunolojik proseslerle ilgili olduğu belirtilmiştir (Hernandez-Castellano, Almeida, Castro ve Argüello, 2014). Bu özellikleri ile immunolojik moleküllerden çok zengin olan kolostrumun, pasif transfer immunitesindeki görevi ve çeşitli hastalıkların tedavisindeki etkisi üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Nitekim, insanlarda immun yetmezlik problemleri enteritislerin ve cryptosporidiosisin tedavisinde inek

kolostrumunun kullanıldığı ve olumlu sonuçlar verdiği çalışmalar bulunmaktadır (Menchetti ve diğerleri, 2016; Solomons, 2002; Steele, Sponseller, Schmidt, Cohen ve Tzipori, 2013; Tzipori, Roberton ve Chapman, 1986). Kolostrumun farklı hayvan türlerinde ve insanlarda cryptosporidiosis metaflaksi (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; Fayer, Perryman ve Riggs, 1989a; Naciri ve diğerleri, 1994; Perryman, Kapil, Jones ve Hunt, 1999; Tzipori, Rand, Griffiths, Widmer ve Crabb, 1994) ve tedavisinde (Graczyk, Cranfield ve Bostwick, 1999; Greenberg ve Cello, 1996; Nord, Ma, DiJohn, Tzipori ve Tacket, 1990) kullanımı üzerine çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Fakat, literatürde doğal yolla cryptosporidium ile enfekte olan buzağuların tedavisinde kolostrum kullanımına dair bir kaynağa rastlanmamıştır.

Son zamanlarda, omik teknolojilerden proteomik analizlerin beşeri ve veteriner hekimlikte birçok alanda kullanımıyla ilgili araştırmalara rastlanmaktadır. Proteomik analizlerle hastalıkların tanımlanmasına katkı veren biyobelirteçlerin ortaya çıkartılması kadar, hastalığın başlangıç ve devamlılığını sağlayan moleküllerin ortaya çıkartılması da mümkün olmakta; böylece, hastalıkların patofizyolojisinin detaylandırılmasına olanak sağlanmaktadır. Ayrıca proteomik analizlerle protein detaylarının ortaya çıkartılması; tedavi yaklaşımları ve tedavi izlenebilirliğinin (monitorizasyon) yanısıra, hedef proteinlere yönelik uygulamalarla koruma geliştirme stratejilerine de farklı bir bakış açısı getirebilmektedir (Ceciliani, Eckersall, Burchmore ve Lecchi, 2014; Yılmaz ve diğerleri, 2016). Bu anlamda cryptosporidiosis ile enfekte buzağularda serum proteomik profili ve kolostral tedavi ile bu proteinlerin değişim yönleri henüz bilinmediğinden, bu çalışma ile cryptosporidiosisli buzağularda serum proteomik profilinin ortaya konarak, hastalık patogenezinin detaylandırılması ve bu cryptosporidiosisli buzağuların tedavisinde paramomisin ve paramomisinin yanında ilk kez iki farklı uygulama (bikarbonatlı ve bikarbonatsız) ile kaliteli inek kolostrumu verilmesinin tedavideki etkinliğinin ve buzağuların kan serumundaki proteomik yapı üzerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca ilk defa, yüksek kaliteli inek kolostrumu ve düşük kaliteli inek kolostrumunun proteomik analizlerle karşılaştırılması değerlendirilecektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Son yıllarda artan dünya nüfusuyla birlikte, insanların beslenmesinde hayvansal ürünlere olan gereksinim giderek artmaktadır. Bu bağlamda ülkemizin de içinde bulunduğu birçok ülkede, hayvansal ürün tercihi daha çok sığır eti, sütü ve ürünleri lehine olmaktadır. TÜİK 2019 yılı verilerine göre ülkemizde 17.688,139 baş sığır, 37.276,050 baş koyun ve 11.205,429 baş keçi bulunmakta ve bu hayvanlardan yaklaşık 1 milyon 200 bin ton (1.201.469 ton) et ve yaklaşık 23 milyon ton süt (22.960.379 ton) üretimi sağlanmaktadır.

Ülkemizde sığır yetiştiriciliğine bakıldığında, artık eski ekstansif küçük aile işletmeleri yapısından entansif işletme formuna geçiş yapıldığı görülmektedir. Büyük entansif işletmelerin yaygınlaşmasıyla, birim üretim maliyetleri düşerek karlı ve profesyonel üretim yapılmaya çalışılmaktadır. Ancak bu faydalarının yanında entansif işletmelerde hayvan sayısının fazla olması dolayısıyla, yönetsel ve personel eksiklikleri, yeterli hijyenik koşulların sağlanamaması ve enfeksiyon etkenlerinin varlığı nedeniyle işletmelerde cryptosporidiosis gibi bir takım bulaşıcı hastalıkların yaygınlığı arttığından, bu hastalıkların yönetim ve kontrolünde güçlükler yaşanmaktadır.

Ülkemizde ve dünyanın pek çok ülkesinde, yem hammaddelerinin pahalı olması, hastalıklara bağlı kayıplar, ilaç masrafları, veteriner hizmetleri ve işçilik giderleri, ithalat politikalarındaki tutarsızlıklar gibi nedenlerle sürdürülebilir hayvancılık yapılması ve devamında da hayvansal ürünlere ulaşımında problemlerle karşılaşmaktadır. Bu tür problemleri azaltmak için, sürdürülebilir tarım-hayvancılık politikaları harekete geçirilmeli ve ayrıca sağlıklı sürülerin oluşturulması gerekmektedir. Bu amaçla sığır yetiştiriciliğinde buzağular, sürünün geleceğini oluşturduğundan buzağuların sağlığı ve yaşatılması çok önemlidir. Buzağuların sağlığı ve yaşatılmasında ise en kritik dönem doğum sonrası ilk bir ayı kapsayan neonatal dönemdir (Armengol ve Fraile, 2016; Topal, 2018).

## 2.1. Neonatal Dönem ve Önemi

Buzağı yetiştiriciliğinde, doğum sonrası ilk 3 hafta (Armengol ve Fraile, 2016), hatta çoğu zaman ilk 4 haftayı (Raboisson ve diğerleri, 2013; Ravary-Plumioen, 2009) kapsayan süreç neonatal dönem olarak tanımlanmaktadır (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; Topal, 2018). Doğuma kadar anne tarafından sağlanan termoregülasyon, asit-baz dengesinin korunması, kardiyovasküler fonksiyonların sürdürülmesi, beslenmenin sağlanması gibi çok önemli fonksiyonlar, doğumla birlikte buzağıya devredilerek, neonatal dönem boyunca buzağılar yeni yaşam şartlarına adaptasyon sağlamaya çalışmaktadırlar (Silva ve diğerleri, 2016). Dolayısıyla, neonatal dönemin yönetimi buzağı sağlığı ve yaşatılmasında çok önemli olup, özellikle ilk 15 günün kritik öneme sahip olduğu belirtilmektedir (Topal, 2018).

Dünyada neonatal dönem buzağı ölümlerinin %2-10 arasında değiştiği bildirilmiştir (Ravary-Plumioen, 2009). Raboisson ve diğerleri (2013), buzağılarda neonatal dönemin ilk iki gününde mortalitenin yaklaşık %6,7, takip eden 3-30 gün arası yaştakilerde ise %5,7 olduğunu belirterek ilk iki günün daha kritik olduğunu vurgulamışlardır. Neonatal dönem yönetiminde mortalite hedefinin <%3 olması, hatta bir günlük yaştan süttten kesime kadarki dönemde buzağı mortalitesinde hedef <%3, bir aylık yaştan küçük buzağılarda yıllık mortalite oranının ise %3-5 olması gerektiği bildirilmiştir (Batmaz, 2015a; Reneau ve Kinsel, 2001).

Neonatal mortaliteyi etkileyen ırk, cinsiyet, doğum mevsimi, sıcaklık, pasif transfer düzeyi başta olmak üzere birçok faktör bulunmaktadır (Hyde ve diğerleri, 2020; Santman-Berends, Schukken ve van Schaik, 2019; Windeyer ve diğerleri, 2014). Nitekim, Raboisson ve diğerleri (2013), yaptıkları araştırmada neonatal mortalitenin kış aylarında (%12-17), yaz aylarından (%8-12) daha yüksek olduğunu, erkek buzağılarda dişilere göre 1,2 kat daha fazla görüldüğünü saptamışlardır.

### 2.1.1. Pasif Transfer Yetmezliği

Sığır ve mandalarda syndesmokoriyal (Weaver, Tyler, VanMetre, Hostetler ve Barrington, 2000) tipteki plasenta yapıları nedeniyle gebelik süresince anneden buzağıya yeterli immunoglobulin geçişi olamamakta ve dolayısıyla buzağılar

agammaglobulinemik (Armengol ve Fraile, 2016; McGuirk ve Collins, 2004) veya hipogammaglobulinemik (Quigley, Kost ve Wolfe, 2002; Topal, Batmaz, Mecitoğlu ve Uzabacı, 2018) olarak doğmaktadırlar. Bu nedenle buzağıların hayatta kalabilmeleri için, immunoglobulinler başta olmak üzere bağışıklık hücresi, nonspesifik bağışıklık molekülleri, besin maddeleri ve önemli büyüme faktörleri bakımından çok zengin olan kolostrumu en kısa sürede tüketmeleri gerekmektedir (Batmaz, 2015a; Blum, 2006; Hernandez-Castellano ve diğerleri, 2014; Weaver ve diğerleri, 2000; Yang, Zou, Wu, Li ve Cao, 2015).

Doğum sonrası ilk 24 saatte kolostrum yoluyla maternal immunoglobulinlerin anneden yavruya aktararak, buzağının gelişmemiş immun sistemi fonksiyonelliğini kazanana kadar buzağıların yaygın hastalık etkenlerinden korunması pasif transfer olarak adlandırılmaktadır (Blum, 2006; Weaver ve diğerleri, 2000). Çeşitli nedenlerle bu durumun sağlanamaması ve serum IgG (IgG1) seviyesinin düşük olmasına ise pasif transfer yetmezliği (PTY) denilmektedir. Diğer bir ifadeyle 24-48 saatlik yaştaki buzağıların kan serumunda IgG seviyesinin 10 mg/ml'nin altında olması PTY olarak tanımlanmaktadır (Bielman ve diğerleri, 2010; Tyler ve diğerleri, 1996; Weaver ve diğerleri, 2000).

Pasif transfer yetmezliği bir hastalık olmayıp, neonatal buzağıların hastalıklara duyarlılığının ve dolayısıyla neonatal mortalitede artmaya neden olabilen bir durum olarak değerlendirilmektedir (McGuirk ve Collins, 2004; Quigley ve diğerleri, 2002; Weaver ve diğerleri, 2000). Bu nedenle buzağıların sağlıklı bir şekilde yaşaması ve gelecekte optimum verimliliği sağlayabilmeleri için yeterli immunoglobulin almalarının sağlanması (yeterli pasif transfer) gerekmektedir (McGuirk ve Collins 2004; Quigley ve diğerleri, 2002).

Yeterli pasif transferin sağlanması için buzağıya en kısa sürede ve yeterli miktarda kolostrum verilmesi en temel unsurdur. Bu amaçla buzağıya doğum sonrası ilk 2 saatte vücut ağırlılığının en az %5'i kadar (şentürk, 2018), hatta bazı kaynaklarda 2 saat içinde vücut ağırlılığının %8,5'u kadar kolostrum verilmesi (Conneely ve diğerleri, 2014) 24 saatte ise vücut ağırlılığının yaklaşık %10-15'i kadar kolostrum içirilmesi önerilmektedir (Aydoğdu ve Güzelbektaş, 2018; Batmaz, 2015a; Rafiei, Ghoorchi, Toghdory, Moazeni ve Khalili, 2019; şentürk, 2018). Yine Godden,

Lombard ve Woolums (2019), buzağılara doğum sonrası ilk 2 saat içerisinde vücud ağırlığının %10-12'si kadar kolostrum içirilmesini önermişlerdir. Conneely ve diğerleri, (2014), buzağılara doğum sonrası ilk 2 saat içinde vücud ağırlığının %7, %8,5 ve %10'u kadar kolostrum verilmesinin ilk  günde serum IgG seviyelerine etkilerini kıyasladıkları araştırmada, vücud ağırlığının %8,5'u kadar kolostrum iirilmesinin en başarılı sonucu sağladığını saptamışlardır. Weaver ve diğerleri (2000) ise aynı amaçla buzağılara doğum sonrası kısa sürede 4 L iyi kaliteli kolostrumun sonda ile uygulanması önermişler, ancak diğer yazarlar (Adams, Bush, Horner ve Staley, 1985; şentürk, 2018) sonda uygulamasının kolostrumun ince bağırsaklara geçiş süresini uzattığından gerekmedikçe kullanılmamasını önermektedirler.

Kolostrumun emilimi ilk 4-6 saatte maksimum düzeyde olup, 6-12. saatten sonra giderek azalmakta ve 24. saatten sonra %10'ların altına indiği bilinmektedir (Batmaz, 2015a; Godden, 2008; şentürk, 2018; Weaver ve diğerleri, 2000). Yeni doğanlarda kolostrumun emilimi; abomasumda HCl asidin yetersiz olması sonucu abomasal pH'ın çok düşük olmaması, pankreatik sindirim enzimlerinin yetersiz olması, kolostrumda tripsin inhibitörlerinin bulunması ve bağırsak porlarının çapının büyük olması vb. Çeşitli faktörlere bağlı olarak ilk 6-8 saatte çok yüksek olduğu bildirilmiştir (Godden, 2008; şentürk, 2018). Özellikle ilk 24 saat sonrasında porların çapının hızla küçülerek Ig'lerin geçişine izin vermediği bildirilmiştir. Bu nedenle ilk gün verilen kolostrumlardaki IgG'lerin emilerek sistemik etki gösterdiği; ancak 2. ve 3. günlerde verilen kolostrumun kısmen sitemik etkileri olsa da daha çok lokal bağırsak immunitesinin güçlendirilmesi ve enterik patojenlerin yerleşme ve üremesine engel olması anlamında buzağı sağlığına katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Conneely ve diğerleri, 2014; Godden, 2008; Parreno ve diğerleri, 2010). Buzağılar 48-72 saatlik yaştan büyük olduğunda sindirim enzimleri aktif olup, Ig'lerin bütün halde bağırsaklara geçmesini azaltabildiği belirtilmektedir (Batmaz, 2016; Heinrichs ve Jones, 2008; şentürk, 2018). Pasif transferin sağlanması başlıca immunglobulinlere (IgG, IgM, IgA) dayandırılmakla birlikte; nonimmunoglobulin yapısındaki proteinlerin (HAP ve LAP'lar) absorpsiyonun da pasif transferde önemli olduğu belirtilmektedir (Hernandez-Castellano ve diğerleri, 2014; Smith ve Foster, 2007).

Buzağılara verilen kolostrumun kalitesi ile buzağı sağlığı direkt etkileşim içerisinde dir. Nitekim, doğum sonrası ilk gnde kolostrum, geçiş sütü ve süt ile



beslenen buzağılarda yapılan bir araştırmada kolostrum verilenlerde IgG absorpsiyonunun, antioksidant aktivitenin ve serum büyüme faktörlerinin daha iyi olduğu, bağırsakların histolojik incelemesinde ise villus uzunluğu, genişliği, kript derinliği ve mukozal kalınlığın daha fazla olduğu belirlenerek, buzağılara verilen kolostrumun kalitesi ne kadar yüksekse, immun sistemin o kadar hızlı şekillendiği ve bağırsak sağlığının o kadar sağlıklı olduğu vurgulanmıştır (Yang ve diğerleri, 2015).

PTY prevalansı birçok faktöre göre değişebilmekte birlikte, ABD’de yapılan bir araştırmada düvelerden doğan buzağılarda PTY prevalansının %19,2 olduğunu, sığırcılık işletmelerinin %40,7’sinde en az bir buzağında PTY bulunduğu saptanmıştır (Beam ve diğerleri, 2009). Kanada’da yapılan bir araştırmada PTY prevalansının %37,1 olduğu ortaya konmuştur (Trotz-Williams, Leslie ve Peregrine, 2008). Doğum sonrası anneleriyle birlikte bırakılan buzağılarda yapılan bir araştırmada PTY prevalansının %42 olduğu tespit edilmiştir (Brignole ve Stott, 1980). Weaver ve diğerleri (2000) yeni doğan buzağıların yaklaşık olarak %35’inde PTY görüldüğu bildirilmişlerdir. Topal (2018), ölkemizde buzağıların farklı günlerde PTY durumunu değerlendirdiği araştırmada 1, 3 ve 7. günde buzağıların sırasıyla %29,26, %29,26 ve %39,02’sinde PTY olduğunu ortaya koymuştur. PTY olan buzağıların, ölüm oranlarının daha yüksek olduğu, vücut ağırlığı artışlarının düşük olduğu ve hatta ileri yaşlarda genel verimlilik özelliklerinin düşük olabildiği bildirilmiştir (şentürk, 2018; Topal, 2018; Weaver ve diğerleri, 2000).

Buzağılarda PTY tanısını koyabilmek için çeşitli test ve yöntemler bulunmaktadır. Bunlarda en önemlisi altın standart olan RID veya ELISA yöntemleri ile serumdaki IgG’nin direkt belirlenmesidir. Bunların dışında, serum IgG miktarının direkt belirlenmeyip, semiquantatif olarak Brix refraktometre, total protein, sodyum sülfat turbidite, çinko sülfat turbidite, serum GGT aktivitesinin belirlenmesi ve tam kan veya serum glutaraldehid koagölasyon testleri gibi indirekt testler de pasif transfer durumun belirlenmesinde kullanılabilir (Aydoğdu, şen ve Güzelbektaş, 2019; Bielman ve diğerleri, 2010; Topal ve diğerleri, 2018; Weaver ve diğerleri, 2000).

Buzağılarda pasif transfer durumunu kolostrumun verilme zamanı, miktarı, verilme yolu, immunoglobulin konsantrasyonu (kalitesi) dışında etkileyen diğer birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar; annenin yaşı, ırkı, buzağının sağlık durumu (metabolik

asidoz gibi), buzağının anneye birlikte bakılması olarak sayılabilmektedir (Weaver ve diğerleri, 2000). Örneğin, Tyler ve Ramsey, (1991) buzağılarda hipoksik şartların immunglobulinlerin absorpsiyon sürecinin gecikmesine yol açtığını bildirmişlerdir.

### **2.1.2. Neonatal Dönemin Önemli Hastalıkları**

Neonatal buzağuların enteropatojenlerle enfeksiyonlara çok hassas oldukları (Meganck, Hoflack, Piepers ve Opsomer, 2015) ve bu dönemdeki buzağılarda en yaygın görülen problemin ishaller olduğu bilinmektedir (Batmaz, 2016; Radostits ve diğerleri, 2007; Şentürk, 2018; Topal, 2018). Nitekim, neonatal dönem mortalitesinin yaklaşık %57'sinin ishal kaynaklı olduğunu belirtilmiştir (NAHMS, 2007). Buzağılarda bu dönemdeki ishallerin, tüm dünyada çok yaygın görüldüğü ve hem süt hem de besi ırkı sığırcılık işletmelerin karlılığında çok büyük olumsuz etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Batmaz, 2016; House, Smith, Mcquirck, Gunn ve Izzo, 2015; Meganck ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007; Şentürk, 2018). Ayrıca neonatal buzağı ishalleri, mortalite, ilaç ve işçilik giderleri yanında süttten kesimdeki vücut ağırlığının düşük olması ve sürünün geleceğini oluşturan düvelerin performansında azalmaya neden olabildiği bildirilmektedir (House ve diğerleri, 2015).

Neonatal buzağı ishalleri, bir aydan küçük buzağuları etkileyen enfeksiyöz ve non enfeksiyöz nedenlerden kaynaklanabilen bir sendrom olarak ta tanımlanmaktadır (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017). İshallerin oluşumu multifaktöriyel kaynaklı olup, bu patojenlerin bulunmasının yanında, çevre ve yönetim şartları gibi pek çok hazırlayıcı faktör buzağı ishallerinin meydana gelmesinde etki göstermektedir (Gomez ve Weese, 2017; Topal, 2018). Bu hazırlayıcı faktörlerin başlıcaları olarak; kuru dönem ve doğum yönetimi, kolostrum yönetimi, barınak hijyen durumu, beslenme şartları ve boynuz köreltme gibi stres dönemlerinin yönetimi sayılabilmektedir (Radostits ve diğerleri, 2007; Topal, 2018). Neonatal buzağı ishallerinin etiolojisinde bulunan etkenlerin prevalansı, çiftliğin bulunduğu coğrafik konum, mevsim, sürü yönetim uygulamaları, sürü büyüklüğü vb. birçok faktöre göre değişebilmektedir (Cho ve Yoon, 2014). Yine bu ishal etkenlerinin bir veya birkaçının bir arada bulunarak miks enfeksiyonlara da neden olabildiği belirtilmektedir (Batmaz, 2016; Cho ve Yoon, 2014; Gomez ve Weese, 2017; Uhde ve diğerleri, 2008).

Tüm dünyada neonatal dönemde ishal oluşturan başlıca etkenler *E. coli*, *Bovine rota virus*, *Bovine corona virus* ve *Cryptosporidium parvum*'dur (Batmaz, 2016; Dhama, Chauhan, Mahendran ve Malik, 2009; Meganck ve diğerleri, 2014; Meganck ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007). Bunların arasında dünyada ve ülkemizde de en sık karşılaşılanları rota viral enteritiser ve cryptosporidiosisdir (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; Batmaz, 2016; Meganck ve diğerleri, 2015; Sevinç ve diğerleri, 2003; Thomson ve diğerleri, 2017).

Windeyer ve diğerleri, (2014), Kanada'da yaptıkları araştırmada neonatal buzağı ishallerinin insidansının %10,5 olduğu ve buzağuların %23'ünün en az bir defa ishal tedavisi gördüğünü bildirmişlerdir. Uhde ve diğerleri (2008), *C. parvum*, *rotavirus*, *coronavirus*, ve *E. coli* K99 prevalansının sırasıyla %55,0 , %58,7, %7,8 ve %5,5 olduğunu belirtmişlerdir. İshalli buzağularda yapılan diğer bir araştırmada ise *E. coli*, *rotavirus*, *coronavirus* ve *C. parvum* prevalanslarının sırasıyla %2,6-45,1, %17,7-79,9, %3,1-21,6 ve %27,8-58,5 olduğu bildirilmiştir (Meganck ve diğerleri, 2015). Arsenopoulos ve diğerleri (2017) ise, 100 buzağı üzerinde yaptıkları araştırmada buzağularda cryptosporidiosis prevalansının %71 olduğunu saptamışlardır. Tüm bu araştırmalardan da anlaşılacağı üzere buzağı ishallerinin etiyojisinde dünyada rotaviruslar %80'e, cryptosporidiosis ise %70'lere kadar varan oranlarda bulunmaktadır (Batmaz, 2016; Radostits ve diğerleri, 2007).

**Colibacillosis:** *Escherichia coli* bakterisinin patojenik suşlarının neden olduğu "colibacillosis" buzağular dahil bir çok çiftlik hayvanının neonatal döneminde yaygın görülmekte ve önem arz etmektedir (Bashahun ve Amina, 2017; Radostits ve diğerleri, 2007). *E. coli* etki mekanizmalarına göre, enterotoksijenik (ETEC), shiga toksin üreten *E. coli*, enteropatojenik *E. coli*, enteroinvaziv *E.coli*, enteroagresif *E. coli* ve enterohemorajik *E. coli* olmak üzere 6 gruba ayrılmaktadır (Cho ve Yoon, 2014; Radostits ve diğerleri, 2007; Şentürk, 2018). Bunlardan, neonatal buzağularda en çok ishale yol açanın ETEC olduğu belirtilmektedir (Radostits ve diğerleri, 2007; Şentürk, 2018). ETEC'in patojenitesinde en önemli iki virulans faktörünün K99 antijeni ve ısıya dayanıklı enterotoksin olduğu ifade edilmektedir (Cho ve Yoon, 2014; Foster ve Smith, 2009; Radostits ve diğerleri, 2007). Aynı zamanda F5 anijeni olarak da bilinen K99 antijeni bakterinin bağırsak lumenine bağlanarak tutunması ve kolonize olmasına yardımcı olurken, tutunma sonrası ısıya dayanıklı toksin salgılanması ile bağırsaklarda

sekretorik ishal şekillenmesine yol açmaktadır (Cho ve Yoon, 2014; Foster ve Smith, 2009). Ayrıca F17 ve F41 fimbrial adezinlerin (adhesins) de neonatal ishallere izole edilebildiği bildirilmiştir (Güler, Gündüz ve Ok, 2008; Kolenda, Burdukiewicz ve Schierack, 2015). Bunlardan başka F4 ve F6 adezinler de çiftlik hayvanlarında bildirilmiş olmakla birlikte, buzağı ishallerinin etiolojisindeki rollerinin bilinmediği ifade edilmektedir (Kolenda ve diğerleri, 2015).

Buzağuların özellikle 1-3 günlük yaşta colibasillosis'e çok duyarlı olduğu bilinmesine rağmen 3-8 haftalık dönemdeki buzağularda da görülebilmektedir (Bashahun ve Amina, 2017; Cho ve Yoon, 2014). Colibasillosis, buzağularda septisemik, enterotoksemik ve enterik olmak üzere üç farklı klinik formda seyrebilmektedir (Batmaz, 2016; Radostits ve diğerleri, 2007; Şentürk, 2018). Bunlardan halk arasında beyaz ishal olarak bilinen enterik form en yaygın olup, hipersekretorik ishalle karakterizedir. Etkilenen buzağularda depresyon, iştahsızlık, değişen derecelerde dehidrasyon bulguları, hafiften şiddetliye kadar değişen derecelerde ishal şekillenmektedir. İshal genellikle bol sulu kıvamda, sarı-beyaz renklerde olup, kötü kokulu ve bazen kanlı olabilmektedir. Hastalarda defekasyon sıklığının belirgin derecede artmış olup, kuyruk ve perineal bölgenin dışkı ile kirlendiği görülebilmektedir (Batmaz 2016; Foster ve Smith, 2009; Şentürk, 2018).

Septisemik form doğum sonrası erken ölümlerin en büyük nedenlerindedir (Bashahun ve Amina, 2017) ve daha çok 1-5 günlük yaştaki buzağularda görülen, depresyon, iştahsızlık, başlangıçta yüksek ateşle başlayıp sonra hipotermi ile seyreden bu formda ishal tipik değildir. Letalitesi %100'e yakın olup çoğu buzağı 1-3 günde ölmektedir. Bir haftadan uzun yaşayanlarda genellikle tedaviye direnç gösteren, artrit, meningitis, omphalitis gibi komplikasyonlar şekillenebilmektedir (Bashahun ve Amina, 2017; Şentürk, 2018). Enterotoksemik formu nadir olup, genellikle 3-4 haftalık yaştaki buzağularda, genel durumu ve besi durumu en iyi olanlarda sporadik olarak görülebilmektedir. Etkilenen buzağuların genellikle 2-6 saat içerisinde komaya girerek ölebildiği bu formda ishalin çoğu zaman şekillenmemekle birlikte sulu-sarı renkte köpüklü ve bazen kanlı olabildiği bildirilmiştir (Batmaz, 2016; Radostits ve diğerleri, 2007).

**Rotaviral ishaller:** *Reoviridae* familyasından *Rotavirus* genusundaki rotavirusların, dünyada ve ülkemizde buzağılarda en yaygın görülen ishal etkenlerinden olduğu bilinmektedir (Batmaz, 2016; Cho ve Yoon, 2014; Dhama ve diğerleri, 2009; Radostits ve diğerleri, 2007). *Rotaviruslar* antijenik ve genetik benzerlikleri dikkate alınarak 7 serotipe ayrılmaktadır (A-G) (Steele, Geyer ve Gerdes, 2004). Evcil hayvanlardaki rotaviral enfeksiyonların en büyük etkeninin grup A olduğu, ancak grup B ve grup C rotaviruslarla da enfeksiyon görülebildiği belirtilmiştir (Cho ve Yoon, 2014; Dhama ve diğerleri, 2009; Gomez ve Weese, 2017). Buzağılarda rotaviral ishaller, doğum sonrası 3-4. günden başlayarak üç haftadan küçük yaştaki buzağılarda görülmekle birlikte, genellikle 1-2 haftalık dönemde görülmektedir (Bashahun ve Amina, 2017; Batmaz, 2016; Foster ve Smith, 2009; Gomez ve Weese, 2017) Yaşla birlikte hastalığa duyarlılığın azaldığı (Dhama ve diğerleri, 2009), üç aylıktan büyük buzağuların genellikle rotaviruslara duyarlı olmadığı belirtilmiştir (Gomez ve Weese, 2017). Hastalığın inkübasyon süresinin 18-96 saat arasında değişmekle birlikte, bazen 12-24 saat kadar kısa olabildiği ve etkilenen buzağılarda perakut ishallerle yol açtığı bildirilmiştir (Dhama ve diğerleri, 2009). İshalin genellikle ani başlayan, şiddetli, sulu, açık sarı renkte, çoğu zaman kan içermeyen yapıda olduğu gözlenmektedir (Bashahun ve Amina, 2017; Batmaz, 2016; Foster ve Smith, 2009; Gomez ve Weese, 2017). Etkilenen buzağılarda diğer etkenlerle komplike olmadıkça genellikle ateş olmadığı, değişen şiddetlerde dehidrasyon, hareket etmede isteksizlik ve bazılarında ağızdan salya akıntısı olabildiği bildirilmektedir (Bashahun ve Amina, 2017; Dhama ve diğerleri, 2009). Komplike olmayanlarda destekleyici tedavi ile birlikte prognozunun çoğunlukla iyi olduğu, 1-2 günlük seyirden sonra iyileşme görülebildiği belirtilmektedir (Batmaz, 2016; Gomez ve Weese, 2017).

**Coronaviral ishaller:** *Betacoronavirus* genusundaki *Bovine coronavirus*'un, neonatal dönemde ishal oluşturan önemli etkenlerden birisi olduğu bildirilmektedir (Gomez ve Weese, 2017; Oma, Traven, Alenius, Myrmel ve Stokstad, 2016). *Bovine coronavirus* genç buzağılarda ishal ve solunum sistemini etkilerken, ergin sığırlarda hemorajik diyare ile seyreden kış dizanterisine yol açmaktadır (Batmaz, 2016; Boileau ve Kapil, 2010; Foster ve Smith, 2009). Etken fekal-oral yolla ve solunum yoluyla bulaşabilmektedir (Batmaz, 2016; Oma ve diğerleri, 2016). Genellikle 5-30 günlük yaştaki buzağılarda klinik tablo görülmekle birlikte, insidansı 7-10 günlük buzağılarda

pik seviyeye ulaşabildiği bildirilmektedir (Boileau ve Kapil, 2010; Foster ve Smith, 2009). Etkenin alınmasından yaklaşık iki gün sonra klinik belirtiler başlamakla birlikte 3-6 gün devam edebilmektedir (Gomez ve Weese, 2017). Klinik bulguların şiddeti buzağının yaşı, immunolojik durumu, enfektif doz ve coronavirus'un virulansına göre değişmekle birlikte; etkilenen buzağılarda değişen şiddetlerde zaman zaman kanlı olabilen, koyu yeşil-açık kahverengi tonlarında ve mukuslu ishal, depresyon, emme refleksinde azalma, hızlı gelişen dehidrasyon, ateş, ıkınma ve solunum sistemi yansımaları bulunabilmektedir (Batmaz, 2016; Boileau ve Kapil, 2010; Gomez ve Weese, 2017). Coronavirus, ince bağırsakların yanında kalın bağırsakları da etkileyerek, villöz enterositlerin ve kript hücrelerinin yıkımlanmasına yol açtığından ishal süresi *rotavirus* 'lardan daha uzun ve daha şiddetli olabilmektedir. Coronavirus, neonatal ishallerde tek başına rol oynayabileceği gibi, diğer etkenlerin yanına katılarak, hastalık tablosunun kötüleşmesine yol açabilmektedir (Batmaz, 2016; Radostits ve diğerleri, 2007).

Bunlardan başka Bovine torovirus, Bovine norovirus, Bovine nebovirus, Bovine, astrovirus, Bovine enterovirus, Bovine kobuvirus (aichivirus B), Bovine viral diyare virusu (BVDV), Bredavirus, Parvovirus gibi viral etkenler de ishal oluşturabilmektedir. Neonatal dönemde *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile* gibi bakteriyel etkenler ve *Giardia spp.* ve *Eimeria spp.* gibi paraziter etkenlerden ileri gelen ishal tablolarına da belli yoğunlukta rastlanabilmektedir (Bashahun ve Amina, 2017; Batmaz, 2016; Cho ve Yoon, 2014; Foster ve Smith, 2009; Gomez ve Weese, 2017). Ayrıca ishallerden başka septisemi, asidozis, hipotermi, hipoglisemi, dehidrasyon, omfalitis, omfaloflebitis, urachitis, solunum problemleri ve şok ta neonatal buzağılarda görülebilen diğer problemler olabilmektedir (Cho ve Yoon, 2014; Radostits ve diğerleri, 2007).

## **2.2. Cryptosporidiosis**

Yirmiden fazla türü, 60'dan fazla genotipi ve subtipleri olan *Cryptosporidium* türleri, insanlar, sığır, koyun ve keçi dahil birçok hayvan türünü etkileyebilmektedir (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; Chalmers ve Katzer, 2013; Thomson ve diğerleri, 2017).

Cryptosporidiosis, özellikle gelişmekte olan ÷lkelerde, sosyo-ekonomik iyileşme ve gelişme/kalkınma üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmesi nedeniyle Dünya Sağlık Örgütü tarafından 2004 yılından bu yana "İhmal Edilmiş Hastalık Girişimi"ne dahil edilmiştir (Savioli, Smith ve Thompson, 2006).

### 2.2.1. Tanım ve Tarihçe

*Cryptosporidium* türleri yüksek çoğalma ve yayılma kapasitesine sahip, zorunlu, intraselüler protozoon parazitlerdir (de Graaf, Vanopdenbosch, Ortega-Mora, Abbassi ve Peeters, 1999; İnci, 2013; Masuno ve diğerleri, 2006). *Cryptosporidium* genusunda yer alan bu coccidial parazitler tarafından meydana getirilen hastalık tablosuna ise Cryptosporidiosis denilmektedir (Abubakar ve diğerleri, 2007). ‘Crypto’ kelimesi ‘gizli’ anlamına gelmektedir. Ookistlerin içerisindeki sporozoitleri çevreleyen sporokist içermemesi ve dışkının rutin parazitolojik muayenesi ile ookistlerin görülememesi nedenleri ile etken *Cryptosporidium* genusu olarak adlandırılmıştır (İnci, 2013; MacPherson ve McQueen, 1993).

*Cryptosporidium* türlerine dair ilk şüpheler 1895 yılında Clarke tarafından farelerin midesinde görülen ve ‘fare mide epiteli üzerinde spor kümeleri’ olarak adlandırdığı yapılara dayanmaktadır (Hoepelman, 1996). Gerçek anlamda ise *Cryptosporidium spp.* ilk defa Edward Ernst Tyzzer tarafından 1907 yılında evcil farelerin (*Mus musculus*) midesindeki gastrik bezlerde saptanmış ve bu tür *Cryptosporidium muris* olarak tanımlanmış, üç yıl sonra ise parazitin yaşam siklusu detaylandırılmıştır. Aynı araştırmacı tarafından 1912 yılında ise farelerin ince bağırsaklarına lokalize olarak villus epitellerine yerleşen ve ookistleri *Cryptosporidium muris*’e göre daha küçük yapıda olan yeni bir *Cryptosporidium spp.* türü bulunmuş ve *Cryptosporidium parvum* olarak adlandırılmıştır (Fayer, 2010; Ryan, Fayer ve Xiao, 2014). Hemen hemen 1970’lerden 1990’lara kadar memelilerde sadece *C. parvum* (küçük ookistler ve bağırsak etkilenimi) ve *C. muris* (büyük ookistler, mide mukozası etkilenimi) olmak üzere 2 temel *Cryptosporidium* türünün varlığı kabul edilmiştir (Fayer, 2010).

İlk zamanlar, *C. parvum*’un insanları ve birçok hayvan türünü enfekte eden tek bir türü olduğu düşün÷lmüş; ancak sonrasında, genotip1 (human genotip) ve genotip

2 (bovine genotip) olmak üzere iki farklı genotipi olduğu ortaya konmuştur. Genotip 1 insanları ve primatları enfekte ederken, genotip 2'nin insan dahil birçok hayvanı enfekte edebildiği, dolayısıyla zoonotik öneme sahip olduğu belirtilmiştir (Fayer, 2010; House ve diğerleri, 2015; Mclauchlin, Amar, Pedraza-Diaz ve Nichols, 2000; Radostits ve diğerleri, 2007).

Çiftlik hayvanları ve atların *C. parvum* genotip 1 ile enfeksiyonunun çok yaygın olmadığı, ama deneysel olgularda kuzu, domuz ve buzağılarda enfeksiyon oluşturabildiği ve bu anlamda tür spesifik olmadığı belirtilmiştir (Fayer, 2010; Radostits ve diğerleri, 2007). *C. parvum* genotip 1 aynı zamanda *C. hominis* (genotip H) olarak ta bilinmekte olup, Birleşik Krallık'ta insanlarda görülen cryptosporidiosis vakalarının büyük çoğunluğundan sorumlu olduğu belirtilmiştir (Chalmers, Elwin, Thomas, Guy ve Mason, 2009; Fayer, 2010; House ve diğerleri, 2015).

İnsanlardaki ilk cryptosporidiosis vakası, 1976 yılında akut enterokolitis yansımaları bulunan 3 yaşlı bir kız çocuğunda bildirilmiştir (Nime, Burek, Page, Holscher ve Yardley, 1976). Yine 1976 yılında, prednisolon ve siklofosamid gibi immunsupresant ilaç kullanımı sonrası 39 yaşındaki bir erkekte cryptosporidiosis vakası ortaya konmuştur (Meisel, Perera, Meligro ve Rubin, 1976).

Dünyada sığırlarda ilk cryptosporidial enfeksiyonlar 1970'lerde tanımlanmış ve *Cryptosporidium* türlerinin neonatal buzağılarda ishal oluşturabildiği bildirilmiştir (Panciere, Thomassen ve Garner, 1971; Pohlenz, Moon, Cheville ve Bembrick, 1978). Türkiye'de buzağılarda *Cryptosporidium* türlerinin varlığı ise ilk kez 1984 yılında tespit edilmiştir (Burgu, 1984).

Bugün hala aşısının olmaması ve kullanılan ilaçların etkisinin sınırlı olması, ayrıca hasta-patojen etkileşiminin henüz tam olarak bilinmemesi nedenleriyle cryptosporidiosisün mücadelesinde güçlükler yaşanmaktadır (de Graaf ve diğerleri, 1999; Innes ve diğerleri, 2020; Thomson ve diğerleri, 2017).



### 2.2.2. Cryptosporidiosis Türleri ve Etkilediği Hayvan Türleri

Cryptosporidiosis, dünya genelinde Antarktika hariç bütün kıtalarda ve birçok hayvan türünde ve insanlarda görülmüştür (Fayer, 2010; Ryan ve diğerleri, 2014). Bu anlamda *Cryptosporidium* türlerinin; fareler, gine domuzu (Vetterling, Jervis, Merrill ve Sprinz, 1971), tavuklar (Dhillon, Tracker, Dietzel ve Winterfield, 1981), buzağular (Anderson, 1987), hindiler, kediler, domuzlar, kuzu ve oğlaklar (Quílez ve diğerleri, 2008), maymunlar, balıklar ve kara kurbağaları başta olmak üzere amfibilerden sürüngenlere, balıklardan kuşlara kadar, insan dahil birçok omurgalı türünde hastalık oluşturabildiği bilinmektedir (Fayer, 2010; Mclauchlin ve diğerleri, 2000; Ryan ve diğerleri, 2014).

Yukarıda da belirtildiği gibi 150'den fazla memeli türünün, *Cryptosporidium* türlerine konaklık yapabildiği belirtilmiştir. Bu anlamda, teşhis sırasına göre *C. muris*, *C. parvum*, *C. wrairi*, *C. felis*, *C. andersoni*, *C. canis*, *C. hominis*, *C. suis*, *C. bovis* (genotip B), *C. fayeri*, *C. ryanae* ve *C. macropodum* morfolojik, biyolojik ve moleküler verilerle birlikte memeli türlerinde tanımlanmış *cryptosporidium* türleridir. *C. muris* ile, hamster, sincap, fare, deve, dağ keçisi, domuz, köpek, maymun ve insanlarda doğal enfeksiyon şekillenebildiği belirtilmiştir. *C. parvum* ile doğal enfeksiyon farklı antilop türleri, sığır, koyun, keçi, at, köpek, beyaz kuyruklu geyikler, fare, domuz ve insanlarda bildirilmiştir. *C. fayeri* keseli sıçanlarda tanımlanmış ve sonrasında kangurularda da tespit edilmiş, *C. macropodum* ise farklı kanguru türlerinde saptanmıştır (Fayer, 2010; Ryan ve diğerleri, 2014 ).

Kanatlılarda ise cryptosporidiosis, 30'dan fazla türde bildirilmiştir. *C. meleagridis*, *C. baileyi* (kanatlı türlerindeki en yaygın cryptosporidium türü) ve *C. galli* (*C. blagburni*) kanatlı hayvanlarda tespit edilen başlıca cryptosporidium türleridir (Fayer, 2010; Ryan ve diğerleri, 2014).

### 2.3. Sığırlarda Cryptosporidiosis

Cryptosporidiosis tüm dünyada sığırlarda, özellikle neonatal dönemdeki buzağularda yaygın olarak karşılaşılmaktadır. Hastalığın morbiditesinin yüksek olması dolayısıyla yönetim ve tedavisi için harcanan giderler, yemden yararlanma ve üretim performansında azalma ve zaman zaman ölümlere neden olabildiğinden

cryptosporidiosis ekonomik önem arz etmektedir (Thomson ve diğ erleri, 2017). Nitekim, İskoçya’da yapılan bir çalışmada cryptosporidiosisden etkilenen her bir buzağı başına, işçilik giderleri hariç 34 sterlin maddi kayba yol açtığı hesaplanmıştır (Gunn ve Stott, 1998). Hastalığın zoonoz olması ve mücadelesine karşı aşısının olmaması ve tedavisinin zor ve bazı vakalarda inatçılık göstermesi hastalığın önemini artıran faktörlerdir (Dillingham, Lima ve Guerrant, 2002; Fichtenbaum ve diğ erleri, 1993; Innes ve diğ erleri, 2020; Thomson ve diğ erleri, 2017). Dolayısıyla günümüzde cryptosporidiosisin dünya çapında yaygın bir hastalık ve neonatal ishallere bağlı buzağı kayıplarının en önemli nedenlerinden biri olduğu belirtilmektedir (Thomson ve diğ erleri, 2017).

### 2.3.1. Etiyoloji

Sığırlarda Cryptosporidiosis’e yol açan başlıca cryptosporidium türleri, *C. parvum* başta olmak üzere *C. andersoni*, *C. bovis* ve *C. ryanae*’dır (Aberg, Emanuelson, Troell ve Björjman, 2019; Gong ve diğ erleri, 2017; House ve diğ erleri, 2015; Thomson ve diğ erleri, 2017). Bunların dışında *C. suis*, *C. hominis*, *C. serpentis*, *C. xiaoi*, *C. ubiquitum*, *C. meleagridis*, *C. muris* ve *C. felis* türlerinin de sığırlardan identifiye edildiği bildirilmiştir (Fayer, 2010; Gong ve diğ erleri, 2017; Matsuura ve diğ erleri, 2017). Ayrıca, deneysel olarak buzağılara *C. canis* verilmesinin enfeksiyona neden olduğu belirtilmiştir (Fayer, 2010).

***C. parvum*:** Birçok cryptosporidium türünün tür spesifik olduğu bilinmesine rağmen, *C. parvum* tür spesifik olmayıp birçok hayvan türünde ve insanlarda hastalık oluşturabilmektedir (Arsenopoulos ve diğ erleri, 2017) . *C. parvum* ’un 27 tane subtipi olduğu bildirilmiştir (Silverlås, Bosaeus-Reineck, Näslund ve Björkman, 2013).

*C. parvum*, özellikle bir aydan küçük yaştaki buzağıları etkileyen, hemen her yerde bulunabilen intestinal protozoon olup (Trotz-Williams ve diğ erleri, 2007), buzağılardaki cryptosporidiosis vakalarının %85’inden fazlasının *C. parvum* kaynaklı olduğu belirtilmektedir (Meganck ve diğ erleri, 2014).

***C. andersoni*:** *C. andersoni*, ilk kez 1987 yılında sığırların abomasumunda peptik bezlerde rastlanmış, ancak o dönemde ookist büyüklüğü dikkate alınarak *C.*

*muris* veya *C. muris* benzeri (*C. muris like*) olarak adlandırılmıştır (Anderson, 1987; Lindsay ve diğerleri, 2000). Ancak, günümüzde sığırlardaki tüm *C. muris* ve *C. muris-like* isolatları *C. andersoni* olarak ifade edilmektedir (Fayer, 2010). *Cryptosporidium andersoni*'nin, *C. parvum*'un aksine ergin sığırları daha çok etkilediği ve hedef organının bağırsaklar yerine abomasum olduğu belirtilmektedir (Anderson, 1987; House ve diğerleri, 2015; Kvac ve Vitovec, 2003).

***C. bovis* ve *C. ryana*:** Eskiden Genotip Bovine B olarak adlandırılan (Fayer, 2010; Xiao ve diğerleri, 2002) *C. bovis* ilk kez Fayer, Santin ve Xiao (2005) tarafından 9-11 aylık besi danalarında tanımlanmıştır. Daha önceleri Deer-like genotype olarak bilinen *Cryptosporidium* türü (Santin ve diğerleri, 2004) ise ilk kez Fayer, Santin ve Trout (2008) tarafından *C. ryanae* olarak adlandırılmıştır.

*C. bovis* ve *C. ryanae* morfoloji ve boyut olarak *C. parvum* ile çok benzer olup, ancak PCR gibi moleküler tekniklerle ayırım yapılabilmektedir (Aberg ve diğerleri, 2019; House ve diğerleri, 2015). Her iki etkenin de bütün yaş gruplarındaki sığırlarda bulunabildiği, ancak genellikle süttan kesim sonrası buzağılarda ookist saçılımının daha fazla olduğu belirtilmektedir (Blanchard, 2012; Fayer ve diğerleri, 2005; Fayer, 2010; House ve diğerleri, 2015). Ancak, Aberg ve diğerleri (2019), İsveç'te yaptıkları araştırmada, 5 günlük yaştan itibaren buzağılarda *C. bovis* ve 15 günlük yaştan itibaren buzağılarda *C. ryanae* ookisti belirlemişlerdir. *C. bovis* (Silverlas ve diğerleri, 2013) ve *C. ryanae* ile ilişkili klinik yansımalar belirgin olmayıp nadiren bildirilmiştir (Fayer ve diğerleri, 2008).

Son yıllarda yukarıda sayılan protozoer *cryptosporidium* türlerine ilave olarak, *cryptosporidium* ookistleri içinde değişen derecelerde bulunabilen viral sınıbiyontlar (*C. parvum virus*) tanımlanmıştır (Jenkins ve diğerleri, 2008; Khramtsov ve diğerleri, 2000). Viral sınıbiyontların etkenin virulansında rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (Jenkins ve diğerleri, 2008).

### **2.3.2. Epidemiyoloji**

#### **2.3.2.1. Risk Faktörleri**

*Cryptosporidiosis*; hayvan, çevre ve sürü yönetimi ile ilişkili multifaktöriyel bir hastalık olup, yaygınlığı ve şiddetinde birçok faktör rol almaktadır (Delafosse ve

diğerleri, 2015; Gong ve diğerleri, 2017). Bunların başlıcaları; etkilenen hayvanın ırkı/türü, yaşı, popülasyon büyüklüğü, sanitasyon ve yetiştirme şartları, iklim şartları olarak sayılabilmektedir (Gong ve diğerleri, 2017).

**Patojen özellikleri:** Çevredeki enfektif ookistlerin serin, nemli ve ıslak çevre şartlarında 18 ay, toprak ve çamurda/bulamaçda ise birkaç ay enfektif kalabildiği belirtilmektedir (Radostits ve diğerleri, 2007; Thomson ve diğerleri, 2017). Ayrıca, ookistlerin suyun klorlanmasına dirençli olduğu (Olson, O’Handley, Ralston, McAllister, ve Thompson, 2004) ve silajda da uzun süre (3 aydan fazla) canlılığını sürdürebilmektedir (Merry, Mawdsley, Brooks ve Davies, 1997).

*Cryptosporidium* ookistlerinin, sodyum hipoklorit (çamaşır suyu), klorheksidin, povidon iodine bileşikleri gibi yaygın kullanılan birçok dezenfektana dirençli olduğu bilinmektedir (House ve diğerleri, 2015). Ancak amonyum hidroksit, %6 hidrojen peroksit, klor dioksit, %10 formalin, formaldehid, %2 kreosol ve %5 amonyak bileşiklerinin ookistlerin enfektivitesini azaltmada etkili olduğu belirtilmektedir (Blanchard, 2012; House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007). Yine ookistlerin enfektivitesininin 0 °C’ in altı ve 60 °C’ nin üstü sıcaklıklarda bozulduğu, hatta buzağı dışısındaki ookistlerin enfektivitesinin dışkıının 1-4 günlük kurumasından sonra azalabildiği belirtilmektedir. (House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007; Thomson ve diğerleri, 2017).

Aynı *cryptosporidium* türünün değişik izolatlarının virulansı farklı olabilmektedir. Buna paralel olarak insanlarda *C. parvum*’un üç izolatının (TAMU, UCP ve IOWA) karşılaştırıldığı bir çalışmada *C. parvum* TAMU izolatının diğerlerinden daha az sayıda ookist alınmasıyla hastalık oluşturabildiği gösterilmiştir (Okhuysen, Chappell, Crabb, Sterling ve DuPont, 1999). Yine *C. parvum* Bestville ve *C. parvum* Iowa ookistlerinin etkilerinin karşılaştırıldığı bir araştırmada, *C. parvum* Bestville ookistleri ile enfekte edilen buzağılarda ookist saçılımının 5,75 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu durum *C. parvum* Bestville ookistlerinde viral simbiyont olan CPV (*Cryptosporidium parvum virus*)’nin daha fazla bulunmasından kaynaklandığı öne sürülmüştür (Jenkins ve diğerleri, 2008).

*Cryptosporidium* ookistlerinin bağırsaktaki üreme döngüsü (bir ookistten 4 sporozoit) nedeniyle, az miktardaki ookistin alınması bile enfeksiyon oluşturmak için

yeterli olabilmektedir; bu anlamda gnotobiotik kuzularda tek bir enfektif ookistin alınmasıyla hastalık meydana geldiği bildirilmiştir (İnci, 2013; Radostits ve diğerleri, 2007). Yine bağırsaktaki üreme döngüsü ve otoenfeksiyonların sonucu olarak az miktarda ookistle enfekte olan hayvanlar, çevrede yüksek ookist birikimine yol açarak, diğer hayvanların enfeksiyonu alabilme ihtimalini artırabildiği belirtilmiştir (House ve diğerleri, 2015).

**Buzağuların immün durumu:** Aynı insanlarda olduğu gibi hayvanlarda da immün sistemi baskılanmış hayvanların hastalığa daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (Radostits ve diğerleri, 2007; Yılmaz, Akkaş, Güven, Aydın ve Uslu, 2018). Bu anlamda düşük serum Ig G konsantrasyonuna sahip buzağularda ookist saçılımının daha yüksek oranlarda olduğu ifade edilerek (Radostits ve diğerleri, 2007), buzağının pasif transfer düzeyinin cryptosporidiosis görülmesinde ve hastalığın şiddetinde önemli olduğu belirtilmektedir (Delafosse ve diğerleri, 2015).

**Sanitasyon ve yönetim şartları:** Yetişkin ve büyük yaştaki buzağulardan ayrı yerde bulunan, temiz, kuru, nemsiz ve drenajı iyi olan bireysel buzağı bokslarında bakılan, hijyenik kurallara uyularak bakım ve beslemesi (biberon ve biberon başlıklarının temizliği) yapılan buzağularda cryptosporidium ookistleri ile temas ihtimalinin daha düşük olduğu bilinmektedir (Blanchard 2012; De Waele, Speybroeck, Berkvens, Mulcahy ve Murphy, 2010).

Ergin sığırların 1 g dışkılarıyla 3-900 adet ookist (Fayer ve diğerleri, 1998; House ve diğerleri, 2015) ve günde ise  $7 \times 10^6$  adet ookist saçabildiği (Scott, Smith ve Gibbs, 1994), dolayısıyla çevresel kontaminasyon ve duyarlı olan buzağular için büyük risk taşıdığı bilinmektedir. Ayrıca gebe ineklerde de periparturient ookist artışı şekillenebildiği bilinmekle birlikte (Castro-Hermida, González-Losada, Mezo-Menéndez ve Ares-Mazás, 2002; De Waelea ve diğerleri, 2010) yapılan bir araştırmada periparturient ineklerin %18,75 oranında *C. parvum* ookisti saçtıkları belirtilmiştir. (Castro-Hermida ve diğerleri, 2002). Bu nedenle buzağularda riski azaltmak için buzağuların kuru ve temiz doğumhanelerde doğmasının, doğum sonrası kısa sürede annesinden ve yetişkinlerden ayrılmasının önem taşıdığı vurgulanmaktadır (De Waelea ve diğerleri, 2010; Radostits ve diğerleri, 2007).

**Eş zamanlı enfeksiyonlar:** Buzağılarda cryptosporidiosisin morbiditesinin değişken olup, mortalitesinin genellikle düşük olduğu bilinmektedir. Ancak *coronavirus* enfeksiyonları başta olmak üzere diğer etkenlerin de katılması sonucu şekillenen miks enfeksiyonlarda hastalığın şiddeti ve ölüm oranının artabildiği bilinmektedir. (Batmaz, 2016; House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007).

**Mevsim ve çevre sıcaklığı (çevre şartları):** Ookistin canlılığını etkileyen en önemli faktör çevre sıcaklığıdır. Ookistlerin sıcaklıkla canlılığı ve enfektivitesi azalabilmektedir (House ve diğerleri, 2015). Bu bağlamda *Cryptosporidium* ookistlerinin, -4 ve +4 °C derecede toprak, su ve dışkıda zamanla ookist sayıları azalsa da en az 12 hafta boyunca yaşayabildiği; 25 °C çevre sıcaklığında ise ookistlerin daha hızlı şekilde yıkımlandığı saptanmıştır (Olson, Goh, Phillips, Guselle ve McAllister, 1999). Yazın yüksek sıcaklık ve kışın dondurucu soğuk çevre şartlarının çevredeki ookist yükünü azaltabildiği belirtilmiştir (Blanchard, 2012).

Buzağılarda cryptosporidiosis her mevsim görülebilse de çok sert olmayan kış ve bahar aylarında daha sık rastlanıldığı bildirilmektedir (Batmaz, 2016; Radostits ve diğerleri, 2007). Buna paralel olarak, Arsenapoulos ve diğerleri, (2017) yaptıkları bir çalışmada kış aylarında buzağuların daha fazla *Cryptosporidium spp.* ookisti saçtıklarını belirlemişlerdir. Garber, Salman, Hurd, Keefe, ve Schlater (1994), ise yaz aylarında cryptosporidium prevalansının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Buna rağmen ülkemizde Ankara Bölgesinde buzağılarda yapılan bir araştırmada cryptosporidiosis enfeksiyon oranı %35 olarak belirlenmiş ve enfeksiyon oranının %56,4 ile kış mevsiminde en yüksek, sonrasında sırasıyla ilkbahar (%28,2), yazın (%15,4) ve sonbaharda (%0) olduğu saptanmıştır (Sahal, Karaer, Yasa Duru, Cizmeci, ve Tanyel, 2005).

**Hayvanın yaşı:** *Cryptosporidium* türleri ile enfeksiyonda, hayvanın yaşı da önemli bir faktördür (Garber ve diğerleri, 1994; Thomson ve diğerleri, 2017). Etkenle temas anında, buzağının yaşının büyük olması genellikle daha hafif şiddette enfeksiyonla sonuçlanmaktadır (Blanchard, 2012). Yine buna paralel olarak, yapılan bir araştırmada buzağının ookist saçmaya başladığı zaman ne kadar erken ise, ookist saçılım süresinin o kadar uzun olduğu belirlenmiştir. Yani diğer bir ifadeyle

enfeksiyonu daha erken alan buzağılarda, patent periyodun daha uzun olduğu belirlenmiştir (Castro-Hermida ve diğerleri, 2002).

Buzağının yaşı ile hastalığın prevalansı ve dışkıdaki ookist sayısının da genç hayvanlarda daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Gong ve diğerleri, 2017; Radostits ve diğerleri, 2007). ABD’de yapılan bir araştırmada, *C. parvum* ’un süttten kesim öncesi buzağılardaki cryptosporidiosis vakalarının %85-97’sinden, ancak süttten kesim sonrası buzağılarda ve danalarda sadece %1-4’ünden sorumlu olduğu belirtilmiştir (Gong ve diğerleri, 2017). Santin, Trout ve Fayer (2008) ise, 24 aylık yaşa kadar takip ettikleri genç sığırlarda yaptıkları çalışmada, süttten kesime kadarki dönemde, süttten kesilmiş buzağılarda ve danalarda sırasıyla cryptosporidiosis vakalarının %97, %4 ve %0 ’ının *C. parvum* kaynaklı olduğu ortaya konmuştur. Delafosse ve diğerleri, (2015), 7-15 günlük yaştaki buzağuların, 16-21 günlük yaşta olanlara göre *C. parvum* ookist saçma prevalansının (%51 vs %30) daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Farklı yaş gruplarındaki sığırlarda cryptosporidiosis prevalansının %25,05 olduğu, ancak 14 günlükten küçüklerde prevalansın %48,62 bulunduğunu gösterilmiştir (Panousis ve diğerleri, 2007).

**Hayvanın ırkı:** Değişik sığır ırklarında farklı Cryptosporidium türleri daha yaygın görülebilmektedir. Bu anlamda Çin’de yapılan bir araştırmada, et ırkı buzağılarda *C. andersoni* en yaygın tür iken, yaklarda *C. bovis*, buffalo (bizon)’larda en yaygın türün *C. ryanae* olduğu, sütçü buzağılarda ise en yaygın türün *C. parvum* olduğu belirlenmiştir (Gong ve diğerleri, 2017). Yine ırk duyarlılığı anlamında Jersey ırkının *C. bovis* ile enfeksiyona karşı Holştayn ırkından daha duyarlı olduğu, ancak *C. parvum*’a karşı ırklar arasında fark olmadığı belirtilmiştir (Szonyi, Chang, Wade ve Mohammed, 2012).

Besi ırkı buzağılarda genel olarak cryptosporidiosis vakalarının daha az görüldüğü, ancak etkilenmeleri halinde sütçü buzağılardan daha şiddetli etkilendikleri ve mortalite oranının %30’lara kadar ulaşabildiği bildirilmiştir. Bu durum hayvan ırkının yanında, besi buzağılarında doğumlarının belli bir mevsimsel aralık ile sınırlı olması ve bu nedenle parazit siklusunun bir noktada kesintiye uğraması ve sürü immunitésinin oluşmamasına bağlanarak açıklanmıştır (Delafosse ve diğerleri, 2015;

Olson ve diğeri, 2004). Diğeri yandan, besi ırkı buzağular doğum sonrası analarından ayrılmadığı için, etkenle temas risklerinin daha fazla olduğu da öne sürülebilmektedir.

**Diğeri nedenler:** Cryptosporidiosis için risk oluşturan faktörlerden biri de sürü büyüklüğü olup, 100'den fazla sağmal ineğe sahip olan işletmelerde (Garber ve diğeri, 1994) ve büyük sürülerde buzağularda cryptosporidiosisin daha yaygın olduğu bildirilmiştir (Delafosse ve diğeri, 2015; Szonyi ve diğeri, 2012). Bu durum, sürü büyüklüğü arttıkça enfeksiyon kaynağı olan buzağuların, dolayısıyla çevredeki ookist yükünün artması ve temizleme için yeterli zamanın olmaması ile ilişkilendirilmiştir (Garber ve diğeri, 1994).

Kovaların yığınlar halinde depolanması kontaminasyona yol açtığı için veya kovadan beslenen hayvanların emme dürtüsü karşılanmadığı için birbirlerini ve çevreyi emerek daha fazla ookist ile temas kurmaları nedeniyle kovadan beslenen buzağularda biberonla beslenen buzağulara göre ookist saçılım düzeyinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (Delafosse ve diğeri, 2015). Ayrıca biberonla beslenen buzağularda özefagal oluk daha etkili şekilde kapanarak, fermentasyonu önleyerek *cryptosporidium* gibi enteropatojenlerin kolonizasyonunu önlediği düşünülmektedir.

Buzağı beslenmesinde ilave fermente süt kullanılmasının da, *C. parvum* ookist saçılımına karşı önemli düzeyde koruyuculuk sağladığı saptanmıştır (Delafosse ve diğeri, 2015). Bu durum fermente süte, normal süte göre daha fazla oranda probiyotik içermesi ve dolayısıyla probiyotik bakterilerin patojen kolonizasyonu ve çoğalmasına karşı etkileri sayesinde olduğu düşünülmektedir. Nitekim Alak ve diğeri (1999), farelerde probiyotiklerin ookist saçılımını azalttığını göstermişlerdir. Ancak Harp ve diğeri (1996), buzağularda probiyotik kullanımının ishal insidansı ve ookist saçılımında önemli etki oluşturmadığını bildirmişlerdir.

Ani hava değişikliklerinin de cryptosporidiosis vakaları için risk oluşturduğu bilinmektedir (Batmaz, 2016; Lake, Bentham, Kovats ve Nichols, 2005). Hatta yoğun yağışlar ve sel olaylarının dahi cryptosporidiosis görülmesinde etkili olabileceği ifade edilmektedir (Gertler ve diğeri, 2015; Lake ve diğeri, 2005).

Besi ırkı sığırlarda, serum selenyum seviyesinin düşük olması ile de cryptosporidiosis'e bağlı dışkı skorları ve mortalite arasında bağlantı olduğu



bildirilmiştir (House ve diğerleri, 2015; McAllister, Olson, Fletch, Wetzstein ve Entz, 2005).

### 2.3.2.2. Bulaşma

Cryptosporidium türleri başlıca fekal oral yolla bulaşmaktadır. Bu anlamda, enfekte hayvanın dışkıyla sağlıklı buzağılara direkt bulaşabileceği gibi, dışkıyla kontamine olmuş yem ve suların alınmasıyla da bulaşmaktadır. Ayrıca hayvan bakıcılarının elleri, çizmeleri, kıyafetleri gibi materyaller, hatta mekanik olarak sineklerle de hastalık etkeni taşınabilmektedir (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; Blanchard 2012; Dillingham ve diğerleri, 2002; House ve diğerleri, 2015; Thomson ve diğerleri, 2017). Sağlıklı buzağılar için en büyük riski çevredeki ishallerli buzağılar ve sığırların varlığı oluşturmaktadır. Nitekim, yapılan bir araştırmada (Trotz-Williams ve diğerleri, 2007) cryptosporidium ookisti saçan buzağuların, ookist saçmayanlara göre 5,3 kat daha fazla ishal olduğu belirlenmiştir. Yine aynı araştırmada *C. parvum* pozitif olan buzağılarda, dışkılarının bir gramında  $2,2 \times 10^5$  ve daha fazla sayıda ookist içeren buzağuların, daha az ookist taşıyanlara göre 6 kattan daha fazla ishal oranına sahip olduğu gözlenmiştir. Çevresel kontaminasyon açısından enfekte sığırlar dışında rodentler ve vahşi hayvanların da rezervuar olarak risk oluşturabileceği bildirilmektedir (Castro-Hermida ve diğerleri 2002).

Farklı *cryptosporidium* izolatlarının virulansının farklı olduğu belirtilmekle birlikte (Okhuysen ve diğerleri, 1999), genel olarak duyarlı insan ve hayvanların 100'den az sayıdaki ookisti alarak enfekte olabildiği bildirilmiştir (House ve diğerleri, 2015). Buzağılarda ise yaklaşık 6 adet (5,8 adet) ookist alınmasıyla ookist saçılımın başladığı, 10 adet (9,7) ookistin alınmasıyla ishal şekillendiği ve 17 adet (16,6) ookist alınmasıyla ishalle birlikte fekal ookist saçılımına neden olduğu belirtilmiştir (Zambriski ve diğerleri, 2013).

*C. parvum* enfeksiyonlarında prepatent sürenin 2-7 gün (Blanchard 2012; House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007), patent sürenin ise 4-13 gün arasında değiştiği ve patent dönemdeki buzağuların dışkılarıyla yoğun ookist saçarak çevresel kontaminasyona yol açtığı bilinmektedir (House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007). Diğer bir ifadeyle, buzağılarda cryptosporidiumun inkubasyon

süresinin 2-5 gün kadar olduğu, ookistlerin alınmasından 3-5 gün sonra klinik bulguların başladığı ve 4-17 gün (1-2 hafta) sürebildiği bildirilmektedir (Delafosse ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007; Thomson ve diğerleri, 2017).

Enfekte buzağılarda ilk ookist saçılımının genellikle 6-7 günlük yaşta başladığı (Blanchard 2012), ookist atılımının alınan ookist miktarına bağlı olarak 3-18 gün (Blanchard 2012; Radostits ve diğerleri, 2007; Thomson ve diğerleri, 2017) kadar sürebildiği belirtilmiştir. Nitekim, Zambriski ve diğerleri (2013), buzağılarda yaptıkları çalışmada, alınan ookist miktarı arttıkça, fekal ookist atılımının başladığı sürenin kısaldığını tespit etmişlerdir. Ancak alınan doz ile ookist saçılımının bittiği zaman veya süresi arasında bir ilişkinin olmadığını ifade etmişlerdir. Castro-Hermida ve diğerleri (2002), *C. parvum* ile enfekte buzağılarda yaptıkları araştırmada ookist saçılımının 3-17 günlük yaşta başladığını, ookist saçılımının 8- 23 gün (ort:12,4 ±3,3 gün) ve ishalin 5-12 gün (7,7 ± 1,6) sürdüğünü ve ookist saçılımının her zaman ishalle aynı anda başlamadığını saptamışlardır. Fayer ve diğerleri (1998) ise,  $1,5 \times 10^6$  ookistle deneysel enfekte ettikleri buzağılarda enfeksiyondan 3-6 gün sonra ookist saçılımının başladığını ve günlük olarak gram dışkıda  $4 \times 10^6 - 4,15 \times 10^7$  adet ookist ekskresyonu olduğunu saptamışlardır.

*Cryptosporidium* türleri ile bütün yaşlardaki hayvanlar enfekte olabirse de sütten kesim öncesi buzağılarda ishallerin yaygın olduğu, 4 aydan büyük olan hayvanların genellikle asemptomatik olabildiği belirtilmiştir (House ve diğerleri, 2015; Thomson ve diğerleri 2017). Literatürde, iki (House ve Gunn, 2008) ve üç günlük (Quilez, Sánchez-Acedo, del Cacho, Clavel ve Causapé, 1996) yaştaki buzağılarda bile ookist saptanabildiği bildirilmesine rağmen, genel olarak buzağuların 1 haftalık yaştan 4 aylık yaşa kadar yüksek miktarlarda ookist saçabildiği, pik saçılımın genellikle 1-3 haftalık (çoğu zaman 9-14 günlük) yaşta olduğu bildirilmiştir (House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007). Enfekte buzağuların, 1 gram dışkıda  $10^6$  dan fazla ookist saçabildiği, pik dönemde ise gram dışkıda  $10^7$  'den fazla ookist saçabildiği belirtilmiştir (Björkman, von Brömssen, Troell ve Svensson, 2018; House ve diğerleri, 2015). İshal sırasında ookist saçılımının arttığı (Delafosse ve diğerleri, 2015) ve ishallerli buzağuların günlük  $3,89 \times 10^{10}$  kadar ookist saçabildiği bildirilmiştir (Nydham, Wade, Schaaf ve Mohammed, 2001; Thomson ve diğerleri, 2017). Ookist atılımı her zaman ishalle sonuçlanmadığı ifade edilmesine rağmen,

(Thomson ve diğeri, 2017) ishal sırasında ookist atılımı artabildiği belirtilmektedir (Delafosse ve diğeri, 2015) Nitekim, Arsenopoulos ve diğeri (2017) yaptıkları çalışmada cryptosporidiosis yönünden pozitif olan buzağuların %45'inin normal dışkı yapısına sahip olduğunu, ancak dışkı skoru kötü olanlarda iyi olanlara göre ortalama ookist miktarının daha fazla olduğunu saptamışlardır. Başka bir söylemle dışkıda cryptosporidium ookisti pozitif olanların %55'inde ishal görülmüştür. Buzağularda *C. parvum* ookist saçılımının artması, ishal insidansının artması ve aynı zamanda buzağı mortalitesinde artış ile ilişkilendirilmiştir (Delafosse ve diğeri, 2015; Trotz-Williams ve diğeri, 2007).

### **2.3.2.3. Prevalans, Morbidite ve Mortalite**

Son yıllarda hem ekstansif aile işletmelerinde hem de entansif işletmelerde cryptosporidiosis yaygınlığı ve önemi artmıştır (Pohlenz ve diğeri, 1978). Garber ve diğeri (1994), 7369 buzağı ve 1103 çiftlikte yaptıkları araştırmada çiftliklerin %59,1'inin, buzağuların ise %22,4'ünün cryptosporidiosis yönünden pozitif olduğunu bildirmişlerdir. Yine, Thomson ve diğeri (2017), bir aydan küçük buzağularda vakaların %37'sinde tek başına, %20'sinde ise diğeri etkenlerle birlikte olmak üzere cryptosporidiumun en çok tespit edilen ishal nedeni olduğunu bildirilmişlerdir.

Dünyada yapılan araştırmalarda buzağularda dışkıda *Cryptosporidium* ookist prevalansının %41,5 (Delafosse ve diğeri, 2015), %71 (Arsenopoulos ve diğeri, 2017) ve %62-91 (Trotz-Williams ve diğeri, 2007) olduğu belirtilirken, Meganck ve diğeri, (2014) *C. parvum*'a bağlı olarak şekillenen neonatal buzağı ishallerinin prevalansının %27,8-63 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, ülkemizde yapılan araştırmalara bakıldığında; hastalığın prevalansının yaş ve ishal durumuna bağlı olarak değişebilmekle birlikte ishalleri buzağularda hastalık prevalansının %20,2 (Astı ve diğeri, 2012), %20,6 (Özlem, Eren ve Kaya, 1997), %25,7 (Arslan, Gıcık, Erdoğan ve Sarı, 2001), %30,3 (Sarı, Aktaş ve Arslan, 2008) ve %63,9 (Sevinç ve diğeri, 2003) olduğu; ishal olmayan buzağularda ise prevalansın %9,8 (Sevinç ve diğeri, 2003) ve %10 (Sarı ve diğeri, 2008) olarak tespit edildiği görülmektedir.

Yine, Çin'de yapılan bir araştırmada enfeksiyon oranlarının, süt emen buzağılarda, gençlerde, süttten kesilen gençlerde ve ergin sığırlarda sırasıyla %19,5, %10,69, %9,0 ve %4,94 olduğu; yani süt emenlerde en yüksek enfeksiyon oranının görüldüğü belirtilmiştir (Gong ve diğerleri, 2017). Yine benzer şekilde ülkemizde yapılan bir araştırmada 1-10, 10-20, 20-30, 30-45 günlük ve 45 günlük yaştan daha büyük buzağılarda hastalık prevalansının sırasıyla % 50,75, %35,71, % 25,45, % 14,71 ve % 13,24 olduğu belirlenmiştir (Sevinç ve diğerleri, 2003).

Kvac ve Vitovec (2003), besi ırk buzağılarda, ilk *C. andersoni* ookist atılımının 63. günde olduğunu ve hastalık prevalansının ise yaşa bağlı olarak %11,1- 92,9 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Yine, Ralston, Thompson, Pethick, McAllister ve Olson (2010)'un yaşları 11-36 ay arasında değişen besi danalarında yaptıkları araştırmada ise *C. andersoni* insidansının %0- 26 arasında değiştiği saptanarak *C. andersoni* enfeksiyonlarında ookist atılım paterni, prevalans ve insidansının *C. parvum*'a göre farklılık gösterdiği vurgulanmıştır.

Genel olarak cryptosporidiosisin (*C. parvum*) morbiditesinin 3 haftalıktan küçük buzağılarda %50'nin üstünde olabileceği, ölüm oranının ise miks enfeksiyon olmadıkça ve destekleyici sağaltım uygulananlarda düşük olduğu bildirilmiştir (Batmaz, 2016; de Graaf ve diğerleri, 1999; House ve diğerleri, 2015).

### 2.3.3. Hayat Siklusu ve Patogenez

**Hayat Siklusu:** *Cryptosporidium* türlerinin direkt ve monoksen (siklusu bir hayvan türünde tamamlanan) bir yaşam siklusuna sahip olduğu (Castro-Hermida ve diğerleri, 2002), yaşam siklusunun kısaca 6 temel gelişimsel devreden olduğu bilinmektedir. Bunlar; 1) ookistlerin açılması (excystation), 2) iki generasyon meront oluşumunu içeren merogonik devre (aseksüel çoğalma), 3) mikrogamet ve makrogamet oluşumunu içeren gametogonik devre, 4) zigot oluşumu ile sonuçlanan fertilizasyon, 5) ookist duvarı oluşumu ve 6) sporozooit oluşumunu içeren sporogonik dönemden oluşmaktadır (de Graaf ve diğerleri, 1999; Sönmez Tamer ve Gülenç, 2008; Radostits ve diğerleri, 2007).

Ookistler ağız yoluyla alındıktan sonra, gastrointestinal kanaldaki şartlar (gastrik asit ve safra tuzları başta olmak üzere düşük pH, vücut sıcaklığı, sindirim enzimleri, safra asitleri vb.) ile ookistler eksiste olarak 4 adet sporozoitin serbest kaldığı bilinmektedir (Foster ve Smith, 2009; İnci, 2013; Thomson ve diğerleri, 2017). Sonrasında sporozoitler özellikle ileoesekal bağlantı bölgesi olmak üzere villus epitellerine penetre olmaktadır. Penetrasyonu takiben konakçının hücre membranı tarafından 'parasitophorous vakuol' oluşturularak sporozoitler hücre içinde, epitelial tabakanın hemen altında ekstrastoplazmik olarak yerleşmektedir. Ayrıca aynı zamanda *Cryptosporidium* özel olan besleyici organel gelişmektedir. Besleyici organel ile parazit kendisine gereken tüm besin maddelerine ulaşım sağlarken, parasitophorous vakuol ile konakçının immun sisteminden, antimikrobiyal ajanlardan ve bağırsaktaki olumsuz şartlardan korunduğu bildirilmektedir (de Graaf ve diğerleri, 1999; Thomson ve diğerleri, 2017). Dolayısıyla besleyici organel ve parasitophorous vakuolün, *cryptosporidium* sporozoitlerine hastalık oluşumunda önemli avantajlar sağladığı belirtilmektedir (de Graaf ve diğerleri, 1999; İnci, 2013). Besleyici organelin gelişmesi ile sporozoit daha küresel bir şekil alarak trophozoit formuna dönüşmektedir. Trophozoitler aseksüel üreme ile tip 1 ve tip 2 merontları oluşturmaktadır. Her bir tip 1 meronttan, 6-8 adet merozoit oluştuğu ve merozoitlerin konakçının yeni/komşu hücrelerini istila ederek tekrar aseksüel üreme yapabildiği veya tip 2 merontlara dönüşebildiği bilinmektedir. Oluşan her bir tip 2 meronttan ise dört adet merozoit serbest kalmakta ve bu merozoitler seksüel üreme ile makrogamont ve mikrogamontu oluşturmaktadırlar. Sonrasında mikrogamonttan mikrogametler serbest kalmakta ve serbest kalan mikrogametler makrogamontta penetre olarak zigotu meydana getirmektedirler. Zigot, mayozis geçirerek içerisinde dört adet sporozoit bulunan ookistlere dönüşmektedir (de Graaf ve diğerleri, 1999; Thomson ve diğerleri, 2017). Oluşan ookistlerin yaklaşık %80'inin kalın duvarlı iken, %20'sinin ise ince duvarlı olduğu belirtilmiştir (İnci, 2013; Thomson ve diğerleri, 2017). İnce duvarlı ookistler, bağırsak lumeninde kolayca yırtılarak içerisinde bulunan sporozoitleri serbest bırakmaktadır. Serbest kalan sporozoitler tekrar konakçının epitel hücrelerine invaze olarak re-enfeksiyon -otoenfeksiyon- meydana getirdiği ve bu enfeksiyonun, hayvanın immun sistemi paraziti elimine edene kadar devam ettiği bildirilmektedir. Kalın duvarlı ookistler ise çevre koşullarına ve birçok dezenfektana karşı dirençli olup

çevrede uzun süre enfektivitesini sürdürebildiğinden duyarlı hayvanların enfekte olmasına yol açmaktadır. Dışarı atılan ookistler tamamen sporlanmış olup, konakçıdan atıldığı andan itibaren enfektif olup (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; Dillingham ve diğerleri, 2002), duyarlı hayvanlar ve insanlar tarafından alındığında yukarıda bahsedilen siklusu tekrar başlatarak enfeksiyon oluşturabilmektedir (de Graaf ve diğerleri, 1999; Radostits ve diğerleri, 2007; Smith ve Foster, 2009; Thomson ve diğerleri, 2017).

**Patogenez:** *C. parvum*, genellikle ince bağırsakların distali olmak üzere bazen duodenum, sekum ve kolonda da bağırsak mukozasındaki süperfisiyel hücreleri enfekte etmektedir (de Graaf ve diğerleri, 1999; House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007; Şentürk, 2018). Mukozanın parazitlerle invazyonu, epitel hücrelerde yıkımlanma, değişen derecede villöz atrofi, mikrovilluslarda kısalma ve dejenerasyon/yıkımlanma, kriptlerde hiperplazi, lamina propriada mononükleer hücre ve nötrofil artışı meydana getirmektedir. Bu durum bağırsak mukozasında siliar enzimlerinin kaybı, villus yüzey alanında azalmaya neden olmaktadır (Cho ve Yoon, 2014; House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007). Ayrıca hastalık sırasında bağırsaktaki yangısal süreçte, PGE<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> gibi endojen prostaglandinlerin sekresyonunda artışın, kriptlerden klor ve bikarbonat sekresyonunda artış ve villuslardan sodyum klorid absorpsiyonunda azalmaya neden olarak patolojik tabloya katkı sağladığı bildirilmiştir (Gookin, Nordone ve Argenzio, 2002; House ve diğerleri, 2015). Tüm bu patofizyolojik mekanizmalarla birlikte maldigesyon ve malabsorpsiyon sonucu ishal şekillenmektedir (Batmaz, 2016; House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007; Şentürk, 2018). Ayrıca cryptosporidiosis'li buzağılarda, sağlıklı buzağılara göre serum D-dimer seviyelerinin yükseldiği ve bunun yangı ve pre-koagülatif proseslerin göstergesi olduğu ifade edilmiştir (Cıngı, Kabu, Erdoğan, Haydardedeoğlu ve Ural, 2019). Nitekim, Hunt ve diğerleri (2002), 10<sup>8</sup> cryptosporidium ookisti ile deneysel enfeksiyon oluşturdukları 8 günlük buzağılarda, cryptosporidiosisin bağırsak permabilitesinde %25 artış, villus yüzey alanında %33 azalma ve mukozal laktaz aktivitesinde %40 azalmaya yol açarak 9 günden uzun süren sulu ishale neden olduğunu tespit etmişlerdir.

*C. andersoni* ise, oral yolla alındıktan sonra sığırlarda abomasuma yerleşerek gastrik ve pilorik bezlere kolonize olduğu, gastrik mukozada hipertrofi, mukus boyun

hücrelerinde hiperplazi, epitel tabakasında incelme, bez lumenlerinde dilatasyona yol açtığı bildirilmiştir. Bu patolojik değişikliklerin abomasum pH'ını ve pepsinojen seviyesini yükselterek, proteolitik fonksiyonları inhibe ederek protein sindiriminde aksamalara, maldigesyona yol açtığı belirtilmiştir. Sonuçta yemden yararlanmada azalma ve günlük vücut ağırlığı artışında azalma oluşabilmektedir (Masuno ve diğerleri, 2006; Olson ve diğerleri, 2004; Ralston ve diğerleri, 2010).

**Hastalığa Karşı İmmunite:** Immunocompetent hastalarda hastalık kendini sınırlarken, immunsupresif hastalarda özellikle T-hücre eksikliğinde cryptosporidiosis, bağırsak dışı hastalıkların gelişimiyle birlikte daha şiddetli ve kronik seyir izleyebildiği bildirilmiştir (Brunet ve diğerleri, 2016; Chalmers ve Davies, 2010). Cryptosporidiosis'e karşı korumada özellikle lenfositler olmak üzere hücre aracılı immunitenin daha önemli olduğu bildirilmektedir (Harp ve Goff, 1998). Bu anlamda cryptosporidiosis'te, hücresele immunitede rol oynayan başlıca bileşenlerin NK hücreleri, gamma ve delta T hücreleri ( $\gamma\delta$  T), dendritik hücreler, makrofajlar, CD4+T hücreleri ve CD8+T hücreleri olduğu belirtilmiştir (Thomson ve diğerleri, 2017).

Doğal öldürücü hücreler (natural killer: NK hücreleri), sığırların periferel kanındaki total lenfositlerin %0,5-10'u kadar bulunduğu ve virus, intraselüler bakteri ve parazitlere karşı ilk savunma hücreleri olduğu bildirilmektedir. NK hücreleri TNF $\alpha$ , farklı interleukinler vb. immunoregülatör sitokinlerin kaynağıdır. NK hücreleri sitokinler tarafından uyarılınca, içindeki granüllerde bulunan perforin ve granulyisin ile hedef hücrelere sitotoksik etki yaptığı bilinmektedir (Thomson ve diğerleri, 2017). NK hücresi olmayan farelerde yapılan bir araştırmada *C. parvum* ile enfeksiyon sonrası morbidite ve mortalitenin daha yüksek olduğu, ookist saçılımının daha fazla bulunduğu saptanmıştır (Barakat, McDonald, Di Santo ve Korbel, 2009).

Gamma, delta ( $\gamma\delta$  T) T hücreleri; bağırsak mukozasında bol miktarda bulunan lenfosit hücrelerdir, antijen sunumu, sitokin üretimi ve immun yanıtın düzenlenmesinde görevli olan bu hücrelerin hastalığın kleransında rol oynadıkları ifade edilmiştir (Thomson ve diğerleri, 2017).

Cryptosporidiosis'in korunma ve iyileşmesinde B hücrelerinin ve immunoglobulinlerin rolü ve etkinliği üzerine veriler hala tartışmalı görünmektedir.

Nitekim, B hücreleri olmayan farelerle normal fareler karşılaştırıldığında, cryptosporidiosis karşı korunmada her iki grup arasında fark olmadığı tespit edilmiştir (Taghi-Kilani, Sekla ve Hayglass, 1990; Thomson ve diğerleri, 2017). Yine bu bilgiye paralel olarak, Harp ve Goff (1998) kolostrumla alınan maternal antikörlerin, intrasellüler yaşam siklusu nedeniyle cryptosporidiuma karşı koruyuculuğu olmadığını saptamışlardır. Diğer yandan, başka bir çalışmada ise buzağının ilk gün tükettiği kolostrum miktarı ile dışkıdaki ookist sayısı (skoru) arasında ters orantı olduğu bulunmuştur (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017).

#### **2.3.4. Klinik Bulgular**

Cryptosporidiosisli buzağılarda klinik bulgular ve bulguların şiddeti, kolostrum yönetimi, bakım ve hijyen koşulları, alınan ookist sayısı, besleme, stres, mevsimler, ilaç uygulamaları ve koruyucu ölçemler vb. durumlara bağlı olarak değişim gösterebilmektedir (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; Olson ve diğerleri, 2004).

Cryptosporidiosis, çoğunlukla 6-25 günlük buzağılarda (özellikle 4-15 günlük yaşta) görülmekte olup rutin antibiyotiklere cevap vermeyen, uzun süreli, tedaviye rağmen birkaç gün devam eden bol miktarda sulu, mukuslu ve krema kıvamında, hafif-orta şiddette ishal ile karakterize olmaktadır. İshal genellikle sarı, sarı-kahverenkli, bazen kan da içerebilmektedir. (Batmaz, 2016; Blanchard, 2012; Hunt ve diğerleri, 2002; Radostits ve diğerleri, 2007). Bazı hayvanlarda kilo kaybı, abdominal ağrı, zayıflama, değişen derecelerde ilgisizlik, depresyon, letarji (uyuşukluk), iştah kaybı, dehidrasyon ve şiddetli vakalarda güçsüzlük, kollaps ve ölüme kadar gidebilen klinik yansımalar görülebilmektedir (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; House ve diğerleri, 2015; Şentürk, 2018; Thomson ve diğerleri 2017). Bazı vakalarda ise ateş ve tenesmus da tabloya eşlik edebilen diğer bulgular olabilmektedir (Batmaz, 2016; House ve diğerleri, 2015).

Parazitin otoenfeksiyon oluşturabilmesi, bağırsakta iken sporlanması ve komşu hücreleri kolayca enfekte edebilmesi nedeniyle klinik bulguların uzaması ve zaman zaman nüks görülebilmektedir (de Graaf ve diğerleri, 1999; House ve diğerleri, 2015).



*C. andersoni* enfeksiyonlarında ise; bu ookisti saçan ineklerin, ookist saçılımı olmayan ineklere göre günlük olarak yaklaşık 3,2 kg daha az süt ürettikleri bildirilmiştir (Esteban ve Anderson, 1995). Yine *C. andersoni* ile enfekte olan danalarda, sağlıklı danalara göre plazma pepsinojen seviyesinin daha yüksek, vücut ağırlık artışının ise %10-50 daha düşük olduğu belirtilmiştir (Ralston ve diğerleri, 2003; Raston ve diğerleri, 2010). Yani *C. andersoni* enfeksiyonlarında hastaların çoğu zaman belirgin klinik bulgular göstermeksizin, süt veriminde azalma, kilo kaybı gibi atipik bulgulara yol açtığı bildirilmiştir (Aberg ve diğerleri, 2019; Masuno ve diğerleri, 2006).

### **2.3.5. Laboratuvar Bulguları**

Hastalığın tipik laboratuvar bulgusu olmamakla birlikte, dehidrasyon ve metabolik asidosis ilişkili yansımalar (total protein ve hematokrit değerinde artış, hiperkalemi, baz açığı) görülebilmektedir. Komplike olduğu hastalıklara göre lökosit değişimleri de izlenebilmektedir. Ayrıca uzun süren vakalarda iştahsızlık sonucu hipoglisemi gelişebilmektedir (Batmaz,2016; Radostits ve diğerleri, 2007).

### **2.3.6. Nekropsi Bulguları**

Hayvanların nekropsisinde patognomonik bir bulgu olmayıp, ishalle ilişkili olarak değişen şiddetlerde dehidrasyon, zayıflama ve seröz atrofinin dikkati çektiği belirtilmektedir. Histolojik incelemede ince bağırsaklarda villöz atrofi, villus boyunda kısalma, absorbtif entereositlerin mikrovillüsleri içine gömülü ookistler, crypt (kript) hiperplazisi ve yangısal hücre birikimleri görülebilmektedir (de Graaf ve diğerleri, 1999; Radostits ve diğerleri, 2007).

### **2.3.7. Tanı ve Tanı Yöntemleri**

Cryptosporidiosisin teşhisinde kullanılan başlıca yöntemler mikrosobik identifikasyon, enzim immunoassay ve moleküler teşhis olmak üzere 3 başlıkta belirtilmiştir. Bu yöntemlerin dışında kültür ve flow stometri yöntemlerinin de teşhiste

kullanılabileceği bildirilmektedir (Boxell, Hijjawi, Monis ve Ryan, 2008; Radostits ve diğerleri, 2007).

Değişik teşhis metodlarının farklı eşik değerleri bulunmaktadır. Monoklonal antikor tabanlı ELISA tekniği ile  $3 \times 10^5$  ookist; asit fast boyalı preparatların incelenmesiyle  $1 \times 10^6$  ve indirekt immunofloresans tekniğiyle  $1 \times 10^3$  adet ookist/ gram dışkıda teşhis edilebildiği belirtilmiştir (Anusz, Mason, Riggs ve Perryman, 1990). Real-time PCR kullanarak, 200 ookist/gram dışkıda (veya 2 ookist/PCR) tespit edilebildiği bildirilmiştir (Hadfield, Robinson, Elwin ve Chalmers, 2011). Farklı tekniklerin kombine edilmesiyle testlerin sensitivitesi artırılabilir. Nitekim PCR ile birlikte immunomagnetik partikül seperasyon (IMS) tekniğinin birleştirilmesiyle 1 gram dışkıda 80-90 ookist varlığı saptanabilmektedir (Webster, Smith, Giles, Dawson ve Robertson, 1996). Ayrıca Pereira, Atwill ve Jones (1999), direkt immunofloresans mikroskopi ve immunomagnetik partikül seperasyon tekniklerinin birlikte kullanılmasıyla gram dışkıdaki 10 adet ookistin bile saptanabileceğini belirtmişlerdir.

### **2.3.7.1. Mikroskopik Yöntemler**

Cryptosporidiosisin teşhisinde mikroskopik dışkı muayenesinin ucuz ve kolay olması ile pratikte en yaygın kullanılan yöntem olduğu bildirilmektedir (İnci, 2013; Thomson ve diğerleri, 2017). Ancak, cryptosporidium ookistlerinin çok ufak boyutlarda (3-8 $\mu$ m) olmasıyla görüntülenmesindeki güçlükler, zaman zaman maya, küf ve fekal atıklarla ookistlerin karıştırılmasıdır. Cryptosporidium ookistlerinin, tür bazında teşhisinde sadece mikroskopik yöntemlerin kullanımı yetersiz kalmakta, dolayısıyla tür bazında teşhis için moleküler veya serolojik testlerden yararlanılması gerekmektedir (Azami, Moghaddam, Salehi ve Salehi, 2007; Thomson ve diğerleri, 2017; Yılmaz ve diğerleri, 2018).

Mikroskopik teşhiste, ishalin cryptosporidium kaynaklı olduğunu ortaya koyabilmek için, dışkının 1 ml'sinde  $10^5$ - $10^7$  adet ookist içermesi gerektiği ifade edilmiştir (Radostits ve diğerleri, 2007). Ookistler küçük boyutlarda (5-6  $\mu$ m çapında) olması ve non-refractile (ışıkta kırılım oluşturmaması) nedenleri ile direkt olarak ışık

mikroskobunda görülmeleri zor olduğundan bazı boyalardan faydalanılabilmektedir (İnci, 2013; Radostits ve diğerleri, 2007). Ookist teşhisinde kullanılabilir başlıca boyama yöntemleri; Kinyoun's asid-fast boyama, modifiye asid-fast (MAF) boyama, giemsa boyama, safranin metilen mavisi, karbol fuksin boyama, auramin fenol boyama, modifiye ziehl nelsen boyama, 4,6' diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI) boyama (Smith, Campbell, Paton ve Nichols, 2002), dimetil sulfoksit boyama, nigrosin, iodine, tricrom, akrinin orange, modifiye köster ve auromine-rhodamine boyama olarak sıralanabilmektedir (Chalmers, Campbell, Crouch, Charlett ve Davies, 2011a; Garcia, Bruckner, Brewer ve Shimizu, 1983; İnci, 2013; MacPherson ve McQueen, 1993; Yılmaz ve diğerleri, 2018). Ayrıca bu boyama yöntemleri dışında, faz kontrast mikroskopi ile boyamadan da ookistlerin görüntülenebildiği bildirilmiştir (Fayer, Andrews, Ungar ve Blagburn, 1989b; Garcia ve diğerleri, 1983; İnci, 2013; Radostits ve diğerleri, 2007).

Dışkı frotileri tek başına ookistleri konsantre edemediğinden, bir takım flotasyon tekniklerini içeren zenginleştirme yöntemlerinin kullanılmasıyla, direkt frotilerden yapılan mikroskobik incelemelerin sensitivitesinin artırılabilirliği ifade edilmiştir (House ve diğerleri, 2015; İnci, 2013). Bu amaçla ookist yoğunluğu az olan durumlarda, spesifik yoğunluğu olan tuzlu veya şekerli solüsyonlar kullanılarak flotasyon yapıldığında ookistler daha konsantre hale getirilebilmektedir (Radostits ve diğerleri, 2007). Sheather's şeker solüsyonu, modifiye edilmiş şeker konsantrasyon flotasyonu bu amaçla kullanılabilir solüsyonlardandır (Fayer ve diğerleri, 1989b; MacPherson ve McQueen, 1993). Zenginleştirme yöntemlerinde kullanılan bu solüsyonların özgül ağırlığı ookistlerin özgül ağırlığından daha yoğun olduğu için, ookistler solüsyonun üst kısmında yoğunlaşarak mikroskopinin sensitivitesinin arttığı belirtilmiştir (MacPherson ve McQueen, 1993).

### **2.3.7.2. Serolojik Yöntemler**

Cryptosporidiosisin teşhisinde kullanılan başlıca serolojik testler, ELISA (Yılmaz ve diğerleri, 2018), Western Blot Assay, IFAT (immunofloresans antikor testi: Antikor teşhisi) (Castro-Hermida ve diğerleri, 2002), monoklonal antikor tabanlı DFA (direkt floresans assay: Yüzey antijenlerinin tespiti) (Pereira ve diğerleri, 1999; Yılmaz ve diğerleri, 2018), indirekt immunofloresans prosedürü (Garber ve diğerleri,

1994; House ve diğeri, 2015; MacPherson ve McQueen, 1993; Radostits ve diğeri, 2007) ve immunofloresans tekniğı (Aberg ve diğeri, 2019; Chalmers ve diğeri, 2011a; Mac Kenzie ve diğeri, 1995) olmaktadır. Serolojik teşhis yöntemlerine ilave olarak Epifluorescence mikroskopi de cryptosporidiosisin teşhisinde kullanılabilir (Silverlas, Emanuelson, de Verdier ve Björkman, 2009a).

Cryptosporidiosis teşhisinde moleküler, serolojik (ELISA) ve mikroskopik (modifiye asit-fast boyama) laboratuvar yöntemlerinin karşılaştırılmasında, ELISA yönteminin yüksek sensitivite ve kolay uygulaması ile tercih edilebileceğı öne sürülmüştür (Yılmaz ve diğeri, 2018).

#### **2.3.7.3. Moleküler Yöntemler**

Moleküler yöntemler yüksek sensitiviteye sahip olup, parazitin tür ve genotip olarak tanımlanmasında başarıyla kullanılan yöntemlerdir (Thomson ve diğeri, 2017). PCR, Real-time PCR cryptosporidiosis teşhisindeki başlıca moleküler yöntemlerdir. Real-time PCR cryptosporidiosis tanısında altın standart olarak belirtilmekte (Chalmers ve diğeri, 2011a) ve standart PCR (parazit DNA'sını arar)'dan farklı olarak, var-yok dışında miktarı da belirttiğı için önemli olduğu vurgulanmıştır (Thomson ve diğeri, 2017).

PCR, PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) veya direkt sekans analizi ile tür ayırımı yapılabildiğı bildirilmiştir (Chalmers ve diğeri, 2009; Thomson ve diğeri, 2017).

#### **2.3.7.4. Diğer Yöntemler**

Kültür yöntemi (Boxell ve diğeri, 2008) ve Flow sitometri (House ve diğeri, 2015) yöntemleri cryptosporidiosisin teşhisinde kullanılabilen diğer yöntemlerdir. Diğer yöntemler kadar yaygın kullanılmamasına rağmen, cryptosporidiosisin teşhisinde ve gelişimsel dönemlerinin izlenmesinde hücre kültürlerinden faydalanılabileceğı bildirilmektedir (Boxell ve diğeri, 2008).

### **2.3.8. Prognoz**

Birçok vakada özellikle immunokompetent buzağılarda ishalin birkaç gün içinde kendini sınırladığı bildirilmektedir. (Blanchard, 2012; Radostits ve diğerleri, 2007). Etkilenen buzağılarda çoğu zaman, ishal başlangıcından 6-10 gün sonra iyileşme şekillenmekte, tam iyileşmenin ise 4-6 hafta zaman alabildiği belirtilmiştir (Batmaz, 2016; House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007). Dolayısıyla ishalin uzun sürdüğü olgularda, hayvanda ciddi düzeyde enerji eksikliğine yol açmakta, bu nedenle buzağuların 3-4 haftalık yaşta ölebildiği bildirilmiştir (Radostits ve diğerleri, 2007).

### **2.3.9. Sağaltım**

Cryptosporidiosisın sağaltımı ookistlerin birçok ilaca dirençli olması, mevcut kullanılan ilaçların ve etkilerinin sınırlı olması nedeniyle zor olmaktadır (De Waelea ve diğerleri, 2010; Harp ve Goff, 1998; Thomson ve diğerleri, 2017). Tedavi planı, primer tedavi ve destekleyici tedavi olmak üzere iki başlıkla ele alınabilmektedir.

#### **2.3.9.1. Primer Tedavi**

Primer tedavide amaç, enfektif ookistlerin yaşamasını, çoğalmasını, enfektivitesini ve çevreye yayılımını önlemektir. Bu anlamda geçmişten günümüze kadar insanlarda ve farklı hayvan türlerinde cryptosporidiosis tedavisi amacıyla birçok ilaç kullanılmış ve denenmiştir. Bu amaçla, immunsupresif rat modelinde, sulfadoxine-pyrimethamine, quinacrine, trimethoprim-sulfamethoxazole, bleomycin, elliptinium, daunorubicin, pentamidine, alfa-difluoro-methylornithine, diclazuril ve N-methylglucamine denenmiş; ancak hiçbirinin önemli anti-cryptosporidial aktivite göstermediği; sinefungin, lasalocid A, metronidazol ve sulfadimetoxinin kısmen etkili olabileceği sonucuna varılmıştır (Gong ve diğerleri, 2017; Lemeteil, Roussel, Favennec, Ballet ve Brasseur, 1993). Cryptosporidiosis teşhisi konulan insanlarda da paramomisin, nitazoxanid, azitromisin, klaritromisin, spiramisin, rifabutin ve rifaksimin gibi ilaçların kullanıldığı belirtilmiştir (Abubakar ve diğerleri, 2007; Fichtenbaum ve diğerleri, 1993).

Buzağılarda ise, cryptosporidiosis tedavisinde halofuginon ve paramomisin (Aydoğdu ve diğerleri, 2018; Batmaz, 2015a; Fayer ve Ellis, 1993; Keidel ve Dauschies, 2013; Klein, 2008; Naciri, Mancassola, Yvone ve Peeters, 1993) başta olmak üzere, azitromisin (Elitok, Elitok ve Pulat, 2005), spiramisin (Thomson ve diğerleri, 2017; Ulutas, Voyvoda ve Özlem, 2001),  $\beta$ -cyclodextrin (Castro-Hermida, González-Losada, Freire-Santos, Mezo-Menéndez ve Ares-Mazás, 2001), lasalocid-Na (lasalosid sodyum) (Sahal ve diğerleri, 2005), nitazoxanid (Ollivet ve diğerleri, 2009) gibi maddelerin başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Ancak bu etken maddelerden B-cyclodextrin ve nitazoxanid'in buzağılarda lisanslı olmadığı (Thomson ve diğerleri, 2017), lasalosid sodyum ülkemizin de dahil olduğu birçok ülkede insan tüketimi için yetiştirilen hayvan türlerinde kullanımının yasak olduğu belirtilmektedir.

Dünyada ve ülkemizde buzağılarda cryptosporidiosis tedavisinde ve korumasında en yaygın ve başarılı sonuçlarla kullanılan iki etken maddenin halofuginon ve paramomisin olduğu ileri sürülebilmektedir (Aydoğdu ve diğerleri, 2018; Batmaz, 2016; Radostits ve diğerleri, 2007).

**Halofuginon:** Halofuginon, *Dichroa febrifuga* bitkisinden izole edilen ve sentetik olarak üretilen bir quinazolinone alkaloididir (Aydoğdu ve diğerleri, 2018; Jarvie ve diğerleri, 2005; Lefay, Naciri, Poirier ve Chermette, 2001). *Cryptosporidium* türlerine karşı tam etki mekanizması bilinmemekle birlikte, merozoit ve sporozoit formları üzerine crptosporidiostatik etki gösterdiği bildirilmektedir (De Waelea ve diğerleri, 2010; Jarvie ve diğerleri, 2005; Naciri ve diğerleri, 1993; Thomson ve diğerleri, 2017). Halofuginon'un Avrupa'da buzağılarda cryptosporidiosis mücadelesinde kullanımı lisanslı tek ilaç olduğu bilinmektedir (Delafosse ve diğerleri, 2015; Thomson ve diğerleri, 2017).

Halofuginon 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (60-125  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) dozunda günde bir defa 7 gün boyunca oral yolla kullanılarak ookist atılımını azalttığı ve klinik hastalığa karşı koruduğu belirtilmiştir (Klein, 2008; Lefay ve diğerleri, 2001; Radostits ve diğerleri, 2007; Villacorta, Peeters, Vanopdenbosch, Ares-Mazas ve Theys, 1991). Buna paralel olarak Joachim, Krull, Schwarzkopf ve Dauschies (2003), cryptosporidiosisli buzağılarda halofuginon ve sulfadimidin kullanımını ile ilgili yaptıkları çalışmada halofuginon

kullanımının, ishalin şiddeti ve dehidrasyon derecesini, ookist saçılımını azalttığını tespit etmişler ve tedavide halofuginon kullanılabilceğini öne sürmüşlerdir.

**Paramomisin:** Paramomisin, '*Streptomyces rimosus var. paromomycinus*' tarafından üretilen aminoglikozidlerin alt grubu olan aminosidin grubu bir antibiyotiktir. Diğer aminoglikozidlerden farklı olarak gram pozitif ve negatif etki spektrumuna sahiptir. Gastrointestinal kanaldan absorpsiyonu zayıf olup, bu özelliği gastrointestinal sistemin cryptosporidiosis gibi bazı protozoal ve bakteriyel hastalıklarının tedavisinde avantaj sağlamaktadır (Aydoğdu ve diğerleri, 2018). Cryptosporidiosisin tedavisinde (Aydoğdu ve diğerleri, 2018; Fichtenbaum ve diğerleri, 1993; Goodgame, Genta, White ve Chappell, 1993) ve proflaksisinde (Grinberg ve diğerleri, 2002; Tzipori ve diğerleri, 1994) paramomisin kullanımı ile ilgili insanlarda ve birçok hayvan türünde veriler bulunmaktadır.

Lasalocid sodyumun, cryptosporidiosisli buzağılarda 8 mg/kg dozunda günde bir defa olmak üzere üç gün boyunca buzağılara verilmesi sonucunda ookist sayısının önemli düzeyde azaldığı (bazı buzağılarda tamamen yok olmuş) belirlenmiştir (Sahal ve diğerleri, 2005). Ancak, buzağılarda günde bir defa 200 mg dozda lasalocid sodyum uygulanmasının veya 12 saat arayla 100 mg lasalocid sodyumun 3 kez uygulanmasının buzağılarda toksikasyonu ve ölüme yol açtığı bildirilmiştir (Benson ve diğerleri, 1998). Oruç, Cangül, Cengiz ve Yılmaz (2011) ise, lasalocid sodyumun 5 mg/kg dozda tek doz verilmesinin 300 buzağıdan 49 tanesinin ölümüne yol açtığını bildirildiğinden, pratikte buzağılarda cryptosporidiosisin tedavi ve korunmasında kullanılmamaktadır.

### **2.3.9.2. Destekleyici Tedavi**

Cryptosporidiosisin tedavisinde kullanılan ilaçlarla tedaviye her zaman kolayca cevap alnamamaktadır. Cryptosporidiosisde uygulanan tedaviye alınan cevabı enfeksiyonun şiddeti ile birlikte, buzağının immun durumu, çevre ve iklim şartları etkilemektedir (Abubakar ve diğerleri, 2007; Dillingham ve diğerleri, 2002). Ancak geciken ve şiddetli olaylarda tedavi süresince zayıflama ve gelişme geriliği oluşabilmektedir. Dolayısıyla primer tedaviye ek olarak destekleyici tedavilerle, ishal sonucu şekillenen sıvı elektrolit kaybının düzenlenerek dehidrasyonun giderilmesi ve

hayvanın immun durumunun desteklenmesinin önemli olduğu belirtilmektedir (Batmaz, 2016; Harp ve Goff, 1998; Radostits ve diğeri, 2007; Şentürk, 2018). Sıvı elektrolit uygulamaları, hasta buzağının durumuna göre oral veya parenteral yolla uygulanabilmektedir. Sindirimi düzenlemek ve kilo kaybını önlemek için az miktarlarda sütün birkaç defada verilerek beslenmesi önerilmektedir, ayrıca gerektiğinde buzağlarda parenteral besleme de yapılabilmektedir (Radostits ve diğeri, 2007).

Holland, Boyle, Herdt, Grimes ve Walker, (1992), cryptosporidiosisli buzağlarda A vitaminin bağırsaktan emilimi azaldığından sistemik yolla A vitamini uygulanmasının faydalı olacağını belirtmiş, bu görüşe paralel olarak immunopresif rat modelinde A vitamini uygulamasının, cryptosporidium ookist saçılımını kısmen azalttığı gösterilmiştir (Lemeteil ve diğeri, 1993).

### **2.3.10. Koruma**

Cryptosporidiosis, gerek patojenin özellikleri, gerekse de yaygınlığı nedeniyle koruma ve kontrolü zor olup, iyi çiftlik yönetim uygulamaları ve hijyenik tedbirlerin sağlanması önem taşımaktadır. Cryptosporidiosisin korunmasında hedef; kaynaktan duyarlı hayvanlara bulaşmayı ve sonra da hayvanlar arası bulaşmayı azaltmaktır (de Graaf ve diğeri, 1999; Radostits ve diğeri, 2007).

#### **2.3.10.1. Sürü Yönetim Uygulamaları**

Cryptosporium ookistlerini çevreden elimine etmek çok zor olduğu için, bir takım yönetsel ölçemler ve hijyenik tedbirler alınarak duyarlı buzağların etkenle karşılaşma riski azaltılmaya çalışılmalıdır (de Graaf ve diğeri, 1999; Thomson ve diğeri, 2017). Bu amaçla; işletme çapında dışkı yönetimi, buzağı altlıkların sık sık değiştirilmesi, buzağı boksları, ineklerin yatakları, yemlik ve suluklar gibi yerlerin uygun şekilde temizlik ve dezenfeksiyonlarının yapılması çevredeki ookist yükünü baskılayarak buzağların etkenle temasının azaltılmasında yardımcı olmaktadır (Thomson ve diğeri, 2017).



Yeni doğanlar hastalığa karşı en duyarlı olduklarından buzağuların temiz ortamda doğmaları sağlanmalı, enterik patojenlere karşı direncini artırmak için en kısa zamanda yeterli kolostrum alması, ılık ve kuru ortam şartlarında bakılması önerilmektedir (Gong ve diğerleri, 2017; Harp ve Goff, 1998; Innes ve diğerleri, 2020; Radostits ve diğerleri, 2007). Yeni doğan buzağuların en az 2 haftalık yaşa kadar farklı yaş gruplarındaki buzağılardan ve yetişkinlerden ayrı yerlerde ve kontamine olmayan temiz hijyenik bireysel bokslarda bakılması gerektiği vurgulanmıştır (De Waele ve diğerleri, 2010; Gong ve diğerleri, 2017; Radostits ve diğerleri, 2007).

Hastalık görüldüğünde ise ishallerli buzağular diğerlerinden derhal ayrılarak, ishal bulguları tamamen geçtikten birkaç gün sonrasına kadar ayrı yerde barındırılmalıdır. Hasta buzağılara her zaman aynı kişi tarafından bakılması sağlanarak, sağlıklı hayvanlara enfeksiyon taşınmasının azaltılması üzerinde durulmuştur (Harp ve Goff, 1998; Radostits ve diğerleri, 2007). Özellikle buzağı bakıcılarının, hastalarla ilgilenirken dikkatli olmaları, farklı çizme ve kıyafetler kullanmaları önerilmiştir (Harp ve Goff, 1998).

Cryptosporidiosisin, cansız materyal ve mekanik vektörlerle de taşınabildiğinden fare, sıçan ve sinek mücadelesi yapılması, işletmedeki pet hayvanlarının da buzağuların arasına girmelerinin, yem ve mamalara temas etmelerinin engellenmesi belirtilmiştir (Radostits ve diğerleri, 2007). Meraya dayalı yetiştirme yapılan işletmelerde, cryptosporidium varlığının yoğun olduğu yerlerde sığırların otlatılmaması gerektiği vurgulanmıştır (Gong ve diğerleri, 2017).

### **2.3.10.2. Dezenfeksiyon Uygulamaları**

Dezenfeksiyon amacıyla hidrojen peroksit veya klorin dioksit başta olmak üzere çeşitli dezenfektanlardan yararlanılabilmektedir (Batmaz, 2016; de Graaf ve diğerleri, 1999; Thomson ve diğerleri, 2017, Zintl ve diğerleri, 2010). Hatta sıcak su ve buharla temizlik yapılmasının ve sonrasında kurutma işlemi yapılmasının da ookist yükünü azaltmada faydalı olabileceği ifade edilmektedir (Harp ve Goff, 1998; Thomson ve diğerleri, 2017). Bazı kaynaklarda, kontamine çevrenin temizlenmesinde yüksek basınçlı suyla temizleme önerilmesine rağmen (Gong ve diğerleri, 2017), bazı

kaynaklarda ise yüksek basınçlı suyla temizleme işleminin damlacık ve aerosol saçılımını artırdığı gerekçesiyle ishali buzağuların boklarının temizlenmesinde önerilmemektedir (House ve diğerleri, 2015). Dezenfeksiyon uygulamaları öncesinde, organik birikimlerin mekanik uzaklaştırılması dezenfektan maddelerin etkinliğini artırmada fayda sağlayabileceği düşünülmektedir (Batmaz, 2015b; Gosling, 2018; Kahrs, 1995).

Zintl ve diğerleri (2010), tarafından kirecin ookist canlılığını azalttığı belirlenmiştir. Bu doğrultuda Björkman ve diğerleri (2018), buzağuları iki gruba ayırarak, bir grupta kireç ile dezenfeksiyon uygulamış, diğer grubu ise kontrol grubu olarak bırakmışlardır. Sonuçta her iki gruptaki buzağularda ishal insidansı ve süresinin etkilenmediği; ancak kireç (hydrated lime) ile dezenfekte edilen kulübelerdeki buzağularda ishalin daha geç başladığı (ortalama 9,0 gün vs 7,6 gün) ve hayvanların 6-8 haftalık yaştaki vücut kondüsyon skorlarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer yöntemlerle birlikte kullanılmasıyla daha etkili koruma sağlayabileceği öne sürülmektedir. Benzer şekilde Matsuura ve diğerleri, (2017), cryptosporidiosisin endemik olduğu işletmede, buzağı kafeslerinde dışkıyı uzaklaştırmış ve biraz kurumasını sağlayıp kaynar su ile yıkamış, sonrasında kireç uygulayarak *Cryptosporidium* ookist ve *Giardia intestinalis* kistlerinin çevrede varlığının önlediği ve buzağı ölümlerini önlediğini tespit etmişlerdir.

### **2.3.10.3. Profilaktik İlaç Uygulamaları**

Cryptosporidiosisin tedavisinde kullanılan ilaçların bir kısmı korumada da kullanılabilir. Bu anlamda, paramomisin (Fayer ve Ellis, 1993; Grinberg ve diğerleri, 2002; Naciri ve diğerleri, 1993) ve özellikle halofugion'un (De Waele ve diğerleri, 2010; Jarvie ve diğerleri, 2005; Keidel ve Daughschies, 2013; Klein, 2008; Lefay ve diğerleri, 2001) profilakside kullanılabilirliği üzerine çokça literatür bulunmaktadır. Ayrıca  $\beta$ -cyclodextrin (Castro-Hermida ve diğerleri, 2001) ve lasalosid sodyum'un (Murakoshi ve diğerleri, 2014) da buzağularda profilaktik kullanılabilirliği bildirilmiştir.

Koruyucu amaçla buzağılara birinci gün ilk kolostrumu aldıktan sonra paramomisin 100 mg/kg dozunda günde bir defa oral yolla 5-11 gün boyunca kullanılabileceği bildirilmektedir (Fayer ve Ellis, 1993; Grinberg ve diğerleri, 2002). Aynı amaçla ilk gün başlamak üzere halofuginon (De Waele ve diğerleri, 2010; Joachim ve diğerleri, 2003; Lefay ve diğerleri, 2001; Villacorta ve diğerleri, 1991) 100 µg/kg dozunda günde bir defa oral yolla 7 gün kullanılabileceği belirtilmektedir (Batmaz, 2016; Thomson ve diğerleri, 2017). Murakoshi ve diğerleri, (2014) ise lasalosid sodyumun profilaktik amaçla doğumdan itibaren 7 günlük yaşa kadar günde bir defa oral yolla 3 mg/kg dozunda kullanılmasının yan etki oluşturmaksızın uygulama süresince ishal vakalarını önlediğini bildirmişlerdir.

Halofuginon buzağılarda profilaktik olarak kullanılabileceği bildiren çok sayıda veri bulunmaktadır (De Waele ve diğerleri, 2010; Jarvie ve diğerleri, 2005; Keidel ve Daugschies, 2013; Klein, 2008; Lefay ve diğerleri, 2001). Naciri ve diğerleri (1993), 30-60-120 µg/kg dozlarında kullandıkları halofuginonun etkisinin doza bağlı olduğunu ve 60 µg/kg dozunda ve üzerinde etkili bulunduğunu ifade etmişlerdir. Villacorta ve diğerleri (1991) ise yaptıkları araştırmada halofuginonun doz aralığının geniş olduğunu, ancak 500 µg/kg dozunda verildiğinde toksik etkileri görülebileceğini belirtmişlerdir. Yapılan araştırmalarda halofuginonun yararlı etkileri olmasına rağmen, hastalığı tamamen önleyici veya tedavi edici olmadığı, bu nedenle de hastalığı önlemede sanitasyonun en önemli nlem olduğu bildirilmiştir (De Waele ve diğerleri, 2010; Joachim ve diğerleri, 2003; Silverlas, Björkman ve Egenvall, 2009b).

De Waele ve diğerleri (2010), yaptıkları çalışmada halofuginon laktatın cryptosporidiosisin klinik bulgularını ve çevresel kontaminasyonu azalttığını bildirmiş; ancak yüksek kontamine ortamda ve topluca bakılan buzağılarda ishalin başlama zamanını ertelediği ve hastalığın buzağılar arasında yayılmasını azaltmadığını saptamışlardır. Halofuginon laktatın, bireysel bokslarda bakılan buzağılarda hijyenik lemlerle birlikte uygulandığında ise 7-13 günlük buzağılarda hastalık riskini azalttığını belirtmişlerdir. Yine benzer şekilde Meganck ve diğerleri (2015), kolostrum yönetiminin iyi yapıldığı, annelerin aşılandığı ve metaflaktik halofuginon kullanılan sürülerde genel olarak neonatal ishal insidansının azaldığını ifade etmişlerdir. Profilaktik halofuginon kullanımını sonrası birçok buzağıda, genellikle

3 haftalık yaşta daha sınırlı klinik bulgulara yol açan ve daha düşük ookist saçılımları ile sonuçlanan Rebound fenomeni/ geri tepme (ookist saçılım artışı) olayı meydana gelmektedir (De Waele ve diğerleri, 2010; Naciri ve diğerleri, 1993). Benzer durum paramomisin kullanımında da ilaç kullanımı bittikten sonra şekillenebilmektedir (Grinberg ve diğerleri, 2002) Bu durumda daha küçük yaştaki buzağular dehidrasyon, asit-baz dengesizliklerine ve cryptosporidiosis daha hassas olduklarından, profilaktik ilaç uygulamaları ile hastalığın başlama zamanının ötelenmesi hayatta kalma anlamında önem taşımaktadır (De Waele ve diğerleri, 2010; Keidel ve Dausgies, 2013).

De Waele ve diğerleri, (2010), bireysel bokslarda tutulan buzağular ve grup içinde barındırılan buzağularda yaptıkları çalışmada, her iki grupta da halofuginon kullanımına rağmen, bireysel bokslarda bakılanlarda cryptosporidium ile enfekte hayvan sayısı ve buzağuların saçtığı ookist miktarının çok önemli oranda düşük olduğunu saptamışlar ve korumada buzağuların bireysel bokslarda bakılmasının daha iyi olduğunu öne sürmüşlerdir.

Buzağularda hastalığın profilaksisi amacıyla decoquinate (Lallemand, Villeneuve, Belda ve Dubreuil, 2006; Moore ve diğerleri, 2003), profilaksi ve tedavi amacıyla sulfadimidin (Fischer, 1983) ve metaflaktik amaçla sulfadimetoxin (Fayer, 1992) kullanıldığı/denendiği, ancak önemli etki sağlamadığı bildirilmiştir.

#### **2.3.10.4. Aşı Çalışmaları**

Geçmişten günümüze kadar insanlara ve hayvanlara cryptosporidiosis karşı aşı araştırmaları yapılmış (Jenkins, 2001), ancak şu ana kadar insan ve hayvan türlerinde cryptosporidiosis önleyebilecek ticari bir aşı bulunmamaktadır (Innes ve diğerleri, 2020; Thomson ve diğerleri, 2017).

Buzağularda cryptosporidiosis karşı deneysel bazı aşı çalışmaları yapılmıştır (Harp ve Goff, 1998; Jenkins, Higgins, Kniel, Trout ve Fayer, 2004). Bu anlamda, doğdukları gün cryptosporidiosis'e karşı oral yolla aşılana ve 1 haftalık yaşta  $10^4$  adet ookist ile enfeksiyon oluşturulan buzağularda yapılan deneysel araştırmada, aşılanaalarda aşılanaayanlara göre ishal süresi ve ookist saçılım süresinin azaldığı

saptanmıştır (Harp ve Goff, 1995). Harp ve diğerleri (1998), cryptosporidiosisin endemik olduğu bir sürüde yaptıkları çalışmada ise, aşının ishal insidansı ve ookist saçılımı üzerine etkisi olmadığını ortaya koymuşlardır. Jenkins ve diğerleri, (2004), gamma radyasyonla muamele edilmiş *C. parvum* ookistleri ile hazırladıkları aşı ile immunize ettikleri buzağılarda ookist saçılımının ve klinik bulguların azaldığı, ancak tekrar enfeksiyona duyarlılıklarının devam ettiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalardan bazılarında kısmen olumlu yanıtlar alınmış olsa bile, henüz hiç birinde istenilen immunité ve klinik etkinlik sağlanamamıştır. Bu durum, buzağılarda cryptosporidiosis'in yaşamın ilk haftalarında görüldüğü için yapılan aşının, immun yanıt oluşturup buzağıyı korumak için yeterli zamana sahip olmamasından kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Thomson ve diğerleri, 2017). Bu nedenle, buzağuların aşı ile immunitésinin sağlanması değil de, cryptosporidiosis'e karşı immunize edilmiş kolostrumların tüketilmesi ile buzağuların korunması daha rasyonel bir yaklaşım olarak ileri sürülmektedir (Innes ve diğerleri, 2020).

### **2.3.11. Tedavi ve Korumada Yeni Arayışlar/Yöntemler**

Yeni tedavi arayışları anlamında Karaoğlan (2017), *C. parvum* ile Caco-2 hücrelerinde oluşturulan in vitro enfeksiyonda klinoptilolit içeren polimer nanopartiküllerin anti-cryptosporidial aktiviteye sahip olduklarını belirlemişlerdir. Ayrıca, bor bileşeni olan benzoxaborole'nün de farklı hayvan modellerinde cryptosporidiosis tedavisinde kullanılabileceği öne sürülmektedir (Lunde ve diğerleri, 2019). Yine buzağılarda cryptosporidiosisin metaflaksisinde Calcium-dependent protein kinases (CDPKs) (kalsiyum bağımlı protein kinaz inhibitörleri) kullanılmasının ookist saçılımını azalttığı belirtilmektedir (Lendner ve diğerleri, 2015; Schaefer ve diğerleri, 2016; Thomson ve diğerleri, 2017)

Günümüzde 'tamamlayıcı ve alternatif tıp' anlamında fitoterapi alanı beşeri ve veteriner hekimlikte giderek ilgi çekici olmaktadır. Bu bağlamda, Al-Mathal ve Alsalem (2012), nar kabuğu ekstresini (*Punica granatum*) deneysel olarak enfekte edilen farelerde tedavi amacıyla 3 gün boyunca oral yolla kullandıkları çalışmada, ookist saçılımının azaldığı, vücut ağırlığının arttığı, histopatolojik incelemede ise bağırsaklarda cryptosporidium trophozoit sayısının ve lenfatik infiltrasyonun

azaldığını saptamışlardır. Böylece nar kabuğu ekstresinin, cryptosporidiosis tedavisinde yan etki oluşturmaksızın kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir. Weyl-Feinstein ve diğerleri (2014) ise cryptosporidiosisli buzağılarda yaptıkları çalışmada nar kabuğu eksterisi kullanımının ishal süresini azalttığı ve günlük ağırlık artışına olumlu etki yaptığını saptamışlardır. Bunlardan başka, doğal organik asitler ve tıbbi kömür içeren nekka-rich (Batmaz, 2016; Watarai, Tana ve Koiwa, 2008) gibi ürünlerin de hem hastalığın tedavisinde hem de profilaksisinde kullanılabilceği belirtilmiştir.

#### **2.4. İnsanlarda Cryptosporidiosis**

İnsanlarda dengesiz beslenme, yaşlı nüfusun ve yaş ortalamasının artması ve çeşitli nedenlerle immunsupresif ilaç kullanımları veya immunsupresif hastalıklar nedeniyle paraziter hastalıklara olan duyarlılık artmaktadır. Dünya genelinde gittikçe yaygınlaşan paraziter hastalıklardan biri de cryptosporidiosis (Farthing, 2000; Innes ve diğerleri, 2020; Yılmaz ve diğerleri, 2018). Cryptosporidiosis hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde hastalık oluşturmakla birlikte (Farthing, 2000; Savioli ve diğerleri, 2006), özellikle gelişmekte olan ülkelerde, çevrenin ve su kaynaklarının *Cryptosporidium spp.* oookistleri ile kontaminasyonunu azaltmak için önlemlerin yetersiz olması ve enfeksiyonun kontrolü için etkili yöntemlerin eksikliği nedeniyle cryptosporidiosis ciddi problem haline gelmektedir (Farthing, 2000; Gong ve diğerleri, 2017).

Cryptosporidiosisin yeni doğan insanlarda rotaviral enteritlerden sonra en önemli ishal ve ölüm nedeni olduğu belirtilmiştir (Kotloff ve diğerleri, 2013; Thomson ve diğerleri, 2017). Yapılan bir çalışmada, dünyada 2000 yılında ortalama 1,8 milyon, 2013 yılında ise yaklaşık 1,3 milyon insanda ishale bağlı ölüm görüldüğü bildirilmiştir. Beş yaşın altındaki çocuklarda, ishaller, alt solunum yolu enfeksiyonları, neonatal problemler ve sıtmanın en önemli ölüm nedenleri olduğu bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2016a). Cryptosporidiosisin, Afrika ve Asya'da 5 yaşın altındaki çocuklarda ishale yol açan başlıca 6 nedenden biri olduğu bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 2016b). Yine cryptosporidiosisin, 12-23 aylık çocuklarda ölüm riskini ciddi oranda artırdığı belirtilmiştir (Kotloff ve diğerleri, 2013).

Birçok cryptosporidium türünün tür spesifik olduğu bilinmesine rağmen, pek çoğu insanlarda da enfeksiyon oluşturabilmektedir. İnsanlarda enfeksiyon oluşturan en yaygın cryptosporidium türlerinin *C. hominis* ve *C. parvum* olduğu belirtilmekle birlikte, vakaların % 57,3 ünde *C. hominis*, %38,5 inde *C. parvum* ve %4,2'sinde ise diğer türlerin (*C. parvum* ve *C. hominis* miks enfeksiyonları, *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. ubiquitum* ve yeni genotiplerin) izole edildiği bildirilmiştir (Chalmers, Smith, Elwin, Clifton-Hadley ve Giles, 2011b). Bazı kaynaklarda *C. andersoni*'nin insanları enfekte etmediği bildirilmesine rağmen (O'Handley ve Olson, 2006; Olson ve diğerleri, 2004), daha güncel kaynaklara bakıldığında *C. andersoni*'nin insanlardan da izole edildiği görülmektedir (Fayer, 2010; Jiang ve diğerleri, 2014; Leoni, Amar, Nichols, Pedraza-Diaz ve McLauchlin, 2006).

İngiltere'de 2414 ishali vaka üzerinde yapılan araştırmada vakaların %56,1 *C. parvum*, %41,7 *C. hominis*, %0,9 *C. parvum* ve *C. hominis* ile miks enfeksiyon ve geri kalan yaklaşık %1,3 ünde ise *C. meleagridis*, *C. felis*, *C. andersoni*, *C. canis*, *C. suis* ve *C. cervine* izole edildiği bildirilmiştir (Leoni ve diğerleri, 2006). Aynı vakaların kaynaklarına baktıklarında ise, 589'unun içme suyu kaynaklı, 51'inin yüzme havuzu kaynaklı ve 51'inin ise aile içi salgın kaynaklı, kalan 1672'sinin ise sporadik vakalar olduğunu tespit etmişlerdir (Leoni ve diğerleri, 2006). Yine, McLauchlin ve diğerleri (2000), vakaların %37,8' inde genotip 1; %61,5 inde genotip 2; %0,4 ünde genotip 1 ve 2 ile miks enfeksiyon ve %0,3 ünde genotip 3 (*C. meleagridis*) saptandığı bildirilmiştir. Bu iki araştırmadan da anlaşıldığı üzere insanlarda cryptosporidiosis vakalarının yaklaşık %95'den fazlasının nedeninin *C. parvum* ve *C. hominis* olduğu görülmektedir.

Cryptosporidiosis, bilinen en önemli su kaynaklı hastalıklardan biridir ve tarih boyunca bu nedenle salgınlar görülmüştür (Foster ve Smith, 2009; Mac Kenzie ve diğerleri, 1995). Nitekim, dünyadaki en büyük su salgınlarından birisi 1993 yılında ABD'de Milwaukee eyaletinde, şehrin su arıtma sisteminin enfekte olması sonucu yaklaşık 403.000 insanda cryptosporidiosis kaynaklı ishal salgını görüldüğü bildirilmiştir (Mac Kenzie ve diğerleri, 1995) Yine, ABD'de 2009-2017 yılları arasında 7465 vaka ile sonuçlanan 444 cryptosporidiosis salgını görüldüğünü, salgınların %35,1'inin eğlence suları kaynaklı olduğu, %14,6'sının sığırlarla temas nedeniyle, %12,8'inin ise çocuk bakım yerlerinde enfekte bireylere temas sonucu

şekillendiği tespit edilerek suyun, hastalık bulaşmasında ne kadar büyük bir paya sahip olduğu gösterilmiştir (Gharpure ve diğerleri, 2019).

Cryptosporidium türlerinin insanlara bulaşması; enfekte bireylere direk temas, çiftlik hayvanlarına veya evcil/arkadaş hayvanlara temas (Delafosse ve diğerleri, 2015), eğlence sularının (su oyun parkları, yüzme havuzları vb.) kontaminasyonu (Wheeler ve diğerleri, 2007), yüzey suları ve içme sularının lağım sularıyla (Mclauchlin ve diğerleri, 2000; Smith ve diğerleri, 2006) veya evcil ve yabani hayvan dışkılarıyla kontaminasyonu, kontamine yiyecek ve içeceklerin (Gharpure ve diğerleri, 2019; Millard ve diğerleri, 1994) sindirim yoluyla alınması ve hatta solunum yoluyla şekillenebildiği bildirilmektedir (Fayer 2010; Leoni ve diğerleri, 2006; Mclauchlin ve diğerleri, 2000; Radostits ve diğerleri, 2007).

Cryptosporidiosis immunkompetan hastalarda kendi kendini sınırlayan bir enfeksiyon oluştururken, immün sistemi baskılanmış hastalarda hayati tehlike oluşturabildiği vurgulanmaktadır (Abubakar ve diğerleri, 2007; Mac Kenzie ve diğerleri, 1995; Tzipori ve diğerleri, 1994). Bu bağlamda, cryptosporidiosis özellikle HIV ile enfekte insanlarda yaygın görüldüğü (Abubakar ve diğerleri, 2007) ve AIDS'li hastaların %10-20'sinde persiste ishallere neden olabildiği belirtilmektedir (Hunt ve diğerleri, 2002).

Cryptosporidiosis ile enfekte immunsupresif insanlarda sulu ishal, kusma, mide bulantısı, iştahsızlık, abdominal kramplar, midede gaz birikmesi, baş ağrısı, ateş, üşüme, titreme, kas ve eklem ağrıları gibi bulgular görülebildiği bildirilmiştir (Farthing, 2000; House ve diğerleri, 2015; Mac Kenzie ve diğerleri, 1995; Ramirez, Ward ve Sreevatsan, 2004). İmmunokompetent bireylerde hastalığın ortalama 9-15 gün sürdüğü ve genellikle tam iyileşme ile sonuçlandığı, ancak bazı vakalarda ishali birkaç günde düzelebildiği veya 4-7 hafta gibi uzun sürebildiği bildirilmiştir (Farthing, 2000; Ramirez ve diğerleri, 2004). İmmunsupresif insanlarda ise zaman zaman nüksler olan ve 2 aydan uzun sürebilen kronik ishal ve zayıflamaya neden olabildiği bildirilmiştir (Farthing, 2000).



## **2.5. Kolostrum**

### **2.5.1. Kolostrum ve Önemi**

Kolostrum, memelilerde doğum sonrası ilk günlerde meme bezinde üretilen (Dzik ve diğerleri, 2017; Solomons, 2002) ve 90'dan fazla biyolojik olarak aktif bileşen içeren (Dzik ve diğerleri, 2017), buzağılar için de ilk besin maddesidir. Sadece ilk sağılan kolostrumun gerçek kolostrum olduğu, ilk sağımdan sonraki üç-beş sağımın geçiş sütü niteliğinde olduğu, daha sonrasında ise normal süte döndüğü belirtilmektedirler (Conneely ve diğerleri, 2014; Godden, 2008; Yang ve diğerleri, 2015).

İnek kolostrumu, içeriğinde bulunan immunoglobulinler, yağ, protein, vitamin, laktoz, mineraller, antimikrobiyal ve antienflamatuar ajanlar, büyüme faktörleri, sitokinler, enzimler, peptidler vb. ile buzağuların sağlığı ve yaşatılmasında esansiyel bir besin maddesidir (Dzik ve diğerleri, 2017; Godden, 2008; Hernandez-Castellano ve diğerleri, 2014; Thapa, 2005a; Thapa, 2005b). İnek kolostrumu IgG (IgG1, IgG2), IgM ve IgA gibi immunoglobulinlerden çok zengin olup, en bol bulunanı ve pasif transfer immunitesinde daha önemli olanı IgG1 olduğu belirtilmiştir (Larson, Heary ve Devery, 1980). Bu nedenle inek kolostrum kalitesini belirlemek için yapılan testlerde IgG miktarı dikkate alınır ve 50 g/L düzeyinde IgG içeren kolostrumların kaliteli olduğu kabul edilmektedir (Batmaz, 2016; Godden, 2008; Weaver ve diğerleri, 2000). Kolostrumda bol bulunan IgG1'in kaynağı maternal kan olup, doğumdan birkaç hafta önce serumdan meme dokusuna geçiş başlamakta ve doğuma 1-3 gün kala memede pik seviyelere ulaştığı bildirilmektedir (Weaver ve diğerleri, 2000). Kolostrumdaki immunoglobulin miktarının kandakinden 8-10 kat daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Brandon, Watson ve Lascelles, 1971; Şentürk, 2018).

### **2.5.2. Kolostrum Kalitesini Etkileyen Faktörler**

Kolostrum kalitesini etkileyen faktörler, ineğin yaşı, doğum sayısı, doğum mevsimi, ırkı, doğum sonrası ilk sağım kolostrum miktarı, gebelik süresince ineğin bakımı ve geçirdiği hastalıklar, aşı uygulamaları, kuru dönemin uzunluğu olarak sayılabilmektedir (Gulliksen, Lie, Sølverød, ve Østerås, 2008; Pritchett, Gay, Besser

ve Hancock, 1991; Topal, 2018; Weaver ve diğeri, 2000). Nitekim, Pritchett ve diğeri (1991), ineğin doğum sonrası ilk sağımda, 8,5 litre ve daha düşük miktarlarda kolostrum üreten ineklerin kolostrumunun daha kaliteli olduğunu belirtmişlerdir. Muller ve Ellinger (1981), farklı ırkların kolostrum kalitesini karşılaştırdıkları araştırmada, Ayrshire ve Jersey ırklarının kolostrumlarının en yüksek kaliteli olduğunu, Holstein ırkının ise en düşük kaliteli kolostruma sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Gulliksen ve diğeri (2008), kış aylarında doğuran ineklerin kolostrum kalitesinin daha düşük olduğunu, dört ve üzeri laktasyondakilerin kolostrum kalitesinin daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Yine aynı araştırmacılar, doğum sonrası kolostrumda somatik hücre sayısı fazla olan kolostrumların kalitesinin düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Kolostrum kalitesinin belirlenmesinde, buzağı kan serumundan pasif transfer durumunun değerlendirilmesinde de kullanılan ELISA veya RID ile IgG tayini altın standart olarak kullanılmaktadır. Ayrıca; Brix refraktometre, total protein değeri, hidrometre ve GGT gibi semikuantitatif testlerle de pratik ve hızlı olarak saha şartlarında kolostrum kalitesi belirlenebilmektedir (Bartier, Windeyer ve Doepel, 2015; Quigley, Lago, Chapman, Erickson ve Polo, 2013; Topal ve diğeri, 2018; Zanker, Hammon ve Blum, 2001).

### **2.5.3. Kolostrumun Kullanıldığı Çalışmalar**

Günümüzde kolostrum, antibiyotik direnci ve benzeri durumlar nedeniyle alternatif tedavi arayışları kapsamında eşsiz yapısı ve doğal bir ürün olması anlamında invitro çalışmalarda (Chae, Aitchison, Day ve Keenan, 2017) insanlarda ve hayvanlarda birçok araştırmaya konu olmaktadır (Dzik ve diğeri, 2017; Menchetti ve diğeri, 2016; Mero ve diğeri, 2002; Rathe, Müller, Sangild ve Husby, 2014). Nitekim, sığır kolostrumunun insanlarda alerji, kanser, enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde başarılı bir şekilde kullanıldığı bildirilmiştir (Dzik ve diğeri, 2017). Kolostrumun bağırsak permabilitesine etkisi üzerine yapılan araştırmalarda, kolostrumun bağırsak permabilitesini azaltarak, gastrointestinal hasarın azaltılmasında etkili olduğu gözlenmiştir (Eslamian, Ardehali, Baghestani ve Shariatpanahi, 2019; Playford ve diğeri, 2001).

#### 2.5.4. Kolostrum ve Cryptosporidiosis

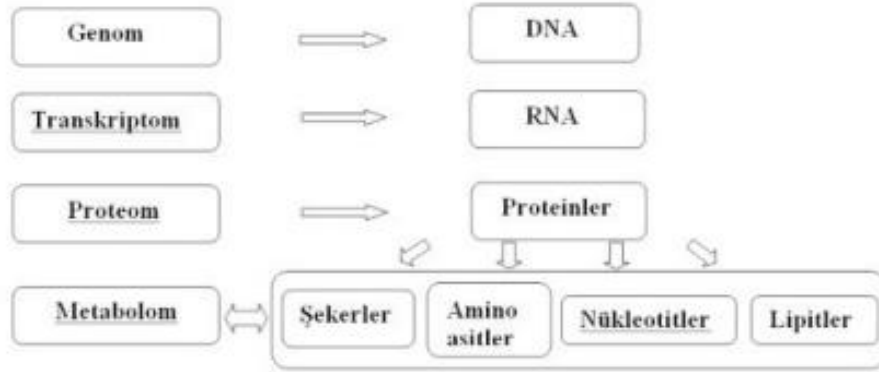
Kolostrum ve sütte bulunan nötralize edici antikörlerin, parazitlerin hareketini önleyerek, invazyonlarını bloke ederek, konakçı hücrelerine adezyonu inhibe ederek veya *Cryptosporidium* sporozoitlerine karşı direkt sitotoksik etki göstererek *Cryptosporidium*'un enfektivitesini azaltabileceği ifade edilmektedir (House ve diğerleri, 2015). Bu düşüncelerle kolostrumun buzağılarda (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; Fayer ve diğerleri 1989b; Perryman ve diğerleri, 1999), kuzularda (Naciri ve diğerleri, 1994), fare ve domuz yavrularında (Fayer ve diğerleri, 1989a; Tzipori ve diğerleri, 1994) cryptosporidiosisin metafilaksisinde kullanıldığı; Leopar gekolar'da ise (Leopard geckos) cryptosporidiosisin tedavisinde kullanıldığı (Graczyk ve diğerleri, 1999) bildirilmiştir. Yine insanlarda da immun yetmezlik problemleri enteritislerin ve cryptosporidiosisin tedavisinde inek kolostrumunun kullanıldığı ve olumlu sonuçlar verdiği çalışmalar bulunmaktadır (Menchetti ve diğerleri, 2016; Rathe ve diğerleri, 2014; Solomons, 2002; Steele ve diğerleri, 2013; Tzipori ve diğerleri, 1986).

Nitekim, Fayer ve diğerleri (1989b), doğum öncesi intramuskuler ve intramammar olarak *C. parvum* ookistleri ile immunize ettikleri ineklerin kolostrumunu, profilaktik amaçla buzağılara doğumla birlikte içirmişler, 5. günde ise buzağılara ookist vererek enfekte etmişler. Sonuçta immun kolostrum tüketen buzağılarda ishal ve ookist saçılım süresinin daha kısa, ookist miktarının daha az olduğunu tespit etmişlerdir. Yine benzer şekilde Perryman ve diğerleri (1999), doğum öncesi *C. parvum* rekombinant proteini ile 2 hafta arayla 3 kez subkutan yolla immunize ettikleri ineklerin kolostrumunu, deneysel olarak 12. saatte enfekte ettikleri buzağılarda profilaktik kullandıklarında, immun kolostrum tüketen buzağuların ishal olmadığı ve anlamlı derecede daha az ookist saçtıklarını tespit etmişlerdir. Ancak Harp, Woodmansee, Moon, (1989) ise profilaktik kolostrum uygulamasının ishal süresi ve ookist saçılımında olumlu etki yapmadığını belirtmişlerdir.

## 2.6. Omik Analizler

Gelişen teknolojiyle birlikte son zamanlarda bilimsel araştırmalarda, bir biyolojik sistemde yer alan tek bir noktayı inceleme yaklaşımı yerine sistemin bütününe inceleme öne çıkmıştır. Böylece bilimsel çalışmalarda toplu, sistematik incelemelerin yapıldığı omik teknolojilerin kullanıldığı yeni bir çağ başlamıştır (Kuşkucu, 2013; Öztürkoğlu-Budak ve Dönmez, 2012). Özellikle insan genom projeleriyle birlikte, omik teknolojileri hızla yaygınlaşmaya başlamıştır (Öztürkoğlu-Budak ve Dönmez, 2012).

Omik teknolojiler, onkoloji, farmakoloji, toksikoloji, immünoloji, biyokimya, mikrobiyoloji dallarında beşeri hekimlik başta olmak üzere tıp alanında ve biyoloji, ziraat, çevre, enerji, biyoarkeoloji, biyoteknoloji, mühendislik, gıda, beslenme, evrim ve tarih gibi tıp dışı bir çok alanda moleküler araştırmalarda kullanılmaktadır (Bal ve Budak, 2013; Debnath, Prasad ve Bisen, 2010; Kuşkucu, 2013; Öztürkoğlu-Budak ve Dönmez, 2012).



**Şekil 1:** Omik teknolojiler ve inceledikleri bileşenler (Öztürkoğlu-Budak ve Dönmez, 2012).

Sistem, biyolojide en temel omik teknoloji genomik (gen analizi) olup, sırasıyla transkriptomik (mRNA analizi: gen ekspresyon profilini yansıtmaya), proteomik (protein analizi), metabolomik (metabolitlerin analizi) şeklinde diyagram ilerlemektedir (Şekil 1) (Öztürkoğlu-Budak ve Dönmez, 2012). Genomik, proteomik, metabolomik, transkriptomik, lipidomik, connectomik, immunomik, glikomik, mikrobiomik, toksikogenomik gibi birçok alan omik teknolojilere örnek olarak

sayılabilmektedir (Bardanzellu, Fanos ve Reali, 2017; Debnath ve diğeri, 2010, Horgan ve Kenny, 2011; Öztürkoğlu-Budak ve Dönmez, 2012). Omik teknolojilerin sonunda bulunan “-omik” eki, Yunanca “-ome” ekinden türetilmiş olup, “pek çok” anlamına geldiği ve eklendiği kelimeye “tümlük, bütünlük” anlamı katarak kapsamını genişlettiği belirtilmiştir (Bal ve Budak, 2013; Horgan ve Kenny, 2011; Öztürkoğlu-Budak ve Dönmez, 2012). Bu anlamda, örneğin; “proteom” kelimesi kısaca belli bir yer ve zamandaki tüm proteinleri ifade etmektedir (Bal ve Budak, 2013). Proteinler ile ilgili bilgiyi topluca elde etmeyi amaçlayan disipline ise proteomik denilmektedir (Bal ve Budak, 2013). Yani, omik teknolojiler ile bir veya birkaç ölçüm değil, incelenen matriksin tümünde pek çok ölçüm gerçekleştirilmektedir (Öztürkoğlu-Budak ve Dönmez, 2012). Böylece omik teknolojiler aynı anda birden fazla molekülü araştırdıkları için biyobelirteç keşfine katkıda buldukları belirtilmiştir (Horgan ve Kenny, 2011).

Omik teknolojiler yüksek verimli teknolojiler olup, bu teknolojilerle bir numunedeki protein/gen sayısı ve miktarı tespit edilerek kompleks karışımları, gen/protein ekspresyon profilleri formundaki karmaşık etkilerle ilişkilendirme potansiyeline sahiptirler. Bu teknolojiler sayesinde biyolojik numunede bulunan tüm gen ürünlerinin (transkriptler, proteinler ve metabolitler gibi) hedeflenmemiş (spesifik bir hedef olmaksızın) ve tarafsız (non-biased) olarak aynı anda tanımlanmasına imkan sağlanmaktadır (Debnath ve diğeri, 2010; Horgan ve Kenny, 2011).

Yüzlerce veya binlerce makro ve mikro molekülün eşzamanlı izlenmesine izin veren omik teknolojileri, sadece hücre büyümesi, hücre ölümü, hücre metabolizma gibi fizyolojik hücrel proseslerin anlaşılmasıyla ilgili olmayıp, ayrıca biyomarkerların keşfi (kanserin erken tespiti ile ilişkili sinyal moleküllerinin tanımlanması gibi) dolayısıyla hastalıkların tarama, erken teşhisi, prognoz belirlenmesi, tedavisinin daha doğru yapılması ve tedavinin izlenmesine (moniterizasyon) olanak sağlamıştır (Debnath ve diğeri, 2010; Horgan ve Kenny, 2011).

## 2.6.1. Proteomik Analizler

### 2.6.1.1. Nedir, Neden Yapılır?

Proteinler önemli sinyal ve biyokimyasal yolların ana bileşenleri olduğundan protein düzeylerindeki çalışmalar, büyüme, gelişme ve çevre ile etkileşimin altında yatan moleküler mekanizmaları ortaya çıkarmak için önem arz etmektedir (Debnath ve diğerleri, 2010). “Proteom” belli bir zaman ve mekânda bir organizmanın sahip olduğu ve ifade ettiği tüm farklı proteinlerin bir toplamı olarak ifade edilmektedir. “Proteomik” ise belirli bir zamanda ve belirli bir yerde bulunan tüm proteinlerin yapılarını, yerleşimlerini, miktarlarını, translasyon sonrası modifikasyonlarını (post translasyonel modifikasyonlar), doku ve hücrelerdeki işlevlerini, diğer proteinlerle ve makro moleküllerle olan etkileşimlerinin (protein network) incelenerek, proteinlerin rollerinin tam olarak anlaşılmasını sağlayan disiplin olarak tanımlanabilmektedir (Bal ve Budak, 2013; Başaran ve diğerleri, 2010; Ceciliani ve diğerleri, 2014). Bu tanımlamada geçen “zaman” kelimesi “bir hastalık sırasında, sağlık durumu, farklı gelişim evreleri, yaşlı, genç, çevresel faktörler vb.” durumu ifade ederken, “mekan” kelimesi ise “farklı hücre tipleri, hücre bölümlerini vb.” ifade ettiği belirtilmiştir (Bal ve Budak, 2013). Yani proteomik, birçok duruma göre farklılık gösterebilen dinamik bir yapı olarak tanımlanmıştır (Bal ve Budak, 2013; Başaran ve diğerleri, 2010; Horgan ve Kenny, 2011).

Proteomik çalışmaların temelleri 1970’li yıllara dayanmaktadır (OFarrel, 1975). Proteom kelimesi ilk kez 1994 yılında kullanılmış ve kabul görmüştür (Başaran ve diğerleri, 2010). Proteomik, aslında yeni bir alan olup genel olarak 2000’li yıllardan itibaren bu alandaki çalışmalar artmış (Ceciliani ve diğerleri, 2014), özellikle son beş yılda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Ülkemiz kaynaklı ilk proteomik araştırma ise 2007 yılında yapılmıştır (Başaran ve diğerleri, 2010; Ozcan ve diğerleri, 2007).

Proteomik analizlerle bir örnekte bulunan, gen ürünü olan binlerce farklı proteinin eş zamanlı olarak analizine olanak sağlanmaktadır (Debnath ve diğerleri, 2010; Yılmaz ve diğerleri, 2016). Dolayısıyla proteomik analizler bilinen geleneksel biyokimyasal testlere göre, tek bir analizle yüzlerce veri sağlaması anlamında fark yaratmaktadır (Bal ve Budak, 2013; Debnath ve diğerleri, 2010). Böylece proteomik analizler, hastalıkların teşhisi, patofizyolojisinin belirlenmesi, prognozunun

belirlenmesi ve hastalık sürecinin moniterizasyonunda kullanılabilecek olan yeni biyomarkerların belirlenmesine katkı sağlamaktadırlar (Ceciliani ve diğerleri, 2014; Horgan ve Kenny, 2011; Yılmaz ve diğerleri, 2016). Ayrıca, proteomik çalışmalarla, hormon üretimleri, sitokin üretimleri ve immun sistem yanıtları izlenebilmektedir (Debnath ve diğerleri, 2010).

Proteomik analizler birçok numuneden çalışılabilmektedir. Proteomik analizler en yaygın olarak kan serumundan (Santana ve diğerleri, 2018; Yılmaz ve diğerleri, 2016) çalışılmakla birlikte, süt (Boehmer, Bannerman, Shefcheck ve Ward, 2008; Kim, Atalla, Mallard, Robert ve Karrow, 2011; Mansor ve diğerleri, 2013; Mather, 2000), kolostrum (Hernandez-Castellano ve diğerleri, 2014; Nissen, Bendixen, Ingvarsten ve Røntved, 2012; Yang ve diğerleri, 2017), gözyaşı (de Freitas Campos ve diğerleri, 2008), serobrospinal sıvı (Nakamura, Miyasho, Nomura, Yokota ve Nakade, 2012), idrar (Lemberger ve diğerleri, 2011), synovial sıvı (Chiaradia ve diğerleri, 2012), bronkoalveolar sıvı (Boehmer ve diğerleri, 2011), salya (Lamy ve Mau, 2012), vitreus (Hauck ve diğerleri, 2012), lenf yumruları (Martins ve diğerleri, 2012) ve daha bir çok örnek türü proteomik analizlere konu olabilmektedir.

Proteomik çalışmalar başlıca geleneksel yöntemler olan; iki yönlü jel elektroforezi gibi elektroforetik yöntemler, iki yönlü sıvı kromatografi gibi kromatografik yöntemler ve Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight (MALDI-TOF) gibi kütle spektrometrik yöntemlerle veya yüksek verimli teknoloji olan Mikroarray yöntemi ile gerçekleştirilebilmektedir (Bal ve Budak, 2013). Proteomik ve metabolomik araştırmalarda, analitlerin araştırılması ve tanımlanmasında en yaygın yöntemin kütle spektrometrisi olduğu ifade edilmiştir (Horgan ve Kenny, 2011).

Proteom, genoma göre daha kompleks yapıda olup (Ceciliani ve diğerleri, 2014), hücre tipine ve hücrelerin fizyolojik durumuna göre önemli oranda değişiklik gösterebildiğinden proteomik çalışmaların gerçekleştirilmesinin daha zor olduğu ifade edilmektedir (Öztürkoğlu-Budak ve Dönmez, 2012). Proteomik analizler maliyetli ve zaman alıcı olmaları, ayrıca incelenen örneklerdeki protein profilinin, depolanma ve analiz koşullarına göre değişim gösterebilmesi nedeniyle proteomik çalışmaların yapılmasında zorluklar yaşanabilmektedir. Örneğin, proteomik analizlerde düşük

moleküllü proteinlerin analizi için, büyük moleküllü proteinlerin (albümin ve immunoglobulinler gibi) çeşitli immundepleksyon yöntemleriyle uzaklaştırılması sırasında, bunlara bağlı olan bazı düşük moleküllü proteinlerin kaybı nedeniyle hatalı değerlendirmelere yol açabilmektedir (Ceciliani ve diğerleri, 2014).

### **2.6.1.2. Kullanıldığı Yerler ve Önceki Çalışmalar**

İnsanlarda yapılan proteomik analizlerde, pek çok hastalığın (özellikle kanser türlerinin) erken teşhisinin mümkün olduğu ortaya konulmuştur (Ceciliani ve diğerleri, 2014). Bu anlamda insanlarda yapılan araştırmalardan, Rogers ve diğerleri (2003) renal kanserlerde, Li, Zhang, Rosenzweig, Wang ve Chan (2002), meme kanserinde, Petricoin ve diğerleri (2002), ovaryal kanserlerde ve Wright ve diğerleri (1999) ise prostat kanserinin erken teşhisinde kullanılabilir biyomarker molekülleri belirlemişlerdir.

Veteriner hekimlikteki proteomik çalışmalar nitelik ve nicelik olarak beşeri hekimliğin gerisinde kalsa da, proteomik analizler veteriner hekimlikte de hastalıkların patogenezinin detaylandırılması, teşhisinin yapılması, antijen ilişkili immün yanıtın tanımlanmasında (immunoproteomik) ve histoproteomik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır (Ceciliani ve diğerleri, 2014). Bu anlamda, endotoksemili buzağılarda (Yılmaz ve diğerleri, 2016), salmonellosisli buzağılarda ve mastitisli bufalolarda (Santana ve diğerleri, 2018) yapılan proteomik çalışmalar ilgili hastalıkların patogenezinin detay kazandırmıştır.

Yine proteomik verilerin, hastalık teşhis biyomarkerları olmasıyla ilgili olarak hayvanlarda da pek çok çalışma yapılmıştır. Nitekim; Mansor ve diğerleri (2013), yaptıkları araştırmada mastitis teşhisinde biyomarker olarak kullanılabilir proteinleri saptamışlardır. De Freitas Campos ve diğerleri (2008), sağlıklı ve kanserli köpeklerin gözyaşı proteomiklerini karşılaştırarak kanser teşhisinde kullanılabilir biyomarkerları tespit etmişlerdir. Yine sığırlarda, mastitis (Kim ve diğerleri, 2011; Mansor ve diğerleri, 2013), oksidatif stresle ilgili (Marco-Ramell ve diğerleri, 2012), *Mannheimia haemolytica* kaynaklı pnemonilerde, fasciolosis (Haçarız ve diğerleri, 2014) başta olmak üzere proteomik analizler yapılmıştır. Ayrıca domuzlarda (Martins



ve diğeri, 2012), koyunlarda (Zhong, Taylor, Begg ve Whittington, 2011), atlarda (Hauck ve diğeri, 2012), köpeklerde (de Freitas Campos ve diğeri, 2008), kedilerde (Lemberger ve diğeri, 2011) başta olmak üzere farklı hayvan türlerinde proteomik analizler yapılmıştır. Küçük ruminantlardaki proteomik çalışmalar çoğunlukla koyunlarda gözlenen paraziter enfestasyonlar üzerine yoğunlaşmıştır (Ceciliani ve diğeri, 2014).

### **2.6.1.3. Kolostrumda Proteomik Analizler**

Önceki bölümlerde detaylı bahsedildiği üzere, kolostrum içeriğinde bulunan, yağ, protein, laktoz, mineraller, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar ajanlar, büyüme faktörleri, sitokinler, enzimler, peptidler vb. ile buzağların sağlığı ve yaşatılmasında esansiyel bir besin maddesidir (Hernandez-Castellano ve diğeri, 2014, Dzik ve diğeri, 2017). Kolostrum içerisindeki bu maddelerden protein tabiatında olan başlıca IgG, IgM ve IgA olmak üzere immunglobulinler buzağlarda yeterli pasif transfer immunitésinin sağlanmasında en önemli unsurlardır. Kolostrum içinde, protein yapısındaki maddelerin çeşitli prosedürler ile elde edilebilen üç fraksiyon halinde bulunduğu belirtilmiştir. Bunlar süt yağ globül membranı, kazeinler ve serum proteinleridir (Akın, Planchon, Renaut, Sezerman ve Ozpınar, 2014; Hernandez-Castellano ve diğeri, 2014). Normal kolostrum, prosedürlere göre santrifüj edilmesi sonrası yağ/krema (süt yağ globül membranı) ve yağsız kolostrum olarak iki kısma ayrılmaktadır (Yang ve diğeri, 2017). Yüksek moleküler ağırlıklı proteinler (HAP), süt yağ globül membranı ve serum proteinleri olarak ifade edilen kısımlarda bulunmaktadır (Hernandez-Castellano ve diğeri, 2014). HAP'ler kolostrumda bol miktarda bulunup pasif transferde önemlidirler. Süt yağ globül membranında bulunan başlıca HAP'ler mucin-1, xantine dehidrojenaz olup mikroorganizmalara karşı korunmada, immun sistemin uyarılmasında görev aldıkları belirtilmektedir. Serum proteinleri kısmında yer alan başlıca HAP'ler ise  $\beta$ -laktoglobulin,  $\alpha$ -laktalbumin, bovine serum albümin, immunglobulinler ve laktoferrin olarak sayılabilmektedir. Yağsız kolostrum kısmı ise, prosedürlere göre ultrasantrifugasyon ve asidifikasyona maruz kalması sonrası (çözünmeyen kısım) kazein ve (çözünen kısım) serum proteinleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Serum proteinleri içerisinde, HAP'lere göre

daha az miktarlarda bulunan düşük moleküler ağırlıklı proteinler (LAP) adı verilen proteinler bulunmaktadır. Çeşitli prosedürler ve testler ile kolostrum içindeki kazein ve başta immunglobulinler olmak üzere HAP'ler uzaklaştırıldıktan sonra LAP'ler elde edilebilmektedir. Kolostrum içinde bulunan başlıca LAP'ler, plazmin, serum amyloid A (SAA), fibrinojen,  $\alpha$ -1 antitrypsin, lipopolisakkarit binding protein (LBP), antimikrobiyal peptidler, defensinler ve katherisidinler, fibrinojen  $\beta$  chain, chitinase 3-like 1, complement c3  $\alpha$ - chain, gelsolin, apolipoprotein H olduğu bildirilmektedir (Hernandez-Castellano ve diğerleri, 2014, Yamada, Murakami, Wallingford ve Yuki, 2002). LAP'ların genel olarak immünolojik proseslerle ilgili oldukları belirtilmektedir (Hernandez-Castellano ve diğerleri, 2014). LAP'ların ortaya çıkartılmasının mikromolüküler hücresel, biyolojik ve metabolik proseslerin tanımlanması ve hastalık patofizyolojisinin anlaşılmasına olanak sağladığı bildirilmektedir (Yılmaz ve diğerleri, 2016).

Süt/ kolostrumda bulunan yağ, globuller halinde sekrete edilmektedir ve bu globullerin etrafında proteinlerden oluşan süt yağ globül membranı bulunmaktadır. Süt yağ globül membranı, taşıyıcı, emülgatör ve lipid stabilizatörü olarak görev yapmaktadır. Onlarca farklı isimlerde olabilen süt yağ globül membran proteinleri başlıca hücre ölümü, adhezyon, sinyal yolları, uyarıcılara yanıt, lokalizasyon, protein veya nükleotid bağlanması, enzim inhibisyonu, antijen sunumu, karboksilik asit veya amin bağlanma hareketi, hücre bağlanması, komplement ve pıhtılaşma mekanizmaları ve lökosit migrasyonunda görev aldıkları ifade edilmektedir (Bardanzellu ve diğerleri, 2017).

Memelilerin beslenmesinde eşsiz bir önemi olan kolostrumun yapısını ve özelliklerini anlayabilmek için, insan ve farklı hayvan türlerinde kolostrum protein ifade farklılıkları üzerine pek çok araştırma yapılmıştır (Akın ve diğerleri, 2014; Sun, Wang, Sun ve Guo, 2020; Yamada ve diğerleri, 2002). Hatta bazı araştırmalarda, türler arasında kolostrum ve süt proteom profilleri karşılaştırılarak, farklı türlerin kolostrum yapıları ve özellikleri araştırılmıştır (Akın ve diğerleri, 2014; Bardanzellu ve diğerleri, 2017; Yang ve diğerleri, 2013; Yang ve diğerleri, 2017). Nitekim, Yang ve diğerleri, (2017) insan ve ineklerin kolostrum ve süt serumunda yaptıkları araştırmada toplamda 584 adet protein belirlemişler, insan kolostrumunda insan sütü ile karşılaştırdıklarında

297; sığır kolostrumunda ise sığır sütüyle karşılaştırdıklarında 302 proteinin upregule olduğunu belirlemişlerdir.

Yine literatürde ineklerde (Reinhardt, Lippolis, Nonnecke ve Sacco, 2012; Yang ve diğerleri, 2017), insanlarda (Golinelli, Conte-Junior, Paschoalin ve Silva, 2011) ve keçilerde (Sun ve diğerleri, 2020) kolostrum ile sütün proteom yapılarının karşılaştırıldığı çalışmalar bulunmasına rağmen, yüksek kaliteli ve düşük kaliteli inek kolostrumlarının proteom profillerinin karşılaştırılması ile ilgili bir araştırma bulunmamaktadır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini, Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi 'nde bulunan, çiftliğin normal prosedürlerine göre bakım ve beslemeleri yapılan, doğal olarak cryptosporidiosis ile enfekte olmuş 13 adet erkek ve 17 adet dişi olmak üzere toplam 30 adet Holştayn ırkı buzağı oluşturmuştur. Çalışmada yer alan buzağuların tamamı üç haftalık yaştan küçük olup, buzağular bireysel kafeslerde bakılmış ve sabah-akşam 2,5 litre olmak üzere günde iki kez (sabah 07:00 ve akşam 18:00) süt ile beslenmişlerdir.

İşletmenin normal prosedürleri olarak, bütün gebe ineklere doğumlarına bir ay kala Rota-Corona-E. coli aşısı (Rotavec Corona-MSD®) yapılmış (düvelere ise çift doz), bütün buzağuların doğum sonrası 2 saat içerisinde en az 2,5 litre kolostrum alması, 24 saat içinde ise yaklaşık 6 litre kolostrum alması sağlanmıştır. Yine bütün buzağulara ilk 24 saat içinde *E. coli* hiperimmün serumu (VBR Colisera-Atafen®) uygulanmıştır. İşletmedeki buzağulara cryptosporidiosis başta olmak üzere profilaksi amacıyla herhangi bir ilaç uygulanmamıştır. Bu çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2019-10/03 numaralı onayı ile gerçekleştirilmiştir.

#### 3.2. Grupların Oluşturulması

Buzağılardan rektal tuşe veya spontan yolla alınan dışkı örneklerinin Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'nda incelenmesi sonucu, enfeksiyon düzeyinde *Cryptosporidium* ookisti pozitif olduğu belirlenen buzağular her birinde 10 buzağı olacak şekilde 3 gruba ayrılarak çalışmaya alınmıştır. *Cryptosporidiosis* ile enfekte olan buzağuların, çalışmaya dahil edilebilmesi için dışkı muayenesinde ookist sayısının 1 gr dışkıda en az  $1,2 \times 10^5$  *Cryptosporidium spp.*

ookisti bulunması temel alınmıştır (Medema, Ketelaars ve Hoogenboezem, 2001; Xiao ve Herd, 1994). Her bir gruba uygulananan tedavi yöntemleri aşağıda belirtilmiştir.

**Grup 1 :** Bu gruptaki buzağılara paramomisin (Gabbrocol-CEVA®) 100 mg/kg dozda günde 1 kez 5 gün süre ile oral yolla kullanılmasıyla beraber yine ağız yolu ile 3 gün boyunca sabah ve akşam sütleri içirildikten 3 saat sonra buzağı başına 6 g sodyum bikarbonat içirilmiş (Morris ve diğerleri, 2010; Şener, 1990) ve takiben 15 dakika sonra 250 ml (günlük 500 ml, 3 günde toplam 1500 ml) inek kolostrumu verilmiştir. Buzağılarda oral bikarbonat uygulaması, sütün sindirimine olumsuz etki yapmamak için (Smith, 2009) sütle besleme yapıldıktan yaklaşık 3 saat sonra yapılmıştır.

**Grup 2 :** Bu gruptaki buzağılara paramomisin 100 mg/kg dozda günde 1 kez 5 gün süre ile oral yolla kullanılmasıyla beraber yine ağız yolu ile 3 gün boyunca 12 saat ara ile günde 2 kez 250 ml (günlük 500 ml, 3 günde toplam 1500 ml) inek kolostrumu verilmiştir. Bu grupta da kolostrum Grup 1'deki gibi aynı zamanda vermek için sütle beslemeden 3 saat sonra içirilmiştir.

**Grup 3 (Kontrol Grubu):** Bu gruptaki buzağılara normalde kullanıldığı gibi paramomisin 100 mg/kg dozda günde 1 kez 5 gün süre ile oral yolla kullanılmıştır. Paramomisin bu ve diğer iki grupta sabah sütü içirildikten 3 saat sonra verilmiştir.

Paramomisin ve kolostrumun içirilmesinde her buzağıya ayrı, temiz biberon kullanılmıştır. Grup1 ve Grup 2'deki buzağılara kolostrumlar 45-50 °C derecelik suda benmari yöntemiyle çözdürüldükten sonra 40 °C'ye düşürülerek içirilmiştir (Yang ve diğerleri, 2015).

Bütün gruplarda ishali şiddetli olan veya emme refleksi zayıf olanlara ilk gün süt verilmemiş ve dekstroz, laktatlı ringer ve izotonik sodyum klorür (%0,9 NaCl) içeren parenteral sıvı-elektrolit uygulanmıştır. Diğer günlerde ise, ihtiyaç duyulan buzağılarda dehidrasyon derecesine göre parenteral sıvı-elektrolit uygulamasına devam edilmiştir.

### **3.3. Buzağuların Günlük Klinik Kontrolü**

Enfektif sayıda *Cryptosporidium spp.* ookisti içeren ishallerli buzağular, ishalin ilk gününden (0. gün) 10. güne kadar günlük klinik kontrole tabi tutulmuştur. Günlük klinik kontrol sırasında, emme refleksi, beden sıcaklıkları, kalp ve solunum frekansları, dışkı skorları günlük olarak takip edilmiştir. Buzağuların günlük klinik kontrolleri, ilaç uygulamaları ve numunelerin toplanması bir örneklilik sağlanması amacıyla hergün sabah 09.00-10.00 saatlerinde yapılmıştır.

Buzağuların emme refleksleri Skor 1: iyi; Skor 2: orta ve Skor 3: kötü-yok olmak üzere üçlü skorlama sisteminde değerlendirilmiştir (Topal, 2018). Beden sıcaklıkları, dışkı örnekleri alınmadan önce digital termometre ile rektumdan ölçülmüştür. Kalp ve solunum frekansları ise 1 dk süre tutularak rutin oskültasyon muayanesi ile belirlenmiştir.

Depresyon skorlaması, önceki literatürlerden modifiye edilerek dördüncü kategoride değerlendirilmiş olup, skor 1, skor 2, skor 3 ve skor 4 sırasıyla ayakta ve alert (normal), ayakta hafif depresif, yerde hafif depresif ve yerde ileri depresif olarak yorumlanmıştır (Charlton, 2009; Topal, 2018; Walker ve diğerleri, 1998).

### **3.4. Numunelerin Toplanması ve Değerlendirilmesi**

Buzağulardan belirlenen günlerde kan ve dışkı numuneleri toplanmıştır. Ayrıca Grup 1 ve Grup 2'deki buzağularda kullanılmak üzere, yeni doğum yapmış ineklerden ilk sağım kolostrum örnekleri toplanmıştır.

#### **3.4.1. Buzağulardan Kan Numunelerinin Toplanması**

Bütün buzağuların vena jugularislerinden 0, 1, 2, 3, 5 ve 7. günlerde 2 adet antikoagülantsız tüpe 5 ml kan alınmıştır. Daha sonra antikoagülantsız kanların 3000 devirde 5 dakika santrifüje edilmesiyle elde edilen serumlar 4 ayrı ependorf tüpüne konularak, laboratuvar analizleri yapılana kadar -20 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

Laboratuvar analizleri kapsamında, buzağılardan 0, 1, 2, 3, 5 ve 7. günlerde alınan serum örneklerinden Brix % ve total protein (TP) değeri ölçülürken, 0 ve 3. gün örneklerinde ayrıca immunoglobulin G (IgG) ve gamma glutamil transferaz (GGT) enzim düzeyleri de ölçülmüştür.

#### **3.4.1.1. Kan Serumlarında İmmunoglobulin G (IgG) Konsantrasyonunun Ölçülmesi**

IgG ölçümü, 0 ve 3. gün numunelerinde bovine IgG ELISA kiti (Biox, Belçika) kullanılarak ölçtürülmüştür.

#### **3.4.1.2. Kan Serumlarında Brix % Değerinin Ölçülmesi**

Brix % değeri, 0, 1, 2, 3, 5 ve 7.günlerde alınan kanlardan elde edilen serumlarda dijital Brix refraktometre cihazı (Milwaukee MA882, Macaristan) ile belirlenmiştir.

#### **3.4.1.3. Kan Serumlarında Total Protein (TP) Konsantrasyonunun Ölçülmesi**

TP değeri de , tüm örneklerde (0, 1, 2, 3, 5 ve 7.günlerde) Biotechnica Instruments BT 3500 marka biyokimya cihazında Randox TP kiti (Ref: TP3869 Lot:454982, Birleşik Krallık) ile ölçülmüştür.

#### **3.4.1.4. Kan Serumlarında Gamaglutamyl Transferase (GGT) Düzeyinin Ölçülmesi**

GGT aktivitesi, 0 ve 3. gün alınan kanlardan elde edilen serum numunelerinde Biotechnica Instruments BT 3500 marka biyokimya cihazında Randox GGT kiti (Ref: GGT3817 Lot:457580, Birleşik Krallık) ile belirlenmiştir.

### 3.4.2. Buzağılardan Dışkı Numunelerinin Toplanması

Günlük dışkı skorlarının ve dışkı yapılarının belirlenmesi amacıyla buzağılardan rektal tuşe veya spontan yolla anusten dışkı numuneleri alınmıştır. Dışkı toplama işlemi sırasında kontaminasyona yol açmamak için her bir buzağı için ayrı tek kullanımlık non-steril eldiven kullanılmıştır. Dışkı numuneleri, tedavi öncesinde, tedavi süresince 5 gün ve devamında takip eden 5 gün olmak üzere 10 gün boyunca toplanmıştır. Dışkı numunelerinin çevresel kontaminasyonunu önlemek amacıyla, daima taze dışkı alınmıştır. Alınan dışkı örneklerinden, Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalında *Cryptosporidium spp.* ookist sayımı ve sonrasında dışkı quick testleri yapılmıştır.

#### 3.4.2.1. Dışkı Skorlarının Belirlenmesi

Dışkı skorları klinik görünümleri dikkate alınarak, 5'li sisteme göre numaralandırılmıştır (Tablo 1). Skorlamalar sırasında dışkının kıvamı ve mukus içerip içermediği değerlendirilmiştir (Charlton, 2009).

**Tablo 1.** Buzağılarda 5'li dışkı skorlama tablosu

Skor	Açıklama
1	normal puding kıvamında
2	hafif gevşek yoğurt gibi – hafif mukuslu
3	sulu kokulu şurup gibi – orta şiddette mukuslu
4	meyve suyu gibi- belirgin mukuslu
5	sulu ishal

#### 3.4.2.2. Dışkı Numunelerinde *Cryptosporidium spp.* Ookist Muayenesi ve Sayımı

Cryptosporidiosis ile enfekte olan buzağuların belirlenmesi için dışkının karbol fuksin ile boyanması ile ookist varlığı belirlenmiştir. Dışkıda ookist incelemesi ve sayımları, ookist yapıları ve sayılarında yanlışlıklara yol açmamak amacıyla mutlak suretle, dışkının alındığı gün yapılmıştır.

*Cryptosporidium* ookisti pozitif bulunan buzağuların, çalışmaya alınabilmesi için dışkı muayenesinde ookist sayısının 1 gr dışkıda en az  $1,2 \times 10^5$  *cryptosporidium* spp. ookisti bulunması temel alınmıştır (Medema ve diğerleri, 2001; Xiao ve Herd, 1994). Bu amaçla, 1 g dışkı numunesinin karbol fuksin ile boyanması ile hazırlanan



frotillerden Kuczynska ve Shelton (1999)'ın belirlediği teknikten yararlanılarak ışık mikroskopunda 40'lık objektifte incelenmesiyle ookist sayımı yapılmıştır. İlk tedavi öncesi (0.gün) olmak üzere 1, 2, 3, 5, 7 ve 10. günlerde, aynı teknik ile dışkı ookist sayımları yapılmıştır.

### 3.4.2.3. Dışkı Numunelerinde Hızlı Testlerin Uygulanması

İlk gün değerlendirilen buzağı dışkılarının mikroskopik incelemesinde enfeksiyon düzeyinde ookist bulunan hayvanlara beşli dışkı hızlı testleri (Anigen Bovid-5 Buzağı İshal Ag Test Kiti, Bionote, Güney Kore) uygulanmıştır. Test uygulanan hayvanlarda cryptosporidium antijeni yanında diğer ishal etkenleri (*E. coli*, Rota, Corona virus, Giardia) de değerlendirilmiştir. Bu hızlı test uygulamasında 10 buzağıda cryptosporidiosisin diğer etkenlerle miks seyrettiği (bir buzağıda coronavirus ile, sekiz buzağıda rotavirus ile, bir buzağıda ise hem rotavirus hem de coronavirus ile birlikte cryptosporidiosis) gözlenmiş olup, bu buzağılar çalışmaya alınmamıştır. Dolayısıyla sadece crpyosporidiosis pozitif bulunan 30 adet buzağının verileri çalışmada değerlendirilmiştir.



Şekil 2. 7306 nolu buzağının dışkı hızlı test sonucu

### 3.4.3. Kolostrum Numunelerinin Toplanması ve Değerlendirilmesi

Grup 1 ve Grup 2'deki buzağılarda kullanılmak üzere, yeni doğum yapmış ineklerden ilk sağım kolostrum örnekleri toplanmıştır. Bu amaçla aynı işletmede bulunan sağlıklı ineklerin, kan, pıhtı, irin içermeyen ilk sağım kolostrumlarından

buzağuların tüketeceği miktar (4-5 litre) ayrıldıktan sonra kalan kolostrumlar 500 ml'lik ambalajlarda kullanılabileceği kadar -20 °C derecede depolanmıştır. Bu kolostrumlar, buzağıya verileceği zaman içindeki immunoglobulin ve diğer bileşenlerin zarar görmemesi için 45-50 °C'lik sıcak su içerisinde benmari usulü çözdürülerek ve biberon ile buzağılara verilmiştir (Yang ve diğerleri, 2015). Ayrıca bu kolostrum numunelerinden laboratuvar testlerinin yapılması amacıyla, 50 ml kadar kolostrum numuneleri ayrı numune kaplarında depolanmıştır.

İnek kolostrumunun kaliteli olabilmesi için en az 50 g/L hatta 60 g/L düzeyinde IgG içermesi gerektiği bilinmektedir (Batmaz, 2016; Bielman ve diğerleri, 2010; Elsohaby, McClure, Cameron, Heider ve Keefe, 2017; Quigley ve diğerleri, 2013). Bu anlamda Brix % değeri en az %21 (Quigley ve diğerleri, 2013) ve %22 (Bielman ve diğerleri, 2010) olan kolostrumların litrede 50 g düzeyinde IgG içerdiği, Brix% değeri  $\geq 27$  olan kolostrumların ise 100 g/L düzeyinde IgG içerdiği ifade edildiğinden (Bartens ve diğerleri 2016; Batmaz, 216), kolostrum örnekleri Brix % değerlerine göre  $\geq 27$  ve  $\leq 22$  olmak üzere ikiye ayrılmıştır. Bu kolostrumlardan  $\geq 27$  olanlar Grup 1 ve Grup 2'deki buzağılarda tedavide kullanılırken  $\leq 22$  olanlar yalnızca proteomik ve diğer laboratuvar analizlerinde karşılaştırma amacıyla değerlendirilmiştir.

Kolostrum numunelerinin, 4500 devirde 30 dakika santrifüje edilmesiyle kolostrum serumları elde edilmiştir. Kolostrum numunelerinden ve kolostrum serumlarından Brix % ve total protein (TP) değerleri sırasıyla, dijital Brix refraktometre (Milwaukee MA882, Macaristan) ve optik el refraktometresi (Atago Sur-Ne Clinical, Japonya) ile belirlenmiştir. TP değeri ölçülemeyecek kadar yüksek olan numunelerde, distile su kullanılarak dilüsyon yapılmış ve sonrasında hesaplanmıştır.

#### **3.4.4. Proteomik Analizlerin Yapılması**

Bu analizler Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında hizmet alımı ile serum ve kolostrum örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Proteomik analizlerle, immunolojik olarak makromoleküller

proteinler (albumin gibi) uzaklaştırıldıktan sonra geriye kalan düşük moleküler ağırlıklı proteinler (LAP) analiz edilmiştir. Protein ifade farklılıklarının analiz edilmesi için Xevo G2-XS QTOF kütle spektrometresi kullanılmıştır. Düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin nano LC-QTOF MS/MS ile keşfedilmesi sırasında her grup için (pooling verileri) protein paneli oluşturulmuştur. Çalışmada 3 gruptaki 2 farklı zamanda (0. ve 3.gün) elde edilen kan serumlarından (pool edilen) 2'şer ölçüm yapılarak proteomik analizleri değerlendirilerek, gruplar arasında karşılaştırma yapılmıştır (Yılmaz ve diğerleri, 2016). Ayrıca buzağılara içirilen kaliteli kolostrum (Brix %>27) örnekleri ve kontrol amacıyla bu buzağılarda kullanılmayan düşük kaliteli (Brix%≤22) kolostrumlar karşılaştırılmıştır. Kolostrum örneklerinde analiz öncesi süt yağlarının uzaklaştırılması sağlanmıştır (Tacoma ve diğerleri, 2017). Bu işlemlerin ara basamakları aşağıda görüldüğü gibi gerçekleştirilmiştir (a-d) (Yılmaz ve diğerleri, 2016).

#### **a) Serum ve Kolostrum Örneklerinin Hazırlanması ve Ekspresyon Analizi:**

1) Bu aşamada bilinen depleksiyon metodu (Bilic ve diğerleri, 2018) ile serum örneklerinde albüminin depleksiyonu sağlanmıştır. Kolostrum örneklerinde ise santrifüj serileri ile yağ tabakası elimine edilmiştir. Serum örneklerinde albümin depleksiyonu; kısaca her bir serum örneğinin 100 µL'sine 10 µL 1 M sodyum klorür çözeltisi eklenerek nihai konsantrasyonun 0,1 M olması sağlanmıştır, elde edilen solüsyon 4 °C'de 1 saat boyunca döndürülerek inkübe edilmiştir. Daha sonra absolut soğuk etanol ilave edilerek% 42 nihai konsantrasyon elde edilmiş ve tekrar 1 saat 4 ° C'de inkübe edilmiştir. Numuneler 16000g devirde 45 dakika 4 °C'de santrifüj edilmiştir. Burada ilk pelletler elde edilmiş ve süpernatantlar ise işleme devam etmiştir. Süpernatantların pH'ı, pH'ı 5,6 olan soğuk 0,6 M sodyum asetat tamponu eklenerek 5,7'ye düşürülmüş ve 4 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra süpernatantlar, yukarıda belirtilen şekilde tekrar santrifüje edilerek ikinci peletler elde edilmiştir. Daha sonra süpernatantlar (albümin içeren) uzaklaştırılarak, birinci ve ikinci peletler birleştirilerek albümin-depleted numuneler elde edilmiştir (Bilic ve diğerleri, 2018).

2) Serum numunelerinde depleksiyon işleminin sonunda toplanan pelletler üzerine, içinde 1:100 oranının proteaz inhibitör kokteyli bulunan, Universal Protein

Extraction Buffer (UPX) (Expedeon, 44101) eklenmiştir. Kolostrum örneklerinde ise bu aşamada örnekler UPX ile yarı yarıya karıştırılmıştır.

Buradan sonraki basamaklar iki örnek tipi içinde aynıdır.

3) Pelletlerin tamamen çözülmesi için 10 sn sonikasyon 20sn buz üzerinde bekletme döngüsü 5 kez tekrarlanmıştır.

4) Örnekler 95°C'de 5 dk thermo-shaker üzerinde bekletilmiştir (Bu aşama UPX içinde bulunan SDS ve reducing agent ın çalışması için yapılmıştır).

5) Örnekler soğumaları için 4°C'de bekletildi ve büyük partiküllerde uzaklaştırmak amacıyla 18.000xg'de 15 dk santrifüj edilmiştir.

6) Bradford yöntemi ile protein konsantrasyonu tayini yapılmıştır.

7) Her örnek 50ug olacak şekilde FASP protein digestion protokolü uygulanmıştır. Peptit konsantrasyonları *Quantitative Colorimetric Peptide Assay* (Thermo-23275) ile ölçüldü.

8) Örneklerin peptit konsantrasyonları 200ng/ul olacak şekilde dilue edilerek LC-viallere aktarılmıştır.

#### **b) Kromatografik ayrıştırma:**

Bu aşamada peptit örnekleri C18 tuzak kolonunda (Waters-186008821) alıkonur ve ardından asetonitril gradienti ile tuzak kolondan ayrılan peptitler C18 analitik kolonunda (Waters-186008818) hidrofobik etkileşimler ile ayrıştırılmaktadır. Analiz 300 nL/dk akış hızında 120 dk'lık ters faz kromatografisi, 1,8um HSS C18 75um x 250mm nano LC kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### **c) MS ve MS/MS Deney kurulumu:**

Asetonitril yüzdesi 3-40 aralığında artırılarak kolondan ayrılması sağlanan peptitler ESI iyonlaşması sonucu kütle spektrometrisinde analiz edilmiştir. Xevo G2-XS QTOF (Waters, UK) kütle spektrometri sistemi kullanılarak yapılan analizlerde m/z 50- 1900 aralığında tanımlanabilecek peptitler için veri toplanmıştır. 0,5sn kadar MS analizi ile peptitin bütünü ve miktarı hakkında toplanan bilgiyi takiben, 0,5 sn

kadar gerçekleştirilen MS/MS analizi ile de peptitin parçalanması ve sekans bilgisinin elde edilmesi sağlanmıştır.

#### **d) Protein ekspresyon analizi:**

Örneklerden ekstrakte edilen proteinlerdeki ekspresyon farklılıklarının analizi için Progenesis QI-P (Nonlinear Dynamics) modülü kullanılmıştır. Bu biyoinformatik yazılımlar ile her bir örnek grubundaki proteinler tanımlanmıştır.

Analizler sonunda elde edilen proteinlerin tanımlanmasında Uniprot, *Bos taurus*, Reviewed ve NCBI Refseq *Bos taurus* veri tabanları kullanılmıştır. Tanımlanan proteinlerden,  $p < 0,05$  düzeyinde ve değişim oranı (max fold)  $\geq 1,2$  kat (power  $\geq 0,57$ ) olan proteinler anlamlı kabul edilmişlerdir.

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirilmesinde grup içi ve gruplar arasındaki sonuçların karşılaştırılmasında Sigma 11 istatistik programı ile GLM (General Linear Model) modeline uygun olarak ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arası tüm değerlendirmelerde “one way anova” kullanılırken, grup içi çoklu örneklerde “one way RM anova testi” ve grup içi iki farklı günün karşılaştırılmasında ise “paired t-testi” kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya alınan buzağılarda ishalin başladığı yaş ortalamaları  $11,33 \pm 0,59$  gün olup; Grup 1’de  $11,20 \pm 0,85$ , Grup 2’de  $11,00 \pm 1,33$  ve Grup 3’te  $11,80 \pm 0,95$  gün yaş olmuştur. Tedavi süresince hiç bir grupta ölen buzağı olmamıştır.

### 4.1. Buzağuların Günlük Klinik Muayene ve Gözlem Bulguları

Çalışmada yer alan tüm buzağılarda tedavi öncesi ve takip eden 10 gün boyunca günlük klinik muayene ve gözlem yapılmıştır. Günlük muayeneler sırasında emme refleksi, beden sıcaklığı, kalp ve solunum frekansları, depresyon skorlaması değerlendirilmiştir. Grup 1 ve Grup 2’de emme refleksinde günler arasında istatistiksel fark bulunmazken, sadece birinci günde Grup 1 ve Grup 2’de, Grup 3’e göre emme refleksinin daha iyi olduğu saptanmıştır ( $p<0,05$ ) (Tablo 2). Kalp frekansları değerlendirildiğinde sadece 6. günde gruplar arasında fark saptanmıştır (Tablo 3). Beden sıcaklığı ( $^{\circ}\text{C}$ ), solunum frekansı ve depresyon skorlarının değerlendirilmesinde grup içi (günler arasında) ve gruplar arasında istatistiksel fark görülmemiştir.

**Tablo 2.** Gruplarda 10 gündeki emme refleksleri

	<b>GRUP 1</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 2</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 3</b> <b>n=10</b>
<b>Günler</b>	<b>Ort± Sh</b>	<b>Ort± Sh</b>	<b>Ort± Sh</b>
<b>0.Gün</b>	$1,70 \pm 0,21$	$2,00 \pm 0,21$	$2,20 \pm 0,13$
<b>1.Gün</b>	$1,30 \pm 0,15^a$	$1,30 \pm 0,15^a$	$2,00 \pm 0,14^b$
<b>2.Gün</b>	$1,40 \pm 0,16$	$1,40 \pm 0,16$	$1,40 \pm 0,16$
<b>3.Gün</b>	$1,30 \pm 0,15$	$1,50 \pm 0,22$	$1,50 \pm 0,16$
<b>4.Gün</b>	$1,10 \pm 0,10$	$1,70 \pm 0,21$	$1,30 \pm 0,15$
<b>5.Gün</b>	$1,20 \pm 0,13$	$1,80 \pm 0,29$	$1,30 \pm 0,15$
<b>6.Gün</b>	$1,50 \pm 0,22$	$1,50 \pm 0,22$	$1,30 \pm 0,15$
<b>7.Gün</b>	$1,20 \pm 0,13$	$1,30 \pm 0,21$	$1,70 \pm 0,21$
<b>8.Gün</b>	$1,40 \pm 0,16$	$1,40 \pm 0,22$	$1,40 \pm 0,16$
<b>9.Gün</b>	$1,20 \pm 0,13$	$1,40 \pm 0,22$	$1,70 \pm 0,26$
<b>10.Gün</b>	$1,10 \pm 0,10$	$1,50 \pm 0,22$	$1,60 \pm 0,22$

\*Küçük harflerdeki farklılıklar gruplar arası farkı ( $p<0,05$ ) göstermektedir.

**Tablo 3.** Gruplarda 10 gündeki kalp frekansları (/dk)

	<b>GRUP 1</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 2</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 3</b> <b>n=10</b>
<b>0.Gün</b>	115,20 ± 4,68	117,60 ± 6,69	117,20 ± 4,69
<b>1.Gün</b>	124,40 ± 4,75	120,40 ± 6,86	121,20 ± 5,56
<b>2.Gün</b>	112,80 ± 8,55	115,00 ± 5,22	116,80 ± 5,95
<b>3.Gün</b>	120,20 ± 6,61	120,40 ± 3,02	116,80 ± 5,68
<b>4.Gün</b>	121,20 ± 3,91	116,80 ± 6,07	117,20 ± 6,34
<b>5.Gün</b>	119,60 ± 6,37	123,60 ± 4,78	118,80 ± 5,23
<b>6.Gün</b>	124,40 ± 4,06 <sup>a</sup>	119,20 ± 3,56 <sup>ab</sup>	108,40 ± 4,96 <sup>b</sup>
<b>7.Gün</b>	118,40 ± 6,02	120,00 ± 7,56	121,20 ± 5,09
<b>8.Gün</b>	113,20 ± 5,49	119,60 ± 5,60	116,00 ± 3,52
<b>9.Gün</b>	113,60 ± 6,37	117,20 ± 6,22	104,00 ± 3,81
<b>10.Gün</b>	107,60 ± 5,57	120,40 ± 5,21	111,80 ± 4,74

\* Küçük harflerdeki farklılıklar gruplar arası farkı (p<0,05) göstermektedir.

## 4.2. Buzağuların Dışkı Bulguları

Dışkı bulguları kapsamında, günlük dışkı skorlarının belirlenmesi, ishal süreleri ve günlük dışkı ookist sayımlarının yapılması ve dışkı hızlı testlerinin yapılması değerlendirilmiştir.

### 4.2.1. Buzağularda Dışkı Skoru Bulguları

Buzağularda tedavi öncesi (0. gün)'den başlanarak tedavi sırasında (5 gün) ve sonrasında (5 gün) olmak üzere 10 gün boyunca takip edilen dışkı skorları Şekil 3-7'de belirtilmiştir. Dışkı skorlamasında skor 3-4-5 olan hayvanlar ishal olarak değerlendirilmiştir.



**Şekil 3.** Dışkı skoru 5  
(2033 no.lu buzağı, Grup III'de 4 no.lu )



**Şekil 4.** Dışkı skoru 4  
(2012 no.lu buzağı, Grup III'de 3 no.lu)



**Şekil 5.** Dışkı skoru 3  
(2200 no.lu buzağı, Grup I'de 9 no.lu)



**Şekil 6.** Dışkı skoru 2  
(2006 no.lu buzağı, GrupII'de 1 no.lu)



**Şekil 7.** Dışkı skoru 1  
(2009 no.lu buzağı, GrupI'de 1 no.lu)

Dışkı skorlarında, 0. güne göre Grup 1 ve Grup 2'de 2. günde anlamlı düşüş dikkati çekerken, Grup 3'te ise 8. günde anlamlı düşüş görülmüştür (Tablo 4; Grafik 1; Grafik 2). Ayrıca, ookist saçılımı incelenen günlerdeki dışkı skorlarına bakıldığında (Grafik 2) Grup 1 ve Grup 2'de dışkı skorları giderek iyileşme (skorun azalması) gösterirken; Grup 3'te ise ilki 3. günde (2. gündeki dışkı skorunun yaklaşık %50'si

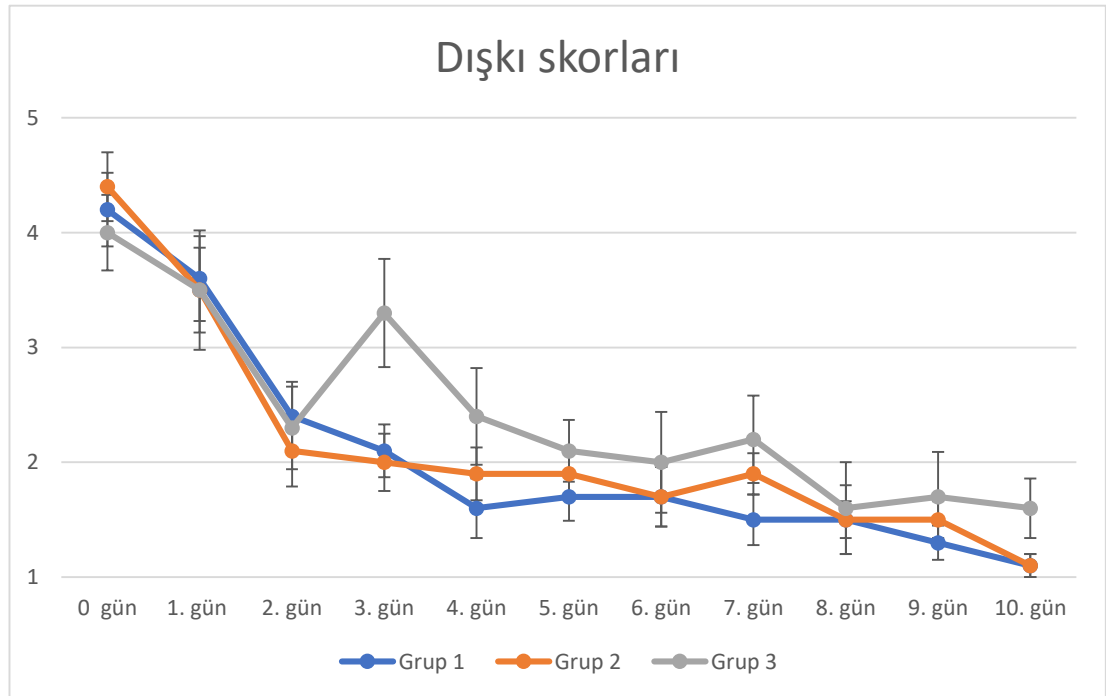


(%43) kadar kötüleşme) ve ikincisi ise 7. günde olmak üzere iki günde dışkı skorununun kötüleştiği görülmüştür.

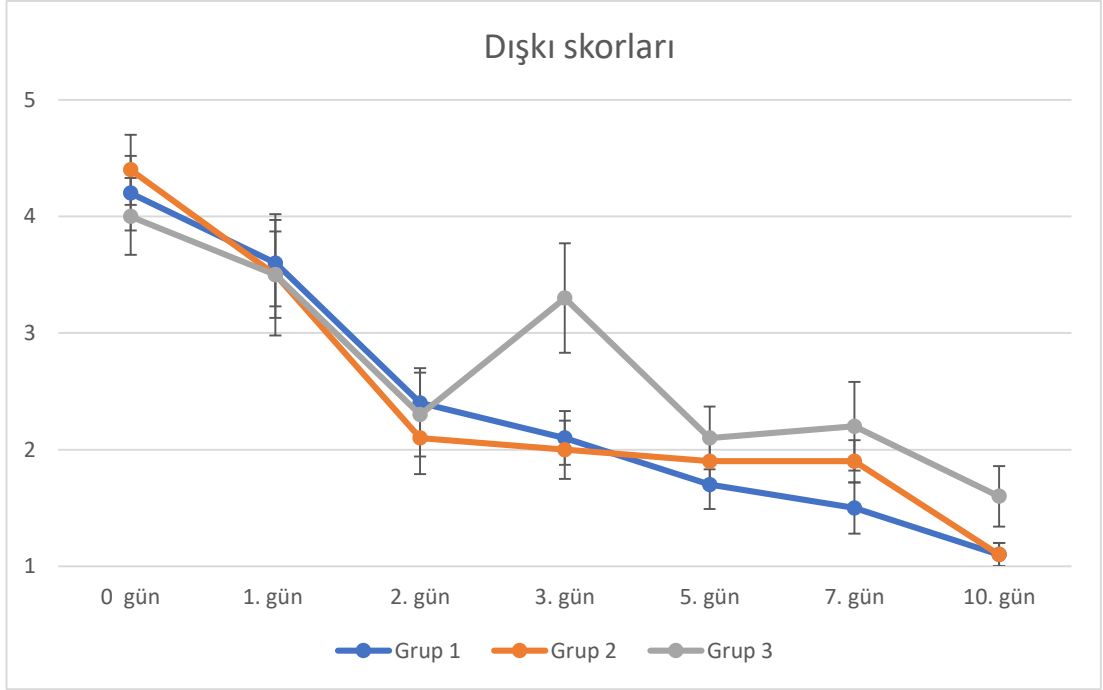
**Tablo 4.** Buzağuların günlük dışkı skorları

	GRUP 1 (n=10)	GRUP 2 (n=10)	GRUP 3 (n=10)
0.Gün	4,20 ± 0,32 <sup>A</sup>	4,40 ± 0,30 <sup>A</sup>	4,00 ± 0,33 <sup>A</sup>
1.Gün	3,60 ± 0,37 <sup>AB</sup>	3,50 ± 0,37 <sup>AB</sup>	3,50 ± 0,52 <sup>AB</sup>
2.Gün	2,40 ± 0,30 <sup>C</sup>	2,10 ± 0,31 <sup>C</sup>	2,30 ± 0,36 <sup>AB</sup>
3.Gün	2,10 ± 0,23 <sup>CD</sup>	2,00 ± 0,25 <sup>C</sup>	3,30 ± 0,47 <sup>AB</sup>
4.Gün	1,60 ± 0,26 <sup>CD</sup>	1,90 ± 0,23 <sup>C</sup>	2,40 ± 0,42 <sup>AB</sup>
5.Gün	1,70 ± 0,21 <sup>CD</sup>	1,90 ± 0,18 <sup>C</sup>	2,10 ± 0,27 <sup>AB</sup>
6.Gün	1,70 ± 0,26 <sup>CD</sup>	1,70 ± 0,26 <sup>C</sup>	2,00 ± 0,44 <sup>AB</sup>
7.Gün	1,50 ± 0,22 <sup>CD</sup>	1,90 ± 0,18 <sup>C</sup>	2,20 ± 0,38 <sup>AB</sup>
8.Gün	1,50 ± 0,30 <sup>CD</sup>	1,50 ± 0,16 <sup>C</sup>	1,60 ± 0,40 <sup>B</sup>
9.Gün	1,30 ± 0,15 <sup>CD</sup>	1,50 ± 0,16 <sup>C</sup>	1,70 ± 0,39 <sup>B</sup>
10.Gün	1,10 ± 0,10 <sup>D</sup>	1,10 ± 0,10 <sup>C</sup>	1,60 ± 0,26 <sup>B</sup>

\* Büyük harflerdeki farklılıklar grup içindeki farkı (p<0,05) göstermektedir.



**Grafik 1.** Buzağuların günlük dışkı skorları



**Grafik 2.** Buzağuların günlük dışkı skorları (dışkıda ookist sayımının yapıldığı günler)

Dışkı skorlarının 3, 4, 5 olduğu olguların günleri değerlendirildiğinde üç gruptaki buzağuların ishalleri gün sayıları Tablo 5'te verilmiştir. Ayrıca aynı tabloda buzağular  $\leq 10$  gün ve  $\geq 11$  günlük yaş olarak iki gruba ayrıldığında da ishal süreleri gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Graplarda buzağuların ishalleri gün süreleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Tüm Gruplar
	Ort $\pm$ Sh	Ort $\pm$ Sh	Ort $\pm$ Sh	Ort $\pm$ Sh
Tüm yaşlardaki ishal süresi	3,00 $\pm$ 0,49 (n=10)	3,20 $\pm$ 0,35 (n=10)	4,40 $\pm$ 0,63 (n=10)	3,53 $\pm$ 0,30 (n=30)
$\leq 10$ günlük yaştakilerde ishal süresi	1,66 $\pm$ 0,88 <sup>A</sup> (n=3)	3,40 $\pm$ 0,24 <sup>A</sup> (n=5)	4,66 $\pm$ 1,76 <sup>A</sup> (n=3)	3,27 $\pm$ 0,58 <sup>A</sup> (n=11)
$\geq 11$ günlük yaştakilerde ishal süresi	3,57 $\pm$ 0,48 <sup>B</sup> (n=7)	3,00 $\pm$ 0,70 <sup>A</sup> (n=5)	4,28 $\pm$ 0,64 <sup>A</sup> (n=7)	3,68 $\pm$ 0,35 <sup>A</sup> (n=19)

\* Büyük harflerdeki farklılıklar grup içindeki farkı ( $p < 0,05$ ) göstermektedir.

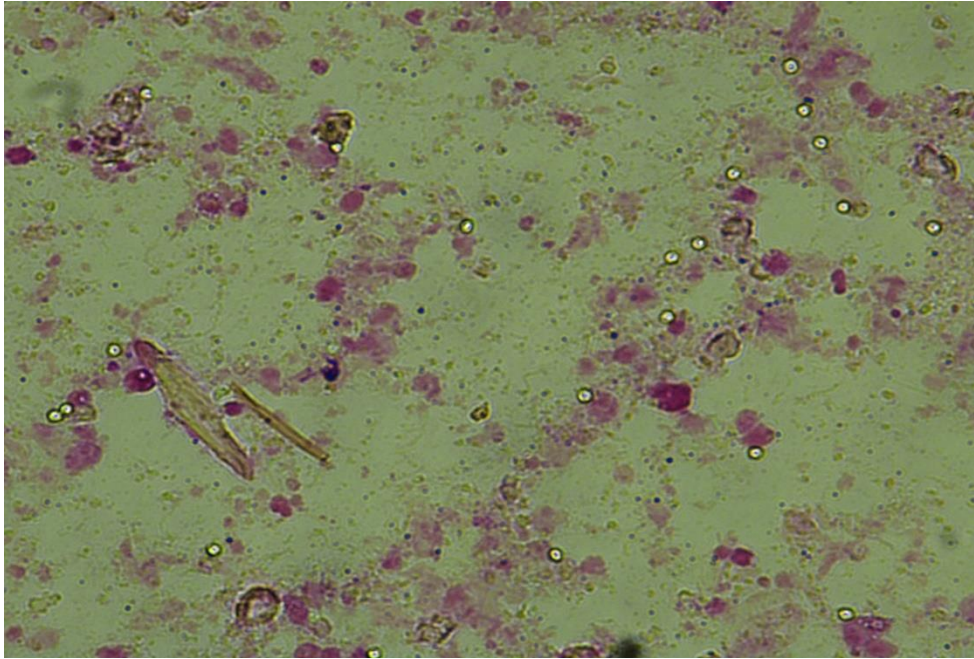
Tablo 5'te görüldüğü gibi, buzağuların tedavi öncesi (0.gün) ve tedavi sonrası 10. güne kadar dışkı skorları değerlendirildiğinde (30 buzağı) ortalama ishal süreleri  $3,53 \pm 0,30$  gün olarak belirlenmiştir. Her bir grup ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'teki buzağuların ortalama ishalleri gün süreleri sırasıyla  $3,00 \pm 0,49$  gün,  $3,20 \pm 0,35$  gün ve  $4,40 \pm 0,63$  gün olarak belirlenmiş olup, gruplar arasında istatistiksel fark görülmemiştir. Ayrıca gruplardaki ishal süreleri kontrol

grubu olan Grup3 ile ikili karşılaştırıldığında ise Grup1 - Grup 3 ( $p= 0,099$ ) ve Grup 2- Grup3 ( $p=0,118$ ) arasında yine anlamlı fark saptanmamasına rağmen Grup 1 ve Grup 3 arasında  $p$  değerinin  $0,05$ 'e yakın bulunmuştur.

Çalışma kapsamında ishal süreleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde ishal süreleri erkeklerde ( $n=13$ )  $3,76 \pm 0,37$  gün ve dişilerde ( $n=17$ ) ise  $3,35 \pm 0,46$  gün olduğu saptanmış olup cinsiyetler arasında istatistiksel önem bulunmamıştır ( $p=0,510$ ).

#### 4.2.2. Buzağuların Dışkılarında Ookist Sayıları

Tüm gruplarda buzağılarda tedavi öncesinde (0.gün) başlanarak, tedavinin 10. gününe kadar yapılan dışkılarındaki ookist sayımları Tablo 6'da sunulmuştur. Ookistlerin karbol fuksin ile boyanması sonucu mikroskopik görünütüsü Şekil 8'de verilmiştir.



**Şekil 8.** Dışkının karbol fuksin ile boyanması sonrası 40'luk büyütmede cryptosporidium ookistlerinin görülmesi

**Tablo 6.** Buzağuların dışıklarında ookist sayıları ( x 10<sup>6</sup>/ gram dışkı)

	<b>GRUP 1</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 2</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 3</b> <b>n=10</b>
	<b>Ort ± Sh</b>	<b>Ort ± Sh</b>	<b>Ort ± Sh</b>
<b>0.Gün</b>	2052,00 ± 732,32 <sup>A</sup>	1830,00 ± 514,30 <sup>A</sup>	1607,00 ± 424,18 <sup>A</sup>
<b>min- max</b>	470,00 - 8170,00	120,00 - 4000,00	280,000 - 4120,00
<b>1.Gün</b>	884,00 ± 444,74 <sup>AB</sup>	719,00 ± 274,49 <sup>A</sup>	789,00 ± 309,89 <sup>AB</sup>
<b>min- max</b>	0,00 - 4210,00	0,00 - 2300,00	0,00 - 2790,00
<b>2.Gün</b>	281,00 ± 151,82 <sup>BC</sup>	470,00 ± 186,05 <sup>AB</sup>	899,00 ± 690,71 <sup>ABC</sup>
<b>min- max</b>	0,00 - 1390,00	0,00 - 1800,00	0,00 - 7000,00
<b>3.Gün</b>	83,00 ± 46,16 <sup>BC</sup>	284,00 ± 158,47 <sup>BC</sup>	347,00 ± 246,13 <sup>ABC</sup>
<b>min- max</b>	0,00 - 360,00	0,00 - 1590,00	0,00 - 2440,00
<b>5.Gün</b>	5,00 ± 3,41 <sup>C</sup>	153,00 ± 90,83 <sup>BC</sup>	830,00 ± 672,85 <sup>ABC</sup>
<b>min- max</b>	0,00 - 30,00	0,00 - 780,00	0,00 - 6730,00
<b>7.Gün</b>	0,00 ± 0,00 <sup>C</sup>	14,00 ± 12,92 <sup>BC</sup>	446,00 ± 399,53 <sup>ABC</sup>
<b>min- max</b>	0,00 - 0,00	0,00 - 130,00	0,00 - 4030,00
<b>10.Gün</b>	0,00 ± 0,00 <sup>C</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>C</sup>	7,00 ± 5,17 <sup>C</sup>
<b>min- max</b>	0,00 - 0,00	0,00 - 0,00	0,00 - 50,00

\* Büyük harflerdeki farklılıklar grup içindeki farkı (p<0,05) göstermektedir.

Tablo 6’da görüldüğü gibi dışkı ookist sayıları grup içi değerlendirmelerde Grup 1’de 2. günde, Grup 2’de 3. günde ve Grup 3’te ise 10. günde tedavi öncesine göre (0. gün) anlamlı değişim göstermiştir (p<0,05). Buna paralel olarak Tablo 9 incelendiğinde tedavi öncesine göre dışkıdaki ookist sayısında %80’den daha çok azalmalar Grup 1’de 2.gün, Grup 2’de 3. gün ve kolostrum verilmeyen Grup 3’de ise 10 gün olarak tespit edilmiştir.

Gruplar arasında dışkı ookist sayıları değerlendirildiğinde 7. gün örneklerinde ookist miktarları arasında fark görülmekle birlikte (Grup 1’de 0,00 ± 0,00; Grup 2’de 14,00 ± 12,92 ve Grup 3’te 446,00 ± 399,53) istatistiksel önem çıkmamıştır (Tablo 6). Ancak tedavide kolostrum kullanılan (Grup 1 ve Grup 2) grupların dışıklarındaki ookist sayıları kontrol grubu (Grup 3) ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında; Grup 2 ve Grup 3 arasında hiçbir günde önemli fark görülmezken (Tablo 7), Grup 1 ve Grup 3 arasında sadece 7. günde istatistiksel fark görülmüştür (p=0,035) (Tablo 8).

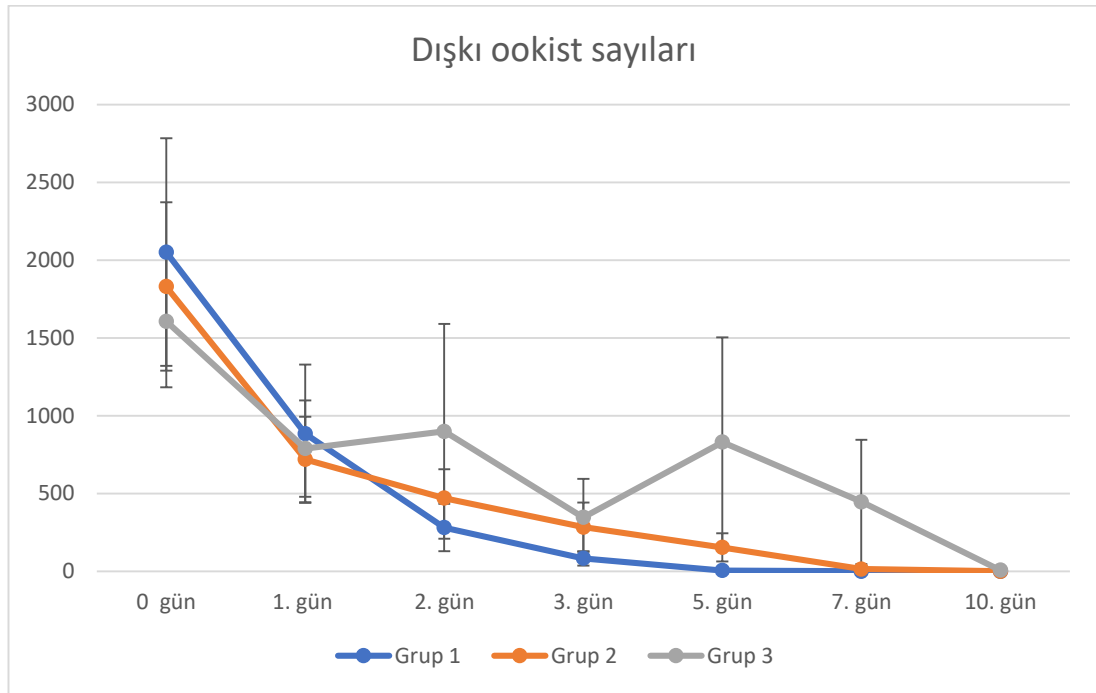
**Tablo 7.** Grup 2 ile Grup 3’ün dışkıdaki ookist sayılarının MannWhitney U testi ile karşılaştırılması

	<b>GRUP 2</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 3</b> <b>n=10</b>	<b>P değeri</b>
	<b>Ort ±Sh</b>	<b>Ort ±Sh</b>	<b>Ort ±Sh</b>
<b>0.Gün</b>	1830,00 ± 514,30	1607,00 ± 424,18	0,970
<b>1.Gün</b>	719,00 ± 274,49	789,00 ± 309,89	0,596
<b>2.Gün</b>	470,00 ± 186,05	899,00 ± 690,71	0,292
<b>3.Gün</b>	284,00 ± 158,47	347,00 ± 246,13	0,588
<b>5.Gün</b>	153,00 ± 90,83	830,00 ± 672,85	0,710
<b>7.Gün</b>	14,00 ± 12,92	446,00 ± 399,53	0,284
<b>10.Gün</b>	0,00 ± 0,00	7,00 ± 5,17	0,168

**Tablo 8.** Grup 1 ile Grup 3'ün dışkıdaki ookist sayılarının MannWhitney U testi ile karşılaştırılması

	<b>GRUP 1</b> n=10	<b>GRUP 3</b> n=10	<b>P değeri</b>
	<b>Ort ±Sh</b>	<b>Ort ±Sh</b>	<b>Ort ±Sh</b>
<b>0.Gün</b>	2052,00 ± 732,32	1607,00 ± 424,18	0,910
<b>1.Gün</b>	884,00 ± 444,74	789,00 ± 309,89	0,821
<b>2.Gün</b>	281,00 ± 151,82	899,00 ± 690,71	0,777
<b>3.Gün</b>	83,00 ± 46,16	347,00 ± 246,13	0,606
<b>5.Gün</b>	5,00 ± 3,41	830,00 ± 672,85	0,237
<b>7.Gün</b>	0,00 ± 0,00	446,00 ± 399,53	<b>0,035</b>
<b>10.Gün</b>	0,00 ± 0,00	7,00 ± 5,17	0,168

Tablo 8 incelendiğinde, Grup 1'de 7. gün ortalaması sıfır iken ( $0,00 \pm 0,00$ ) iken kontrol grubunda (Grup 3)  $446,00 \pm 399,53$  olduğu ve  $p=0,035$  oranında istatistiksel fark olduğu görülmektedir. Aynı tabloda, gruplar arasında diğer günlerde de ookist sayıları arasında belirgin fark görülmesine rağmen, istatistiksel önem ortaya çıkmamıştır.



**Grafik 3:** Üç grupta günler arasında dışkıda ookist sayılarındaki değişimler

Dışkıdaki ookist sayısındaki azalmaların grup içlerinde oransal olarak karşılaştırılabilmesi için tedavi öncesine göre 3 gruptaki değişim yüzdeleri (0.gün ookist sayıları %100 olarak alınmıştır) Tablo 9'da gösterilmiştir.

**Tablo 9.** Üç grupta günler arasında ookist azalma yüzdeleri

	0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	5. gün	7. gün	10. gün
<b>Grup 1</b>	% 0,00	% 56,92	% 86,30	% 95,95	% 99,75	% 100,00	% 100,00
<b>Grup 2</b>	% 0,00	% 60,71	% 74,31	% 84,48	% 91,63	% 99,23	% 100,00
<b>Grup 3</b>	% 0,00	% 50,90	% 44,05	% 78,40	% 48,35	% 72,24	% 99,56

\*0. gün dışı ookist miktarı %100 olarak kabul edilerek hazırlanmıştır.

Üç grupta günler arasında dışkıda ookist sayılarındaki değişimler Grafik 3'te gösterilmiştir. Tablo 6, 7, 8 ve Grafik 3'te görüldüğü üzere, kontrol grubuna (Grup 3) göre kolostrum verilen gruplarda (Grup 1 ve Grup 2) ookist sayısında daha fazla ve daha hızlı azalma gözlenmiş ve bu azalma özellikle 7.günde Grup 1 ile Grup 3 arasında anlamlı ( $p<0.05$ ) bulunmuştur (Tablo 8).

**Tablo 10.** Grupların dışkıda ookist saçılan gün sayıları

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Tüm Gruplar
	Ort ± Sh	Ort ± Sh	Ort ± Sh	Ort ± Sh
<b>Tüm yaşlardaki ookist saptanan gün sayısı</b>	3,20 ± 0,44 (n=10)	4,10 ± 0,52 (n=10)	3,90 ± 0,70 (n=10)	3,73 ± 0,32 (n=30)
<b>≤10 günlük yaştakilerde ookist saptanan gün sayısı</b>	3,66 ± 0,88 (n=3)	4,60 ± 0,92 (n=5)	5,66 ± 0,88 (n=3)	4,63 ± 0,54 <sup>A</sup> (n=11)
<b>≥11 günlük yaştakilerde ookist saptanan gün sayısı</b>	3,00 ± 0,53 (n=7)	3,60 ± 0,51 (n=5)	3,14 ± 0,80 (n=7)	3,21 ± 0,36 <sup>B</sup> (n=19)

\* Büyük harflerdeki farklılıklar grup içindeki farkı ( $p<0,05$ ) göstermektedir

Her bir gruptaki buzağılarda, değerlendirilen günlerdeki (0, 1, 2, 3, 5, 7 ve 10. günler)'de ookist saçılımı saptanan gün sayıları, hem gruplar bazında hem de ≤10 ve ≥11 günlük yaş dönemlerindeki buzağılarda ayrı ayrı Tablo 10'da özetlenmiştir.

Çalışma kapsamında ookist saçılım süreleri cinsiyete göre değerlendirildiğinde süreleri erkeklerde (n=13)  $3,92 \pm 0,47$  gün ve dişilerde (n=17) ise  $3,58 \pm 0,45$  gün olduğu saptanmış olup cinsiyetler arasında istatistiksel önem bulunmamıştır ( $p=0,618$ ).

Çalışmada üç gruptaki buzağılarda tüm günlerdeki verileri değerlendirildiğinde, dışkı skoru ile dışkı ookist sayıları arasında  $r=0,495$  oranında, her bir grubun verileri ayrı değerlendirildiğinde ise Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'te korelasyon kat sayıları sırasıyla  $r=0,688$  ( $p<0,01$ ),  $r=0,395$  ( $p<0,01$ ) ve  $r=0,399$  ( $p<0,01$ ) olduğu saptanmıştır.

### 4.3. Buzağuların Laboratuvar Bulguları

#### 4.3.1. Buzağuların İmmunoglobulin G (IgG) Konsantrasyonları

Buzağuların 0. ve 3.günde ölçülen serum IgG konsantrasyonları Tablo 11’de sunulmuştur.

**Tablo 11.** Buzağuların serum IgG konsantrasyonları (mg/dl)

	<b>GRUP 1</b> n=10	<b>GRUP 2</b> n=10	<b>GRUP 3</b> n=10
	Ort ± Sh	Ort ± Sh	Ort ± Sh
<b>0.Gün</b>	1.004,70 ± 96,71 <sup>A</sup>	1.096,50 ± 93,55 <sup>A</sup>	1.068,70 ± 150,11 <sup>A</sup>
<b>3.Gün</b>	921,20 ± 88,20 <sup>B</sup>	1.022,70 ± 102,91 <sup>A</sup>	938,60 ± 136,60 <sup>B</sup>
<b>Paired t testi sonuçları</b>	p:0,008	p:0,134	p<0,001

\* Büyük harflerdeki farklılıklar grup içindeki farkı (p<0,05) göstermektedir.

Tablo 11’de görüldüğü gibi, üç grupta da 0.güne göre 3. günde serum IgG konsantrasyonlarında azalma olmuş ve bu azalmalar Grup 1 ve Grup 3’te istatistiksel düzeyde bulunmuştur. Ancak gruplar arasında her iki günde de önemli bir fark saptanmamıştır.

#### 4.3.2. Buzağuların Gamma-Glutamyl Transferaz (GGT) Düzeyleri

Buzağuların 0. ve 3.günde ölçülen serum GGT düzeyleri Tablo 12’de verilmiştir.

**Tablo 12.** Buzağuların GGT düzeyleri (U/L)

	<b>GRUP 1</b> n=10	<b>GRUP 2</b> n=10	<b>GRUP 3</b> n=10
	Ort ± Sh	Ort ± Sh	Ort ± Sh
<b>0.Gün</b>	120,30 ± 25,59 <sup>A</sup>	138,60 ± 46,42 <sup>A</sup>	131,00 ± 27,87 <sup>A</sup>
<b>3.Gün</b>	80,90 ± 15,16 <sup>B</sup>	88,20 ± 28,67 <sup>B</sup>	102,10 ± 22,00 <sup>B</sup>
<b>Paired t testi sonuçları</b>	p=0,002	p=0,002	p=0,017

\* Büyük harflerdeki farklılıklar grup içindeki farkı (p<0,05) göstermektedir.

Tablo 12’de görüldüğü üzere, tüm gruplarda 0. gün örneklerinde serum GGT düzeyinin 3. gün örneklerine göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu, ancak gruplar arasında hiç bir günde istatistiksel fark olmadığı saptanmıştır.

### 4.3.3. Buzağuların Total Protein (TP) Konsantrasyonları

Buzağuların farklı günlerdeki kan serum TP konsantrasyonları Tablo 13'te sunulmuştur.

**Tablo 13:** Buzağuların serum TP konsantrasyonları (g/dl)

	<b>GRUP 1</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 2</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 3</b> <b>n=10</b>
	Ort ± Sh	Ort ± Sh	Ort ± Sh
<b>0.Gün</b>	6,23 ± 0,19 <sup>AB</sup>	6,41 ± 0,20 <sup>AB</sup>	6,07 ± 0,26 <sup>A</sup>
<b>1.Gün</b>	6,49 ± 0,31 <sup>A</sup>	6,77 ± 0,20 <sup>A</sup>	6,28 ± 0,25 <sup>A</sup>
<b>2.Gün</b>	6,22 ± 0,23 <sup>AB</sup>	6,22 ± 0,22 <sup>AB</sup>	6,27 ± 0,28 <sup>A</sup>
<b>3.Gün</b>	5,97 ± 0,29 <sup>B</sup>	6,01 ± 0,30 <sup>AB</sup>	5,99 ± 0,36 <sup>A</sup>
<b>5.Gün</b>	6,46 ± 0,27 <sup>A</sup>	6,25 ± 0,27 <sup>AB</sup>	6,22 ± 0,28 <sup>A</sup>
<b>7.Gün</b>	6,22 ± 0,21 <sup>AB</sup>	5,93 ± 0,24 <sup>B</sup>	6,03 ± 0,21 <sup>A</sup>

\* Büyük harflerdeki farklılıklar grup içindeki farkı ( $p < 0,05$ ) göstermektedir.

Tablo 13'de görüldüğü gibi, serum TP düzeylerinin değerlendirilmesinde gruplar arasında hiç bir günde istatistiksel fark olmadığı saptanmıştır. Grup içi değerlendirmede ise, Grup 1'de 1. güne göre göre 3.günde ve Grup 2'de ise 1. güne göre 7. günde anlamlı azalma bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).

### 4.3.4. Buzağuların Brix % Bulguları

Buzağuların farklı günlerdeki kan serum Brix% düzeyleri Tablo 14'te sunulmuştur.

**Tablo 14.** Buzağuların Brix % değerleri

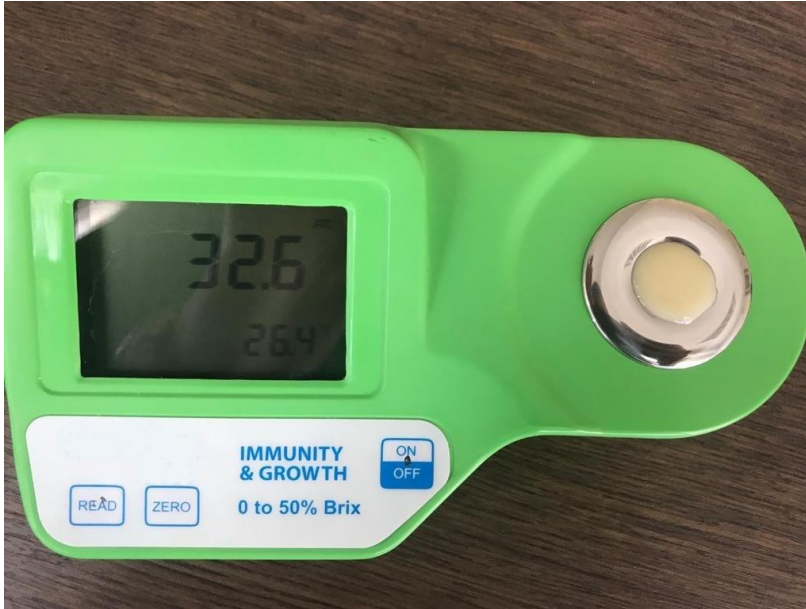
	<b>GRUP 1</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 2</b> <b>n=10</b>	<b>GRUP 3</b> <b>n=10</b>
	Ort ± Sh	Ort ± Sh	Ort ± Sh
<b>0.Gün</b>	8,37 ± 0,54	8,66 ± 0,23	8,30 ± 0,22
<b>1.Gün</b>	8,16 ± 0,30	8,26 ± 0,26	8,28 ± 0,30
<b>2.Gün</b>	8,23 ± 0,23	8,39 ± 0,26	8,22 ± 0,31
<b>3.Gün</b>	8,09 ± 0,27	8,11 ± 0,32	8,45 ± 0,38
<b>5.Gün</b>	8,31 ± 0,31	8,13 ± 0,24	8,10 ± 0,35
<b>7.Gün</b>	8,33 ± 0,28	8,10 ± 0,26	8,08 ± 0,19

Serum Brix % düzeylerinin değerlendirilmesinde, gruplar arasında ve grup içlerinde hiç bir günde istatistiksel fark olmadığı saptanmıştır.



#### 4.4. Kolostrum Laboratuvar Bulguları

Çalışma kapsamında, 32 adet Holştayn ırkı inekten kolostrum toplanmıştır. Toplanan kolostrumlar Brix % değerine göre yüksek kaliteli ve düşük kaliteli kolostrum olmak üzere ikiye ayrılmıştır (Şekil 9). Bu anlamda Brix % değeri en az 27 olan 18 adet kolostrumun yüksek kaliteli olduğu tespit edilmiştir. Grup 1 ve Grup 2'deki buzağılarda kullanılan bu kolostrumların Brix% ortalamalarının  $30,08 \pm 0,65$  olduğu belirlenmiştir. Brix %  $<27$  olan 14 adet kolostrumun Brix % ortalamalarının ise  $22,60 \pm 0,91$  olduğu belirlenmiş ve bu kolostrumlar hiç bir gruptaki buzağılarda kullanılmamıştır. Her iki kolostrum gruplarının Brix % değerleri arasında önemli düzeyde istatistiksel fark bulunmuştur ( $p < 0,001$ ).



Şekil 9. Brix % değeri 32,6 olan yüksek kaliteli kolostrum örneği

Tablo 15'te görüldüğü üzere, proteomik analizlere konu olan yüksek kaliteli ( $n=3$ ) ve düşük kaliteli ( $n=3$ ) kolostrum örneklerinin sırasıyla Brix % değerlerinin ortalamaları  $32,56 \pm 1,53$  ve  $19,16 \pm 1,18$ ; TP değeri ortalamaları  $26,26 \pm 2,21$  ve  $13,33 \pm 0,74$  olduğu, kolostrum serumundan yapılan analizlerde ise Brix %  $33,46 \pm 1,38$  ve  $19,20 \pm 1,33$ ; TP değeri ortalamalarının ise  $24,40 \pm 1,40$  ve  $13,26 \pm 0,96$  olduğu saptanmıştır. Bu kolostrumlara ait proteomik analiz bulguları ilgili bölümde (Bölüm 4.5.2'de) sunulmuştur.

**Tablo 15.** Proteomik analizlerle karşılaştırılan yüksek kaliteli (n=3) ve düşük kaliteli (n=3) kolostrum örneklerinin laboratuvar bulguları

	Örnek no	Kolostrum Brix% değeri (%)	Kolostrum TP değeri (mg/dl)	Kol. Ser Brix% değeri (%)	Kol. Ser. TP değeri (mg/dl)
Yüksek kaliteli	17	35,2	30,4	35,8	26,0
	23	32,6	25,6	33,6	25,6
	28	29,9	22,8	31,0	21,6
	Ort ±Sh	32,56 ±1,53	26,26 ± 2,21	33,46 ± 1,38	24,40 ± 1,40
Düşük kaliteli	1	21,5	14,8	21,6	15,2
	11	18,4	12,4	19,0	12,2
	15	17,6	12,8	17,0	12,4
	Ort ±Sh	19,16 ± 1,18	13,33 ± 0,74	19,20 ± 1,33	13,26 ± 0,96

## 4.5. Proteomik Analiz Bulguları

### 4.5.1. Buzağı Serum Proteomik Analiz Bulguları

Proteomik analizler sonunda tespit edilen proteinler Uniprot ve Ref Seq NCBI veri tabanlarına göre ayrı ayrı taranmıştır. Uniprot veri tabanına göre tarandığında Grup 1’de 4’ü anlamlı olmak üzere 83 protein, Grup 2’de 5’i anlamlı olmak üzere 93 protein ve Grup 3’te hiçbiri anlamlı değişim göstermemekle birlikte 99 protein tanımlanmıştır.





Proteomik analizler sonucu tespit edilen proteinlerin NCBI Ref Seq veri tabanına göre değerlendirildiğinde Grup 1’de 10 tanesi anlamlı olmak üzere 235 protein, Grup 2’de 8 tanesi anlamlı olmak üzere 234 protein saptanmış ve Grup 3’te ise 2 tanesi anlamlı değişim gösteren 229 adet protein saptanmıştır. Ancak bulguların detaylandırılmasında *Bos taurus*’a spesifik olması anlamında Uniprot verileri esas alınmıştır. Proteomik analizler sonucu tespit edilen proteinlerin Uniprot veri tabanına göre değerlendirilmiş hali aşağıda sunulmuştur.

Her bir tedavi grubu kendi içinde tedavi öncesi (0. gün) ve 3. günleri değerlendirildiğinde saptanan değişiklikler aşağıda sunulmuştur.

Grup 1’deki buzağuların serumlarında (0 ve 3. gün örneklerinde) 83 adet protein tanımlanmış olup, bu proteinlerin kütle/yük oranlarına (m/z) göre genel dağılımları Şekil 10’da gösterilmiştir. Grup 1’de tanımlanan 83 proteinden 4 tanesinin



**Tablo 16.** Grup 1'deki numunelerde istatistiksel düzeyde farklılık gösteren proteomların accession numaraları, peptid sayıları ve skorları (Anova  $p < 0,05$  ve değişim oranı  $> 1,2$ )

Accession	Peptides	Score	Anova (p)*	Fold	Tags	Description	Average Normalised Abundances	
							B GRUBU_0.GUN	B GRUBU_3.GUN
P34955	65 (60)	446.54	0.01	1.21		A1AT_BOVIN Alpha-1-antitrypsin OS=Bos taurus OX=9913 GN=SERPINA1 PE=1 SV=1	1.72e-006	1.42e-006
P63258	13 (1)	131.79	0.02	1.32		ACTG_BOVIN Actin_cytoplasmic 2 OS=Bos taurus OX=9913 GN=ACTG1 PE=1 SV=1	453.28	596.17
Q2K1T0	11 (10)	78.58	0.05	1.23		HP20_BOVIN Protein HP-20 homolog OS=Bos taurus OX=9913 PE=2 SV=1	2.85e-004	3.51e-004
P35541	4 (3)	26.21	0.02	2.16		SAA_BOVIN Serum amyloid A protein OS=Bos taurus OX=9913 GN=SAA1 PE=1 SV=2	4499.61	2082.13

**Tablo 17.** Grup 1'deki buzağılarda 0. günde, 3. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları (51 adet). En az 1,2 kat değişim gösteren ( $power > 0,57$ ) ilk 2 protein istatistiksel önemde farklı görülmüştür.

Accession No	Peptid sayısı	Değişim oranı	Protein tanımlama
P34955	65	1,21	A1AT_BOVIN Alpha-1-antitrypsin
P35541	4	2,16	SAA_BOVIN Serum amyloid A protein
P24627	12	1,11	TRFL_BOVIN Lactotransferrin
P28800	20	1,07	A2AP_BOVIN Alpha-2-antiplasmin
P06868	40	1,12	PLMN_BOVIN Plasminogen
P02070	19	1,63	HBB_BOVIN Hemoglobin subunit beta
Q28178	62	1,18	TSP1_BOVIN Thrombospondin-1
Q3MHN5	19	1,30	VTDB_BOVIN Vitamin D-binding protein
Q2TBU0	44	2,21	HPT_BOVIN Haptoglobin
Q3SZR3	18	1,34	A1AG_BOVIN Alpha-1-acid glycoprotein
P81644	12	1,14	APOA2_BOVIN Apolipoprotein A-II
P01966	22	1,77	HBA_BOVIN Hemoglobin subunit alpha
Q3SZV7	55	1,17	HEMO_BOVIN Hemopexin
P37141	6	1,47	GPX3_BOVIN Glutathione peroxidase 3
P02081	25	1,73	HBBF_BOVIN Hemoglobin fetal subunit beta
A6QPQ2	30	1,15	SPA38_BOVIN Serpin A3-8
O62644	3	1,17	LECT2_BOVIN Leukocyte cell-derived chemotaxin-2
P22226	1	1,54	CTHL1_BOVIN Cathelicidin-1
O46375	8	1,13	TTHY_BOVIN Transthyretin
P00735	48	1,06	THRB_BOVIN Prothrombin
P60712	13	1,06	ACTB_BOVIN Actin_cytoplasmic 1
P17690	21	1,07	APOH_BOVIN Beta-2-glycoprotein 1
P12763	24	1,07	FETUA_BOVIN Alpha-2-HS-glycoprotein
P50448	18	1,08	F12AI_BOVIN Factor XIIa inhibitor
Q9TTE1	49	1,22	SPA31_BOVIN Serpin A3-1
P07589	77	1,08	FINC_BOVIN Fibronectin
Q3ZCH5	5	1,10	ZA2G_BOVIN Zinc-alpha-2-glycoprotein
A217N3	21	1,09	SPA37_BOVIN Serpin A3-7
Q2TB10	22	1,13	LBP_BOVIN Lipopolysaccharide-binding protein

Q28065	29	1,10	C4BPA_BOVIN C4b-binding protein alpha chain
P56652	38	1,10	ITIH3_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3
Q29RU4	32	1,08	CO6_BOVIN Complement component C6
Q3T052	87	1,22	ITIH4_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4
P02672	24	1,06	FIBA_BOVIN Fibrinogen alpha chain
Q32L76	3	1,08	SAA4_BOVIN Serum amyloid A-4 protein
Q03247	21	1,03	APOE_BOVIN Apolipoprotein E
Q32KY0	3	1,18	APOD_BOVIN Apolipoprotein D
Q9N2I2	16	1,05	IPSP_BOVIN Plasma serine protease inhibitor
Q95121	24	1,04	PEDF_BOVIN Pigment epithelium-derived factor
Q28107	61	1,06	FA5_BOVIN Coagulation factor V
Q17Q89	4	1,10	PFD6_BOVIN Prefoldin subunit 6
Q2KJF1	25	1,01	A1BG_BOVIN Alpha-1B-glycoprotein
Q3ZEJ6	38	1,08	SPA33_BOVIN Serpin A3-3
Q9TT36	17	1,13	THBG_BOVIN Thyroxine-binding globulin
Q58D62	12	1,08	FETUB_BOVIN Fetuin-B
Q3ZC07	11	1,07	ACTC_BOVIN Actin_ alpha cardiac muscle 1
A2I7N1	30	1,05	SPA35_BOVIN Serpin A3-5
Q3MHN2	39	1,02	CO9_BOVIN Complement component C9
Q2UVX4	203	1,01	CO3_BOVIN Complement C3
Q7SIH1	182	1,02	A2MG_BOVIN Alpha-2-macroglobulin
P01044	24	1,04	KNG1_BOVIN Kininogen-1

**Tablo 18.** Grup 1'deki buzağılarda 3. günde, 0. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları (32 adet). En az 1,2 kat değişim gösteren (power>0,57) ilk 2 protein istatistiksel önemde farklı görülmüştür.

Accession No	Peptid sayısı	Değişim oranı	Protein tanımlama
P63258	13	1,31	ACTG_BOVIN Actin_ cytoplasmic 2
Q2KIT0	11	1,22	HP20_BOVIN Protein HP-20 homolog
Q2KIX7	4	1,17	HP251_BOVIN Protein HP-25 homolog 1
Q29RQ1	29	1,08	CO7_BOVIN Complement component C7
P17697	18	1,05	CLUS_BOVIN Clusterin
P33433	5	1,15	HRG_BOVIN Histidine-rich glycoprotein (Fragments)
P19034	3	1,08	APOC2_BOVIN Apolipoprotein C-II
Q3SX14	31	1,17	GELS_BOVIN Gelsolin
Q05443	5	1,05	LUM_BOVIN Lumican
Q3SZ57	3	1,12	FETA_BOVIN Alpha-fetoprotein
Q5E9N2	1	1,15	CNBP1_BOVIN Beta-catenin-interacting protein 1
Q32PJ2	55	1,07	APOA4_BOVIN Apolipoprotein A-IV
P41361	40	1,07	ANT3_BOVIN Antithrombin-III
P19035	10	1,09	APOC3_BOVIN Apolipoprotein C-III
Q28085	77	1,05	CFAH_BOVIN Complement factor H

P00978	14	1,03	AMBP_BOVIN Protein AMBP
Q2KIV9	5	1,05	C1QB_BOVIN Complement C1q subcomponent subunit B
Q5E9E3	8	1,03	C1QA_BOVIN Complement C1q subcomponent subunit A
A2I7N2	21	1,07	SPA36_BOVIN Serpin A3-6
Q2KIS7	3	1,03	TETN_BOVIN Tetranectin
P01030	56	1,01	CO4_BOVIN Complement C4 (Fragments)
O02659	7	1,00	MBL2_BOVIN Mannose-binding protein C
Q0VCX1	23	1,01	C1S_BOVIN Complement C1s subcomponent
P02769	112	1,00	ALBU_BOVIN Albumin
Q29437	11	1,03	AOCX_BOVIN Primary amine oxidase_ liver isozyme
Q29443	159	1,02	TRFE_BOVIN Serotransferrin
Q2KIU3	6	1,01	HP252_BOVIN Protein HP-25 homolog 2
P81187	60	1,02	CFAB_BOVIN Complement factor B
Q3Y5Z3	16	1,00	ADIPO_BOVIN Adiponectin
P15497	62	1,02	APOA1_BOVIN Apolipoprotein A-I
Q0VCM5	41	1,00	ITIH1_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1
P01045	24	1,01	KNG2_BOVIN Kininogen-2



Şekil 11. Grup 1’de Alpha-1-antiproteinase seviyesindeki değişim (3. günde down-regulasyon)

### Accession P35541

Description SAA\_BOVIN Serum amyloid A protein OS=Bos taurus OX=9913 GN=SAA1 PE=1 SV=2

Peptides 4 (3)

Score 26.21

Anova 0.02

Fold 2.16

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 12. Grup 1’de Serum amyloid A protein seviyesindeki değişim (3. günde down-regulasyon)

### Accession P63258

Description ACTG\_BOVIN Actin\_ cytoplasmic 2 OS=Bos taurus OX=9913 GN=ACTG1 PE=1 SV=1

Peptides 13 (1)

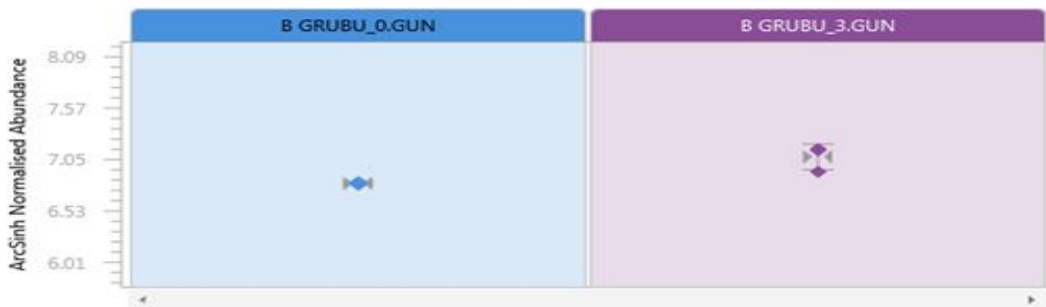
Score 131.79

Anova 0.02

Fold 1.32

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 13. Grup 1’de Actin cytoplasmic 2 seviyesindeki değişim (3. günde up-regulasyon)

## Accession Q2KIT0

Description HP20\_BOVIN Protein HP-20 homolog OS=Bos taurus OX=9913 PE=2 SV=1

Peptides 11 (10)

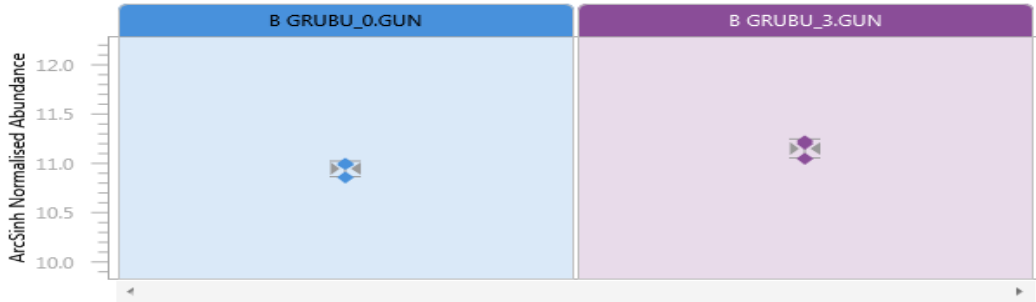
Score 78.58

Anova 0.05

Fold 1.23

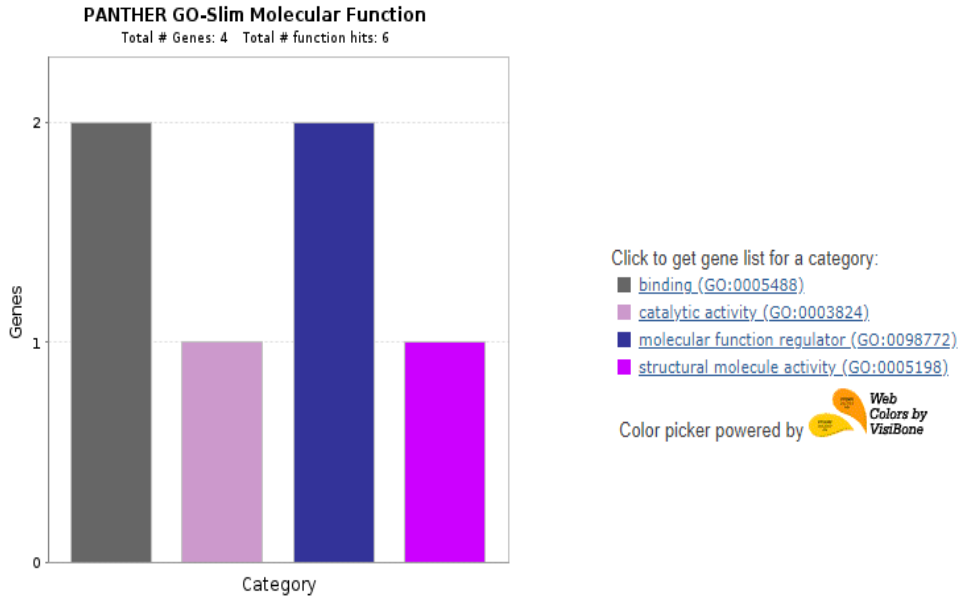
● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



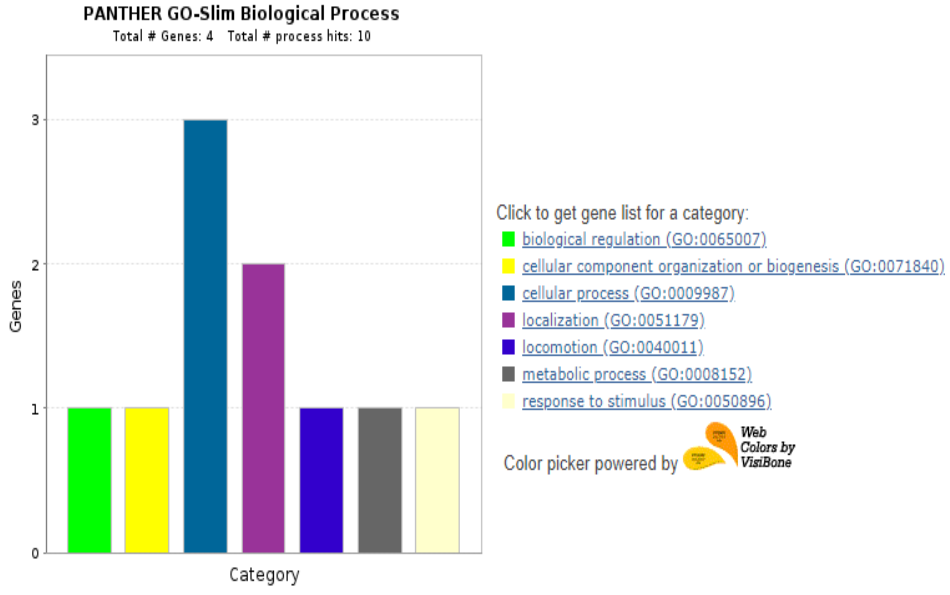
Şekil 14. Grup 1’de Protein HP-20 homolog seviyesindeki değişim (3. günde up-regulasyon)

Grup 1’de tespit edilen 83 proteinden anlamlı değişim gösteren proteomların (n=4) moleküler fonksiyonları ve dağılımları Şekil 15’te, biyolojik fonksiyonları ve dağılımları Şekil 16’da, sellüler yapılarıdaki dağılımları Şekil 17’de, yolak (pathway) analizleri Şekil 18’de ve protein sınıfları ise Şekil 19’da aktarılmıştır.

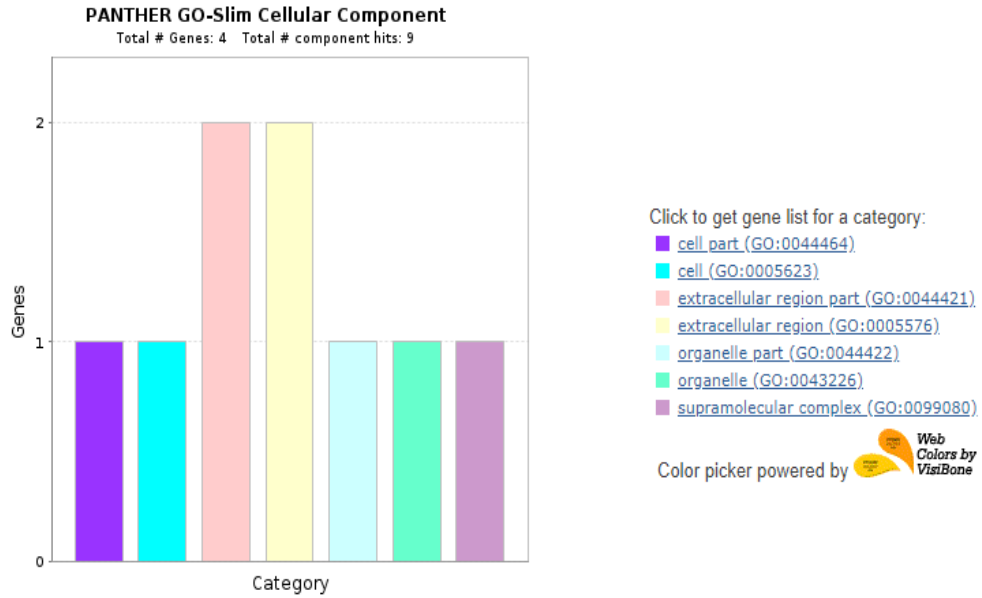


Şekil 15. Grup 1’deki anlamlı proteinlerin moleküler fonksiyonları





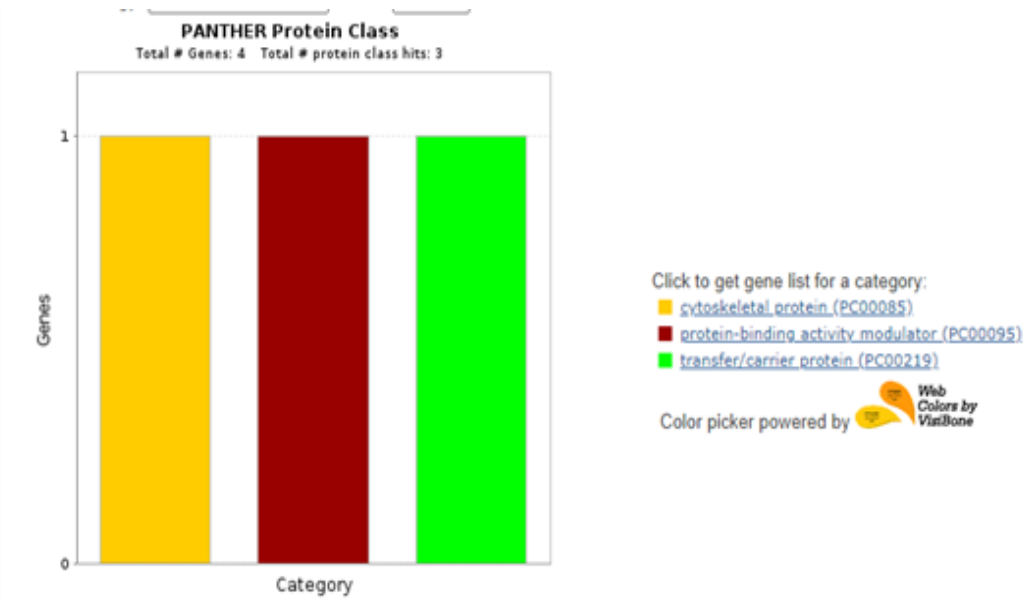
Şekil 16. Grup 1'deki anlamlı proteinlerin biyolojik işlevleri



Şekil 17. Grup 1'deki anlamlı proteinlerin sellüler yapılarıdaki dağılımları



Şekil 18. Grup 1'deki anlamlı proteinlerin protein yolları

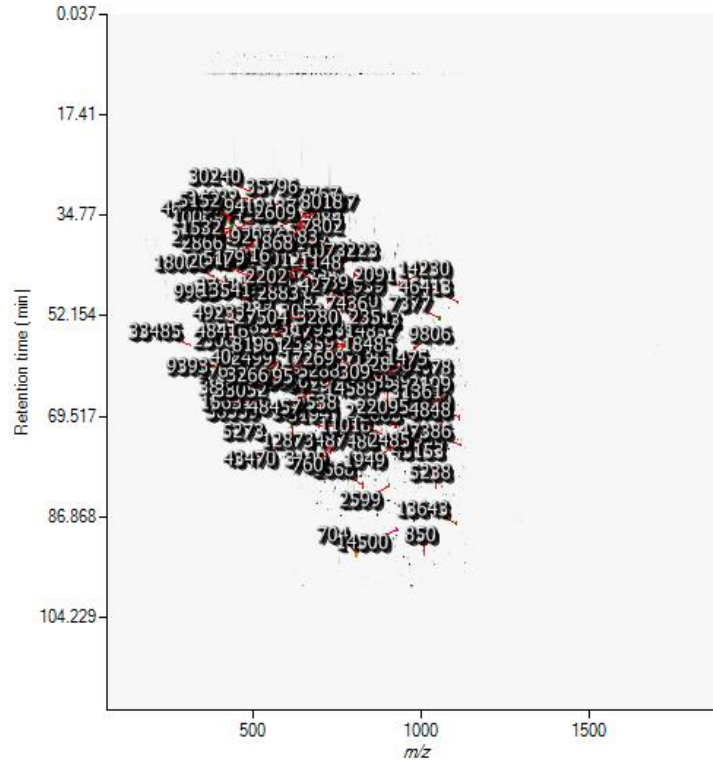


Şekil 19. Grup 1'deki anlamlı proteinlerin protein sınıflarındaki dağılımları

Grup 2'deki buzağların serumlarında (0 ve 3. gün örneklerinde) 93 adet protein tanımlanmış olup, bu proteinlerin kütle/yük oranlarına (m/z) göre genel

dağılımları Şekil 20’de gösterilmiştir. Grup 2’de tanımlanan proteinlerden 5 tanesinin (A1BG\_BOVIN : Alpha-1B-glycoprotein, S39AB\_BOVIN : Zinc transporter ZIP11, APOA4\_BOVIN : Apolipoprotein A-IV, CTHL1\_BOVIN : Cathelicidin-1, ACTB\_BOVIN : Actin\_cytoplasmic 1) günler arasında anlamlı değişiklik gösterdiği saptanmıştır (Tablo 19). Bu anlamda uygulanan tedaviyle birlikte 3. gün örneklerinde A1BG\_BOVIN (Şekil 21), S39AB\_BOVIN (Şekil 22), CTHL1\_BOVIN (Şekil 23) ve ACTB\_BOVIN (Şekil 24) adlı proteinlerinin down-regule olduğu, APOA4\_BOVIN proteininin ise up-regule olduğu saptanmıştır (Şekil 25).

Grup 2 de tespit edilen toplam 93 proteinin 4’ü anlamlı olmak üzere 53 tanesi 0. günde (Tablo 20), 1’i, anlamlı olmak üzere 38 tanesi 3. günde (Tablo 21) daha yüksek miktarlarda bulunurken, 2 proteinde (Oxytocin-neurophysin 1 ve Beta-catenin-interacting protein 1) ise 0 ve 3. gün numunelerinde yoğunluk olarak fark görülmemiştir.



**Şekil 20.** Bu çalışmada Grup 2’de izole edilen serum proteomlarının Bos taurus protein veri tabanına göre tanımlanması (accession numaraları) ve reaksiyon süresi ve kütle/yük oranlarına göre (m/z) genel dağılımları

**Tablo 19.** Grup 2'deki numunelerde istatistiksel düzeyde farklılık gösteren proteomların accession numaraları, peptid sayıları ve skorları (Anova  $p < 0,05$  ve değişim oranı  $> 1,2$ )

Accession	Peptides	Score	Anova (p)*	Fold	Tags	Description	Average Normalised Abundances	
							K GRUBU_0. GUN	K GRUBU_3. GUN
Q32PJ2	46 (45)	402.14	0.03	1.47		APOA4_BOVIN Apolipoprotein A-IV OS=Bos taurus OX=9913 GN=APOA4 PE=2 SV=1	2.13e+005	3.13e+005
Q2KJF1	25 (24)	168.67	0.02	1.35		A1BG_BOVIN Alpha-1B-glycoprotein OS=Bos taurus OX=9913 GN=A1BG PE=1 SV=1	1.44e+005	1.07e+005
P60712	17 (13)	135.27	0.05	1.62		ACTB_BOVIN Actin_cytoplasmic 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=ACTB PE=1 SV=1	1.52e+004	9399.76
P22226	2 (2)	24.36	0.04	1.98		CTHL1_BOVIN Cathelicidin-1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=CATHL1 PE=1 SV=2	3044.53	1535.25
Q2YDD4	1 (1)	12.78	0.02	1.29		S39AB_BOVIN Zinc transporter ZIP11 OS=Bos taurus OX=9913 GN=SLC39A11 PE=2 SV=1	7.85e+004	6.08e+004

**Tablo 20.** Grup 2'deki buzağılarda 0. günde, 3. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları (53 adet). En az 1,2 kat değişim gösteren (power  $> 0,57$ ) ilk 4 protein istatistiksel önemde farklı görülmüştür.

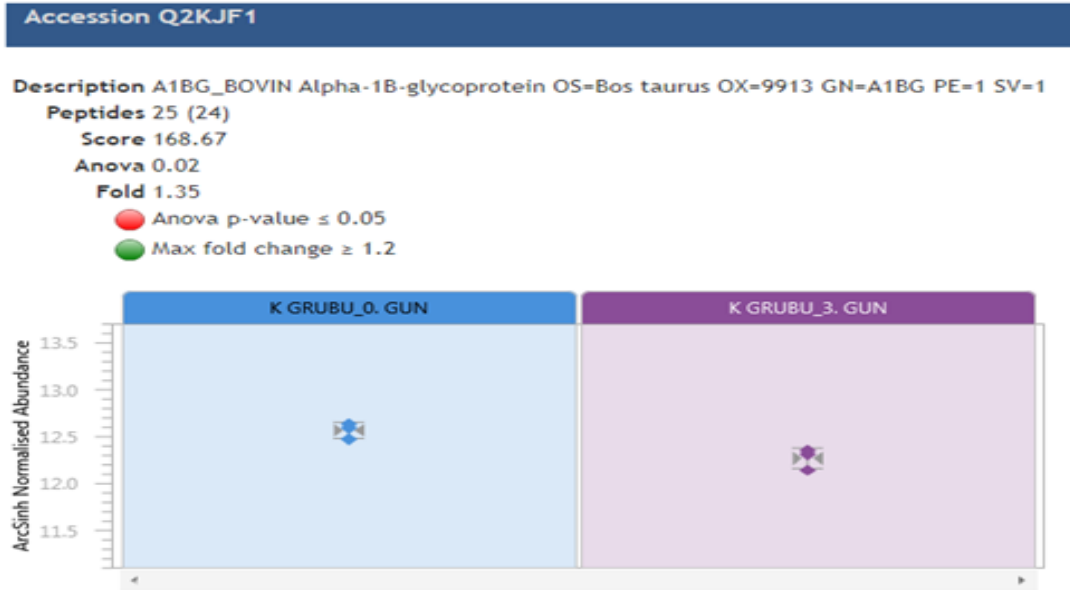
Accession No	Peptid sayısı	Değişim oranı	Protein tanımlama
Q2KJF1	25	1,34	A1BG_BOVIN Alpha-1B-glycoprotein
Q2YDD4	1	1,29	S39AB_BOVIN Zinc transporter ZIP11
P22226	2	1,98	CTHL1_BOVIN Cathelicidin-1
P34955	62	1,18	A1AT_BOVIN Alpha-1-antiproteinase
P60712	17	1,62	ACTB_BOVIN Actin_cytoplasmic 1
Q2TBU0	37	4,48	HPT_BOVIN Haptoglobin
Q32L76	6	1,22	SAA4_BOVIN Serum amyloid A-4 protein
P35541	6	1,71	SAA_BOVIN Serum amyloid A protein
P68138	7	2,39	ACTS_BOVIN Actin_alpha skeletal muscle
Q58D62	19	1,27	FETUB_BOVIN Fetuin-B
Q9TT36	14	1,08	THBG_BOVIN Thyroxine-binding globulin
P12763	29	1,20	FETUA_BOVIN Alpha-2-HS-glycoprotein
P01966	25	1,83	HBA_BOVIN Hemoglobin subunit alpha
P37141	7	1,36	GPX3_BOVIN Glutathione peroxidase 3
Q2TBI0	19	1,27	LBP_BOVIN Lipopolysaccharide-binding protein
Q3SZR3	16	1,18	A1AG_BOVIN Alpha-1-acid glycoprotein
P81265	12	1,23	PIGR_BOVIN Polymeric immunoglobulin receptor
P28800	14	1,15	A2AP_BOVIN Alpha-2-antiplasmin
P81644	10	1,22	APOA2_BOVIN Apolipoprotein A-II
Q7SIH1	168	1,06	A2MG_BOVIN Alpha-2-macroglobulin
P02081	22	1,55	HBBF_BOVIN Hemoglobin fetal subunit beta
P00735	49	1,09	THRB_BOVIN Prothrombin

P00978	10	1,16	AMBP_BOVIN Protein AMBP
Q32KY0	6	1,10	APOD_BOVIN Apolipoprotein D
Q3T052	90	1,13	ITIH4_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4
Q58DH8	2	1,16	FEN1_BOVIN Flap endonuclease 1
Q29443	137	1,11	TRFE_BOVIN Serotransferrin
Q3SZV7	59	1,16	HEMO_BOVIN Hemopexin
P24627	17	1,14	TRFL_BOVIN Lactotransferrin
Q3ZCH5	5	1,37	ZA2G_BOVIN Zinc-alpha-2-glycoprotein
Q2KJ83	6	1,09	CBPN_BOVIN Carboxypeptidase N catalytic chain
Q3MHN5	19	1,11	VTDB_BOVIN Vitamin D-binding protein
A6QPQ2	29	1,07	SPA38_BOVIN Serpin A3-8
Q0VCM5	39	1,06	ITIH1_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1
Q95121	20	1,05	PEDF_BOVIN Pigment epithelium-derived factor
Q29RU4	24	1,04	CO6_BOVIN Complement component C6
P07224	9	1,03	PROS_BOVIN Vitamin K-dependent protein S
Q9TTE1	42	1,07	SPA31_BOVIN Serpin A3-1
Q01229	1	1,13	B11_VACCW Protein B11
A2I7N1	21	1,10	SPA35_BOVIN Serpin A3-5
P50448	20	1,01	F12AI_BOVIN Factor XIIa inhibitor
P81187	60	1,02	CFAB_BOVIN Complement factor B
Q5E9F5	6	1,01	TAGL2_BOVIN Transgelin-2
Q3ZEJ6	37	1,02	SPA33_BOVIN Serpin A3-3
A2I7N0	24	2,33	SPA34_BOVIN Serpin A3-4
P01045	24	1,20	KNG2_BOVIN Kininogen-2
P12799	14	1,02	FIBG_BOVIN Fibrinogen gamma-B chain
Q2KIV9	5	1,01	C1QB_BOVIN Complement C1q subcomponent subunit B
P01044	27	1,00	KNG1_BOVIN Kininogen-1
Q2KIU3	6	1,03	HP252_BOVIN Protein HP-25 homolog
Q2KIT0	11	1,00	HP20_BOVIN Protein HP-20 homolog
A2I7N3	24	1,02	SPA37_BOVIN Serpin A3-7
Q03247	20	1,03	APOE_BOVIN Apolipoprotein E

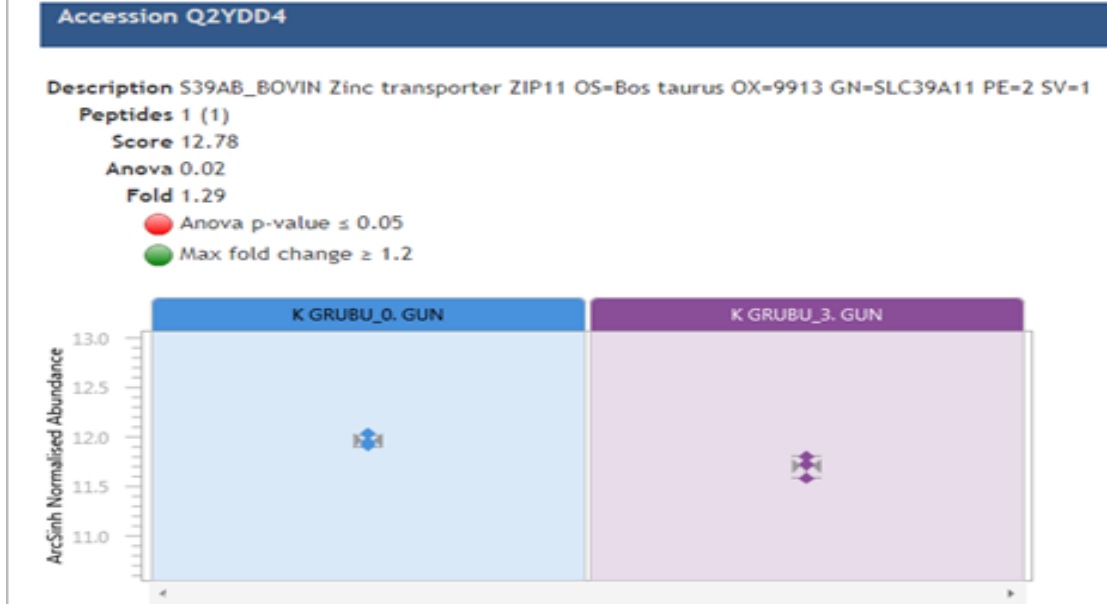
**Tablo 21.** Grup 2'deki buzağılarda 3. günde, 0. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları (38 adet). En az 1,2 kat değişim gösteren (power>0,57) ilk sıradaki Q32PJ2 adlı protein istatistiksel önemde farklı görülmüştür.

Accession No	Peptid sayısı	Değişim oranı	Protein tanımlama
Q32PJ2	46	1,46	APOA4_BOVIN Apolipoprotein A-IV
P41361	38	1,10	ANT3_BOVIN Antithrombin-III
O46375	9	1,30	TTHY_BOVIN Transthyretin
Q3T168	1	1,46	CYBP_BOVIN Calcyclin-binding protein
Q28065	31	1,16	C4BPA_BOVIN C4b-binding protein alpha chain
Q28178	62	1,11	TSP1_BOVIN Thrombospondin-1
P01030	55	1,11	CO4_BOVIN Complement C4 (Fragments)
P15497	74	1,09	APOA1_BOVIN Apolipoprotein A-I
P02769	121	1,09	ALBU_BOVIN Albumin
Q3SX14	31	1,13	GELS_BOVIN Gelsolin
Q3Y5Z3	17	1,24	ADIPO_BOVIN Adiponectin
P17697	20	1,09	CLUS_BOVIN Clusterin
Q0VCX1	27	1,14	C1S_BOVIN Complement C1s subcomponent
P56652	45	1,07	ITIH3_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3
P19035	11	1,23	APOC3_BOVIN Apolipoprotein C-III
P33433	5	1,21	HRG_BOVIN Histidine-rich glycoprotein (Fragments)
Q3SZ57	6	1,19	FETA_BOVIN Alpha-fetoprotein
O02659	6	1,05	MBL2_BOVIN Mannose-binding protein C
Q29RQ1	30	1,08	CO7_BOVIN Complement component C7
Q58CQ9	8	1,06	VNN1_BOVIN Pantetheinase
Q17Q89	2	1,10	PFD6_BOVIN Prefoldin subunit 6
O62644	1	1,10	LECT2_BOVIN Leukocyte cell-derived chemotaxin-2
P02676	14	1,39	FIBB_BOVIN Fibrinogen beta chain
Q05443	8	1,06	LUM_BOVIN Lumican
P02070	17	1,07	HBB_BOVIN Hemoglobin subunit beta
Q28085	75	1,05	CFAH_BOVIN Complement factor H
P07589	72	1,05	FINC_BOVIN Fibronectin
Q29437	12	1,06	AOCX_BOVIN Primary amine oxidase_liver isozyme
Q2UVX4	199	1,04	CO3_BOVIN Complement C3
Q2KIS7	2	1,07	TETN_BOVIN Tetranectin

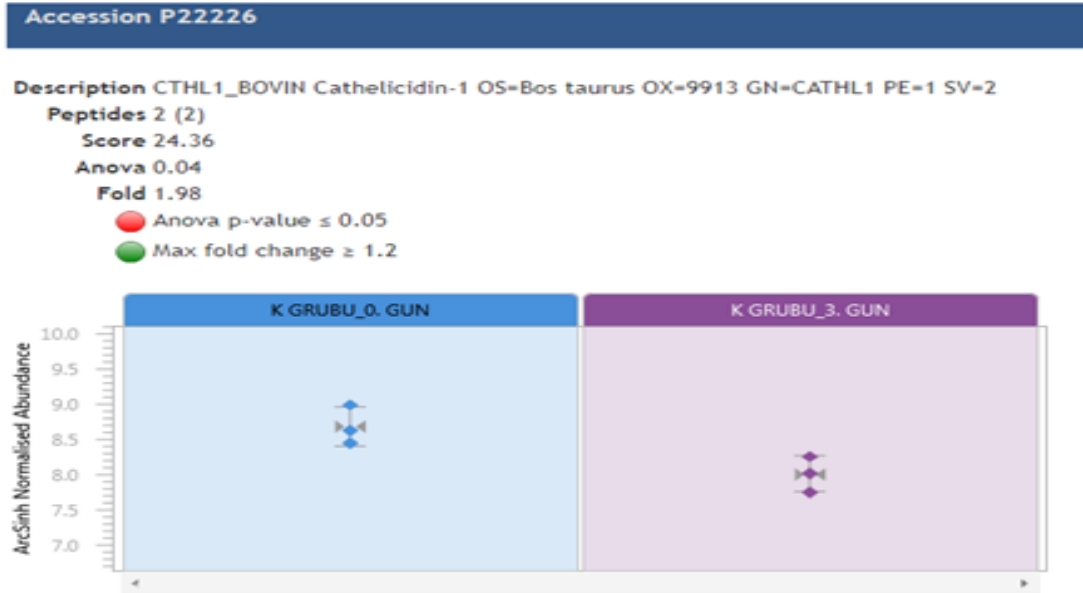
P02672	31	1,06	FIBA_BOVIN Fibrinogen alpha chain
A2I7N2	18	1,14	SPA36_BOVIN Serpin A3-6
Q9N2I2	16	1,02	IPSP_BOVIN Plasma serine protease inhibitor
Q3MHN2	33	1,02	CO9_BOVIN Complement component C9
Q5E9E3	8	1,03	C1QA_BOVIN Complement C1q subcomponent subunit A
P06868	36	1,05	PLMN_BOVIN Plasminogen
P17690	25	1,01	APOH_BOVIN Beta-2-glycoprotein 1
Q28107	70	1,00	FA5_BOVIN Coagulation factor V



Şekil 21. Grup 2’de Alpha-1B-glycoprotein seviyesindeki değişim (3. günde down-regulasyon)



Şekil 22. Grup 2'de Zinc transporter ZIP11 protein seviyesindeki değişim (3. günde down-regulasyon)



Şekil 23. Grup 2'de Cathelicidin-1 protein seviyesindeki değişim (3. günde down-regulasyon)





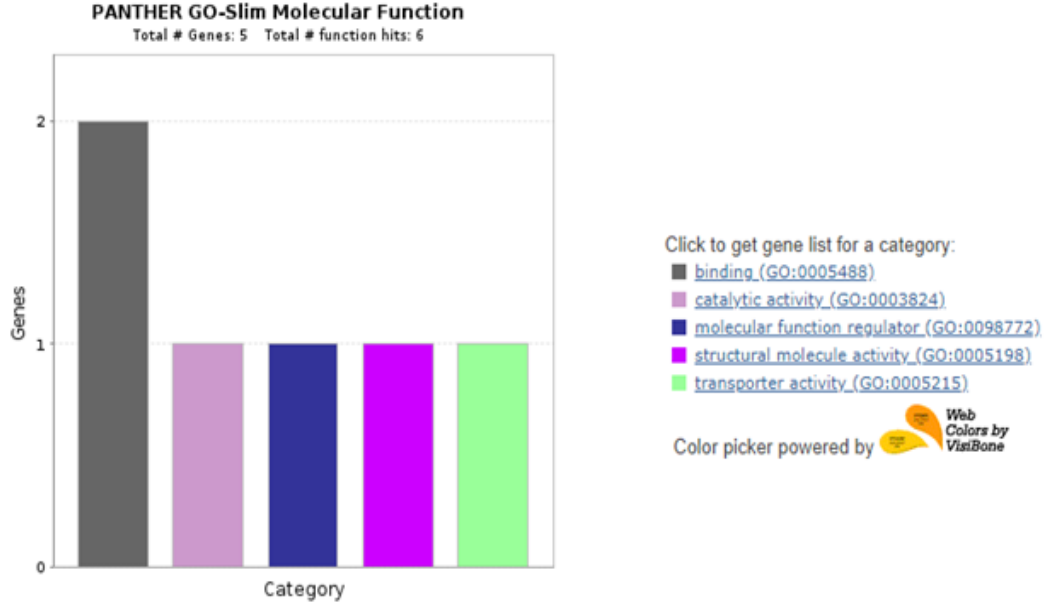
Şekil 24. Grup 2’de Actin-cytoplasmic 1 protein seviyesindeki değişim (3. günde down-regulasyon)



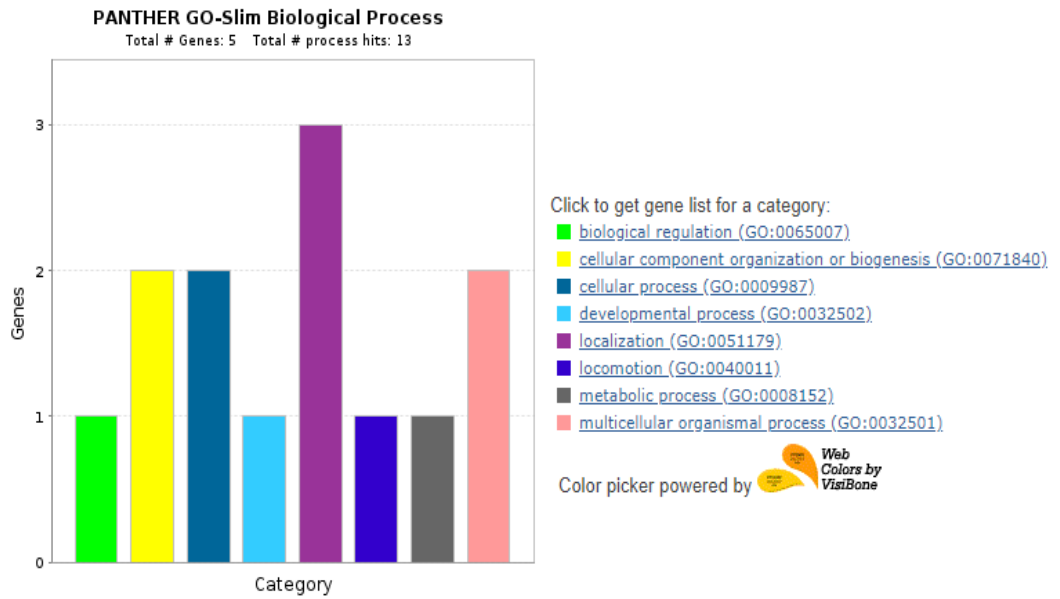
Şekil 25. Grup 2’de Apolipoprotein A-IV protein seviyesindeki değişim (3. günde up-regulasyon)

Grup 2’de tespit edilen 93 proteinden anlamlı değişim gösteren proteomların (n=5) moleküler fonksiyonları ve dağılımları Şekil 26’da, biyolojik fonksiyonları ve

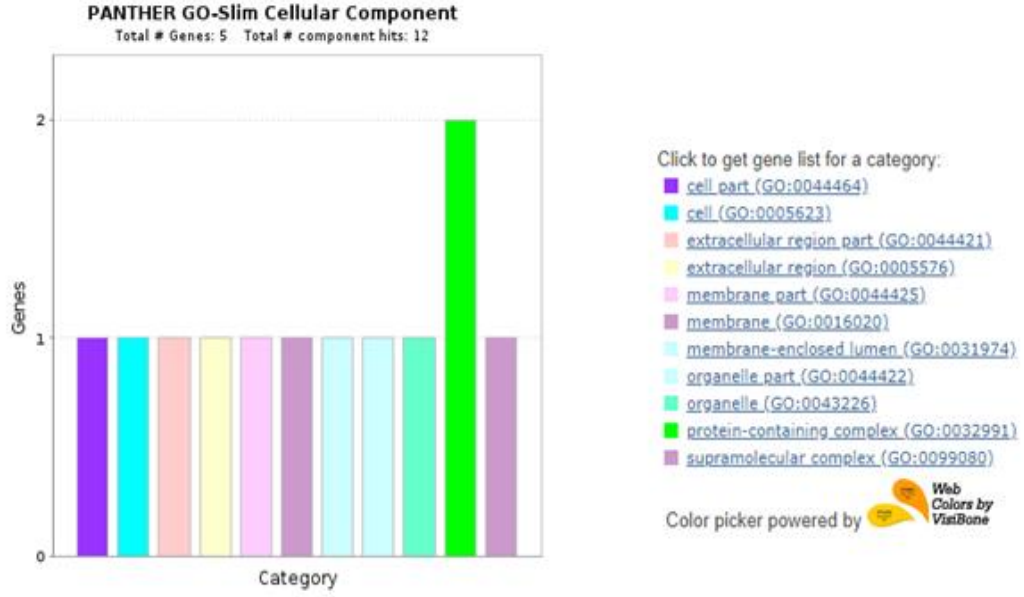
dağılımları Şekil 27’de, sellüler yapılarıdaki dağılımları Şekil 28’de, yolak (pathway) analizleri Şekil 29’da ve protein sınıfları da Şekil 30’da aktarılmıştır. Bu proteomların birbirleri ile olan etkileşimleri ise Şekil 31’de sunulmuştur.



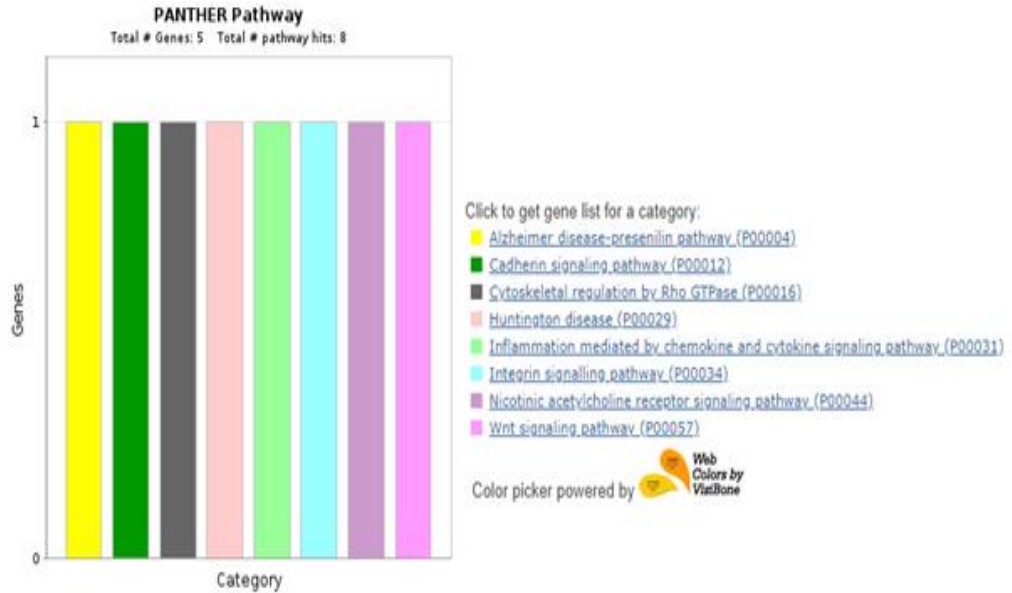
Şekil 26. Grup 2’deki anlamlı proteinlerin moleküler fonksiyonları



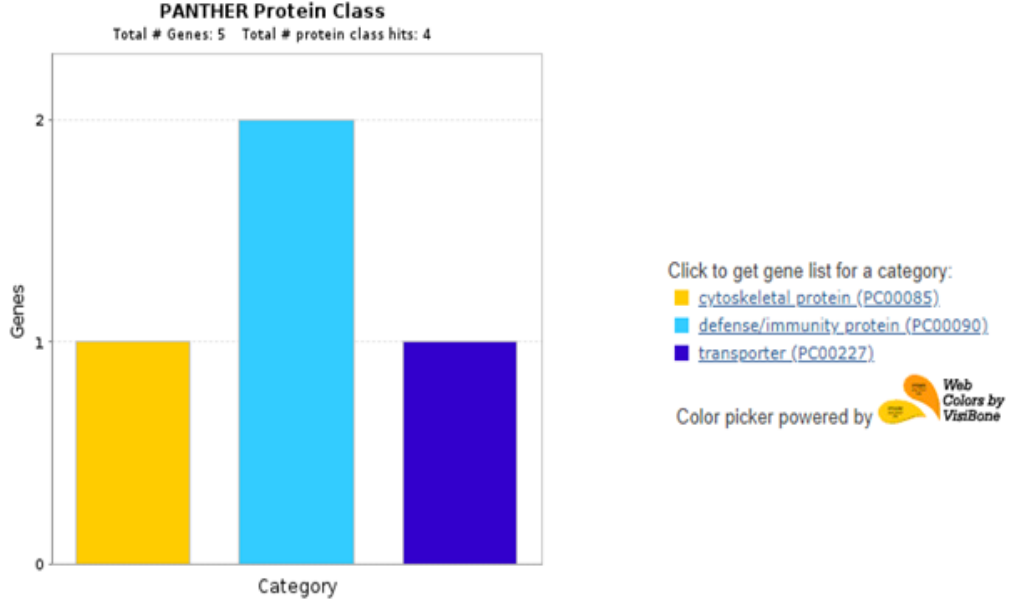
Şekil 27. Grup 2’deki anlamlı proteinlerin biyolojik işlevleri



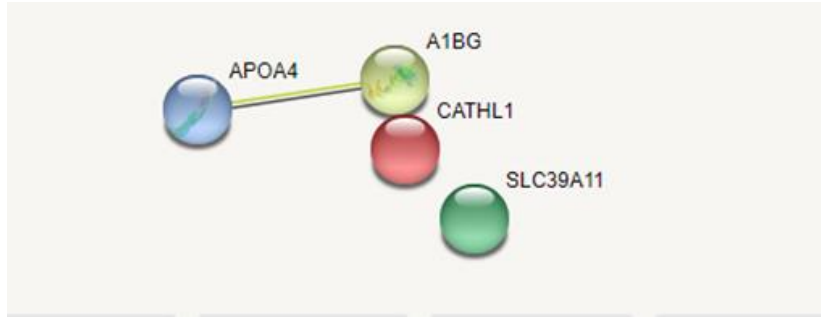
Şekil 28. Grup 2'deki anlamlı proteinlerin sellüler yapılarıdaki dağılımları



Şekil 29. Grup 2'deki anlamlı proteinlerin proteinlerin protein yolları



**Şekil 30.** Grup 2'deki anlamlı proteinlerin protein sınıflarındaki dağılımları



**Şekil 31.** Grup 2'deki anlamlı proteinlerin string analizi bulguları (APOA4: Apolipoprotein A-IV; A1BG: Alpha-1B-glycoprotein; CATHL1:unkarakterize protein SLC39A11: Zinc transporter ZIP11)

Grup 3'teki buzağuların serumlarında (0 ve 3. gün örneklerinde) 99 adet protein tanımlanmış olup, uygulanan tedavi ile herhangi bir proteinde anlamlı değişiklik saptanmamıştır. Hiçbir proteinde anlamlı değişiklik olmasa da Grup 3'te tanımlanan proteomlardan 40 adedinin 0. günde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu (Tablo 22), 59 adedinin ise 3. gün serumlarında daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu (Tablo 23) tespit edilmiştir.

**Tablo 22.** Grup 3'deki buzağılarda 0. günde, 3. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları (40 adet). Hiçbir proteinde istatistiksel önem saptanmamıştır.

Accession numarası	Peptid sayısı	Değişim oranı	Protein tanımlama
Q3MHN2	37	1,13	CO9_BOVIN Complement component C9
P12763	30	1,19	FETUA_BOVIN Alpha-2-HS-glycoprotein
Q5E9F5	6	1,06	TAGL2_BOVIN Transgelin-2
Q2KJF1	25	1,99	A1BG_BOVIN Alpha-1B-glycoprotein
P00741	7	1,63	FA9_BOVIN Coagulation factor IX
Q3SZV7	52	1,09	HEMO_BOVIN Hemopexin
P81265	16	1,13	PIGR_BOVIN Polymeric immunoglobulin receptor
P50448	19	1,06	F12AI_BOVIN Factor XIIIa inhibitor
Q32KY0	6	1,12	APOD_BOVIN Apolipoprotein D
Q3T004	1	1,38	SAMP_BOVIN Serum amyloid P-component
Q32L76	4	1,08	SAA4_BOVIN Serum amyloid A-4 protein
P22226	1	1,45	CTHL1_BOVIN Cathelicidin-1
A6BMK7	6	1,14	NEUR1_BOVIN Sialidase-1
Q2KIS7	3	1,14	TETN_BOVIN Tetranectin
Q3ZBJ6	2	1,09	BEX3_BOVIN Protein BEX3
Q95121	24	1,05	PEDF_BOVIN Pigment epithelium-derived factor
Q2TBU0	34	1,31	HPT_BOVIN Haptoglobin
Q5E9N2	1	1,15	CNBP1_BOVIN Beta-catenin-interacting protein 1
Q58D62	11	1,08	FETUB_BOVIN Fetuin-B
P17690	23	1,03	APOH_BOVIN Beta-2-glycoprotein 1
P01030	67	1,03	CO4_BOVIN Complement C4 (Fragments)
P19035	8	1,13	APOC3_BOVIN Apolipoprotein C-III
Q29RU4	42	1,04	CO6_BOVIN Complement component C6
P15497	72	1,05	APOA1_BOVIN Apolipoprotein A-I
P00735	52	1,02	THRB_BOVIN Prothrombin
Q28178	57	1,08	TSP1_BOVIN Thrombospondin-1
Q32PJ2	51	1,04	APOA4_BOVIN Apolipoprotein A-IV
Q9XSC6	6	1,01	KCRM_BOVIN Creatine kinase M-type
Q0VCX1	28	1,04	C1S_BOVIN Complement C1s subcomponent
Q3SZR3	17	1,04	A1AG_BOVIN Alpha-1-acid glycoprotein

Q29RQ1	38	1,03	CO7_BOVIN Complement component C7
P63171	2	1,16	DYLT1_BOVIN Dynein light chain Tctex-type 1
Q2KIV9	7	1,01	C1QB_BOVIN Complement C1q subcomponent subunit B
P01035	1	1,00	CYTC_BOVIN Cystatin-C
P33433	6	1,02	HRG_BOVIN Histidine-rich glycoprotein (Fragments)
Q2TBI0	21	1,01	LBP_BOVIN Lipopolysaccharide-binding protein
Q29443	137	1,01	TRFE_BOVIN Serotransferrin
P37141	7	1,01	GPX3_BOVIN Glutathione peroxidase 3
P28800	21	1,00	A2AP_BOVIN Alpha-2-antiplasmin
Q9TT36	17	1,00	THBG_BOVIN Thyroxine-binding globulin

**Tablo 23.** Grup 3'deki buzağılarda 3. günde, 0. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları (59 adet). Hiçbir proteinde istatistiksel önem saptanmamıştır.

P60712	14	1,29	ACTB_BOVIN Actin_cytoplasmic 1
P06868	46	1,21	PLMN_BOVIN Plasminogen
P68138	10	1,13	ACTS_BOVIN Actin_alpha skeletal muscle
P81644	12	1,31	APOA2_BOVIN Apolipoprotein A-II
Q03247	19	1,06	APOE_BOVIN Apolipoprotein E
Q17Q89	1	2,00	PFD6_BOVIN Prefoldin subunit 6
P07224	7	1,07	PROS_BOVIN Vitamin K-dependent protein S
Q3MHN5	24	1,24	VTDB_BOVIN Vitamin D-binding protein
Q5E9E3	7	1,09	C1QA_BOVIN Complement C1q subcomponent subunit A
Q32KU3	2	1,16	MORN2_BOVIN MORN repeat-containing protein 2
Q2KJ83	11	1,10	CBPN_BOVIN Carboxypeptidase N catalytic chain
P00978	11	1,23	AMBP_BOVIN Protein AMBP
P41361	40	1,09	ANT3_BOVIN Antithrombin-III
Q3ZCH5	4	1,06	ZA2G_BOVIN Zinc-alpha-2-glycoprotein
Q2UVX4	229	1,13	CO3_BOVIN Complement C3
P81187	57	1,07	CFAB_BOVIN Complement factor B
P17697	18	1,23	CLUS_BOVIN Clusterin
A6QPH8	2	3,01	YPEL3_BOVIN Protein yippe-like 3

P01044	21	1,09	KNG1_BOVIN Kininogen-1
P19034	2	1,30	APOC2_BOVIN Apolipoprotein C-II
Q2KIX7	6	1,15	HP251_BOVIN Protein HP-25 homolog 1
A2I7N3	26	1,05	SPA37_BOVIN Serpin A3-7
Q28065	32	1,44	C4BPA_BOVIN C4b-binding protein alpha chain
P01966	16	1,32	HBA_BOVIN Hemoglobin subunit alpha
Q9TTE1	46	1,03	SPA31_BOVIN Serpin A3-1
A2I7N0	30	1,06	SPA34_BOVIN Serpin A3-4
Q3ZEJ6	41	1,06	SPA33_BOVIN Serpin A3-3
O62644	1	1,12	LECT2_BOVIN Leukocyte cell-derived chemotaxin-2
Q29437	21	1,43	AOCX_BOVIN Primary amine oxidase_ liver isozyme
A6QPQ2	37	1,09	SPA38_BOVIN Serpin A3-8
O02659	10	1,12	MBL2_BOVIN Mannose-binding protein C
O46375	9	1,07	TTHY_BOVIN Transthyretin
Q7SIH1	182	1,04	A2MG_BOVIN Alpha-2-macroglobulin
P56652	52	1,26	ITIH3_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3
Q2KIT0	11	1,15	HP20_BOVIN Protein HP-20 homolog
Q3SX14	36	1,20	GELS_BOVIN Gelsolin
Q2KIU3	7	1,14	HP252_BOVIN Protein HP-25 homolog 2
P02081	22	1,16	HBBF_BOVIN Hemoglobin fetal subunit beta
Q28107	79	1,06	FA5_BOVIN Coagulation factor V
Q28085	83	1,06	CFAH_BOVIN Complement factor H
A6QPI6	1	1,15	TOM22_BOVIN Mitochondrial import receptor subunit TOM22 homolog
P01045	23	1,04	KNG2_BOVIN Kininogen-2
P02769	108	1,03	ALBU_BOVIN Albumin
P24627	9	1,03	TRFL_BOVIN Lactotransferrin
P80724	1	1,06	BASP1_BOVIN Brain acid soluble protein 1
Q3SZ57	15	1,04	FETA_BOVIN Alpha-fetoprotein
P07589	87	1,03	FINC_BOVIN Fibronectin
Q0VCM5	48	1,03	ITIH1_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1
Q58CQ9	5	1,15	VNN1_BOVIN Pantetheinase
P02070	20	1,09	HBB_BOVIN Hemoglobin subunit beta
Q9N2I2	13	1,03	IPSP_BOVIN Plasma serine protease inhibitor
P35541	5	1,15	SAA_BOVIN Serum amyloid A protein

A2I7N2	23	1,03	SPA36_BOVIN Serpin A3-6
Q3Y5Z3	15	1,06	ADIPO_BOVIN Adiponectin
A2I7N1	31	1,01	SPA35_BOVIN Serpin A3-5
P02672	20	1,00	FIBA_BOVIN Fibrinogen alpha chain
P34955	64	1,00	A1AT_BOVIN Alpha-1-antitrypsin
Q05443	7	1,00	LUM_BOVIN Lumican
Q3T052	80	1,00	ITIH4_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4

#### 4.5.2. Kolostrum Proteomik Analiz Bulguları

Kolostrum örneklerinden elde edilen proteinler, aynı serum örneklerinde olduğu gibi Uniprot ve NCBI Ref Seq olmak üzere iki farklı veri tabanına göre tanımlanmıştır. Bu anlamda NCBI Ref Seq veri tabanına göre kolostrum örneklerinde 221 adet protein tanımlanmış, bunların 54 adedinin anlamlı olduğu belirlenmiştir. Anlamlı proteinlerden 35 tanesinin yüksek kaliteli kolostrumlarda, 19 tanesinin ise düşük kaliteli kolostrum örneklerinde daha fazla bulunduğu saptanmıştır. Bulguların yorumlanması ve tartışmanın kurulumu yine *Bos taurus*'a spesifik olması anlamında Uniprot verileri üzerine kurulmuştur.

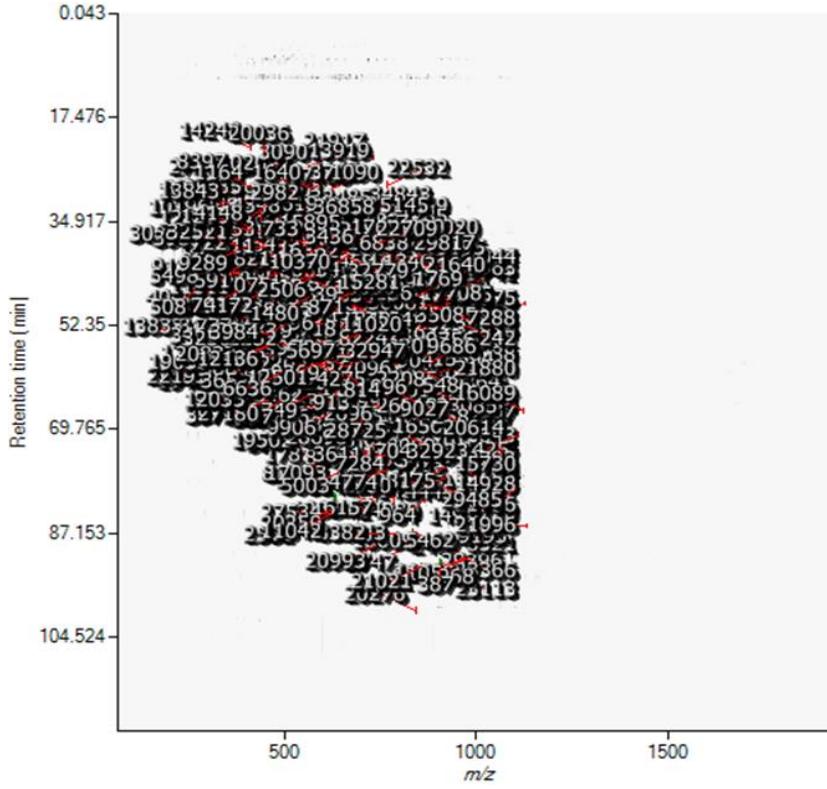
Kolostrum örneklerinde Uniprot veri tabanına göre 95 protein tanımlanmış olup, bunlardan 19 adedinin (anova<0,05; değişim oranı  $\geq 1,2$ ; power>0,57 olanlar) anlamlı olduğu belirlenmiştir (Tablo 24). Kolostrumlardan izole edilen proteomların *Bos taurus* protein veri tabanına göre tanımlanması (accession numaraları) ve reaksiyon süresi ve kütle/yük oranlarına göre (m/z) genel dağılımları Şekil 32'de, PCA grafikleri ise Şekil 33'de sunulmuştur. Anlamlı değişim gösteren 19 proteinin erişim numaraları, peptid sayıları ve skorları Tablo 24'te gösterilmiştir.

Kolostrum örneklerinde tanımlanan 95 proteinin, 11'i anlamlı olmak üzere 57'sinin düşük kaliteli kolostrumlarda (Tablo 25) ve 8'i anlamlı olmak üzere 37 tanesinin yüksek kaliteli kolostrumlarda (Tablo 26) daha fazla konsantrasyonlarda bulunduğu, SPA34\_BOVIN Serpin A3-4 adlı proteomun ise yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda eşit yoğunlukta bulunduğu tespit edilmiştir.

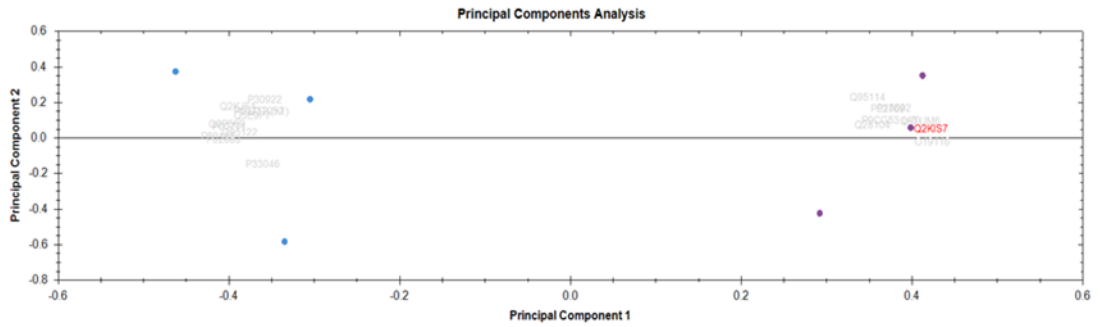


Anlamli değişim gösteren proteinlerden yüksek kaliteli ve düşük kaliteli kolostrum örneklerinde daha fazla bulunan proteinler karşılaştırmalı olarak Tablo 27’de sunulmuştur. Kolostrum numunelerinde anlamlı değişim gösteren proteinlerden düşük kaliteli kolostrumda miktarı daha fazla olan proteinler, BOVIN Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 (GLCM1) (Şekil 34), BOVIN Cofilin-1 (COF1) (Şekil 35), BOVIN Alpha-S2-casein (CASA2) (Şekil 36), BOVIN Alpha-lactalbumin (LALBA) (Şekil 37), BOVIN Alpha-1B-glycoprotein (A1BG) (Şekil 38), BOVIN Actin\_ cytoplasmic 1 (ACTB) (Şekil 39), BOVIN Nucleobindin-1 (NUCB1) (Şekil 40), BOVIN Cathelicidin-4 (CTHL4) (Şekil 41), BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 (ITIH4) (Şekil 42), BOVIN Chitinase-3-like protein 1 (CH3LI) (Şekil 43) ve BOVIN Monocyte differentiation antigen CD14 (CD14) (Şekil 44); yüksek kaliteli kolostrumda miktarı daha fazla olan proteinler ise BOVIN Tetranectin (TETN) (Şekil 45), BOVIN Secreted frizzled-related protein 1 (SFRP1) (Şekil 46), BOVIN Perilipin-2 (PLIN2) (Şekil 47), BOVIN Coatomer subunit epsilon (COPE) (Şekil 48), BOVIN Butyrophilin subfamily 1 member A1 (BT1A1) (Şekil 49), BOVIN Polyubiquitin-B (UBB) (Şekil 50), BOVIN Lactadherin (MFGM) (Şekil 51) ve BOVIN Albumin (ALBU) (Şekil 52) olarak belirlenmiştir.

Uniprot veri tabanına göre anlamlı değişim gösteren proteinlerden Cathelicidin-4 ve Cofilin-1 adlı proteinlerin sırasıyla 26,01 ve 17,42 kat artış ile düşük kaliteli kolostrumlarda en fazla artış gösteren iki protein olduğu tespit edilmiştir. Yüksek kaliteli kolostrumlarda daha fazla bulunan ve anlamlı değişim gösteren proteinlerden ise Coatomer subunit epsilon ve Tetranectin’in sırasıyla 3,37 ve 3,07 değişim oranları (max fold) ile en fazla artış gösteren iki protein olduğu saptanmıştır.



**Şekil 32:** Bu çalışmada izole edilen kolostrum proteomlarının *Bos taurus* protein veri tabanına göre tanımlanması (accession numaraları) ve reaksiyon süresi ve kütle/yük oranlarına göre (m/z) genel dağılımları



**Şekil 33.** Yüksek kaliteli (mor noktalar) ve düşük kaliteli (mavi noktalar) kolostrum numunelerinin PCA grafiği

**Tablo 24.** Yüksek ve düşük kaliteli kolostrum numunelerinde istatistiksel düzeyde farklılık gösteren proteomların accession numaraları, peptid sayıları ve skorları (Anova  $p < 0,05$  ve değişim oranı  $> 1,2$ )

Accession	Peptides	Score	Anova (p)*	Fold	Tags	Description	Average Normalised Abundances	
							Düşük Kalite	Yüksek Kalite
P02769	76 (75)	593.97	0.05	1.70	🍎	ALBU_BOVIN Albumin OS=Bos taurus OX=9913 GN=ALB PE=1 SV=4	5.07e+005	8.61e+005
Q95114	39 (39)	307.58	0.04	1.65	🍎	MFGM_BOVIN Lactadherin OS=Bos taurus OX=9913 GN=MFG8B PE=1 SV=2	1.87e+005	3.07e+005
P18892	30 (28)	237.76	0.02	1.89	🍎	BT1A1_BOVIN Butyrophilin subfamily 1 member A1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=BTN1A1 PE=1 SV=2	5.13e+004	9.69e+004
Q0P569	31 (28)	234.64	0.02	1.34	🍎	NUCB1_BOVIN Nucleobindin-1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=NUCB1 PE=1 SV=1	3.04e+004	2.27e+004
P02663	34 (33)	212.60	0.02	3.20	🍎	CASA2_BOVIN Alpha-S2-casein OS=Bos taurus OX=9913 GN=CSN1S2 PE=1 SV=2	1.15e+006	3.59e+005
Q3T052	26 (24)	199.56	0.03	1.67	🍎	ITIH4_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 OS=Bos taurus OX=9913 GN=ITIH4 PE=1 SV=1	5.17e+004	3.09e+004
P60712	16 (8)	150.01	0.02	1.43	🍎	ACTB_BOVIN Actin_cytoplasmic 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=ACTB PE=1 SV=1	3.05e+004	2.13e+004
P00711	16 (16)	134.26	0.02	2.52	🍎	LALBA_BOVIN Alpha-lactalbumin OS=Bos taurus OX=9913 GN=LALBA PE=1 SV=2	3.78e+005	1.50e+005
Q9TUM6	16 (16)	115.45	4.93e-003	2.45	🍎	PLIN2_BOVIN Perilipin-2 OS=Bos taurus OX=9913 GN=PLIN2 PE=2 SV=1	6837.85	1.67e+004
Q2KJF1	17 (17)	111.64	0.02	2.05	🍎	A1BG_BOVIN Alpha-1B-glycoprotein OS=Bos taurus OX=9913 GN=A1BG PE=1 SV=1	1.12e+005	5.45e+004
P80195	10 (9)	91.94	9.26e-003	3.51	🍎	GLCM1_BOVIN Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=GLYCAM1 PE=1 SV=2	5.28e+004	1.50e+004
P30922	10 (9)	65.08	0.03	1.84	🍎	CH3L1_BOVIN Chitinase-3-like protein 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=CH3L1 PE=1 SV=3	3.78e+004	2.05e+004
Q95122	7 (7)	44.95	0.04	1.73	🍎	CD14_BOVIN Monocyte differentiation antigen CD14 OS=Bos taurus OX=9913 GN=CD14 PE=2 SV=2	6081.99	3510.31
Q2KJ57	3 (3)	27.47	1.67e-003	3.07	🍎	TETN_BOVIN Tetranectin OS=Bos taurus OX=9913 GN=CLEC3B PE=2 SV=1	2.84e+004	8.71e+004
P33046	3 (3)	20.96	0.03	26.02	🍎	CTHL4_BOVIN Cathelicidin-4 OS=Bos taurus OX=9913 GN=CATHL4 PE=1 SV=1	1590.87	61.15
Q5E9F7	2 (1)	18.89	0.01	17.43	🍎	COF1_BOVIN Cofilin-1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=CFL1 PE=2 SV=3	4.77e+004	2738.97
P0CG53	2 (2)	14.16	0.03	2.85	🍎	UBB_BOVIN Polyubiquitin-B OS=Bos taurus OX=9913 GN=UBB PE=1 SV=1	2460.55	7008.36
O19116	1 (1)	10.85	2.34e-003	1.48	🍎	SFRP1_BOVIN Secreted frizzled-related protein 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=SFRP1 PE=2 SV=1	9694.09	1.43e+004
Q28104	1 (1)	5.64	0.02	3.37	🍎	COPE_BOVIN Coatomer subunit epsilon OS=Bos taurus OX=9913 GN=COPE PE=1 SV=3	7013.14	2.37e+004

**Tablo 25.** Düşük kaliteli kolostrum örneklerinde daha yüksek oranda bulunan proteinler (57 adet). En az 1,2 kat değişim gösteren (power $>0,57$ ) ilk 11 protein istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur.

Accession	Değişim oranı	Protein tanımı
P80195	3,50	GLCM1_BOVIN Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1
Q5E9F7	17,42	COF1_BOVIN Cofilin-1
P02663	3,19	CASA2_BOVIN Alpha-S2-casein
P00711	2,51	LALBA_BOVIN Alpha-lactalbumin
Q2KJF1	2,05	A1BG_BOVIN Alpha-1B-glycoprotein
P60712	1,42	ACTB_BOVIN Actin_cytoplasmic 1
Q0P569	1,33	NUCB1_BOVIN Nucleobindin-1
P33046	26,01	CTHL4_BOVIN Cathelicidin-4
Q3T052	1,67	ITIH4_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4
P30922	1,84	CH3L1_BOVIN Chitinase-3-like protein 1
Q95122	1,73	CD14_BOVIN Monocyte differentiation antigen CD14
P22226	3,07	CTHL1_BOVIN Cathelicidin-1
O02853	2,85	PTGDS_BOVIN Prostaglandin-H2 D-isomerase
Q8SPP7	2,74	PGRP1_BOVIN Peptidoglycan recognition protein 1
P02668	1,39	CASK_BOVIN Kappa-casein
Q2TBU0	2,29	HPT_BOVIN Haptoglobin
Q0VCX2	2,32	BIP_BOVIN Endoplasmic reticulum chaperone BiP
P10894	2,13	PLCB1_BOVIN 1-phosphatidylinositol 4_5-bisphosphate phosphodiesterase beta-1
P63292	1,33	SLIB_BOVIN Somatoliberin
P80025	2,11	PERL_BOVIN Lactoperoxidase
A6QPQ2	1,39	SPA38_BOVIN Serpin A3-8

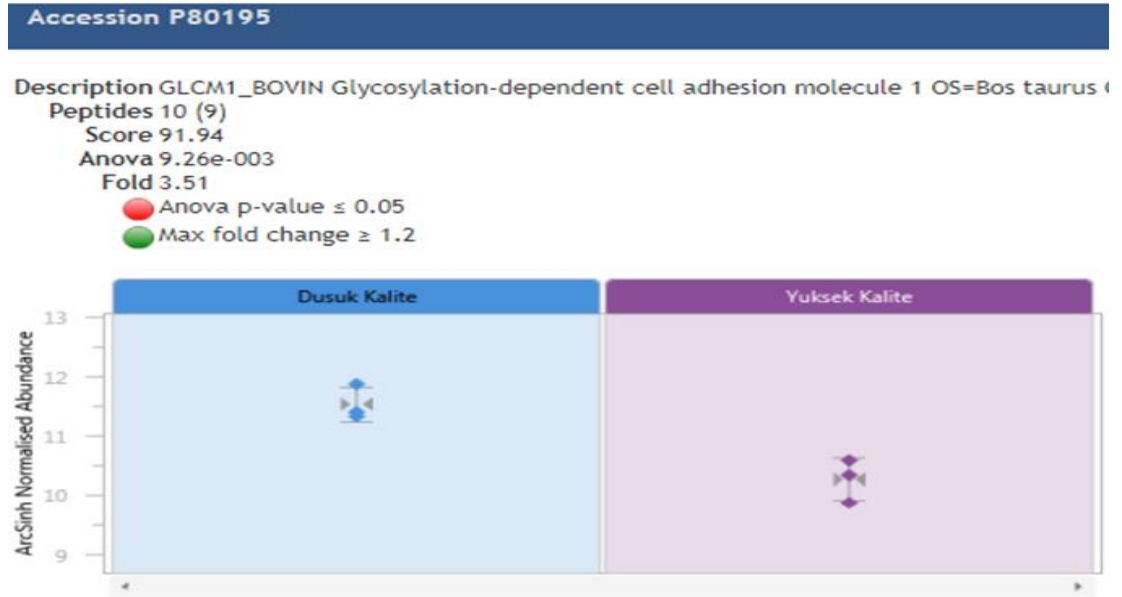
A0JNP2	4,23	SG1D_BOVIN Secretoglobin family 1D member
Q3SZV7	1,18	HEMO_BOVIN Hemopexin
P01045	1,31	KNG2_BOVIN Kininogen-2
P02662	1,16	CASA1_BOVIN Alpha-S1-casein
Q9TU23	1,63	CE290_BOVIN Centrosomal protein of 290 kDa (Fragment)
P26201	1,22	CD36_BOVIN Platelet glycoprotein 4
A8YXY3	1,24	SEP15_BOVIN Selenoprotein F
A2I7N2	1,90	SPA36_BOVIN Serpin A3-6
P15467	1,14	RNAS4_BOVIN Ribonuclease 4
P50448	1,46	F12AI_BOVIN Factor XIIIa inhibitor
P02070	4,73	HBB_BOVIN Hemoglobin subunit beta
P80457	1,74	XDH_BOVIN Xanthine dehydrogenase/oxidase
Q29443	1,14	TRFE_BOVIN Serotransferrin
Q29437	1,30	AOCX_BOVIN Primary amine oxidase_ liver isozyme
P02666	1,10	CASB_BOVIN Beta-casein
Q3ZCH5	1,10	ZA2G_BOVIN Zinc-alpha-2-glycoprotein
Q2TBI0	1,15	LBP_BOVIN Lipopolysaccharide-binding protein
P68103	Infinity	EF1A1_BOVIN Elongation factor 1-alpha 1
Q3ZEJ6	31,78	SPA33_BOVIN Serpin A3-3
P15497	1,11	APOA1_BOVIN Apolipoprotein A-I
Q7SIH1	1,09	A2MG_BOVIN Alpha-2-macroglobulin
P30932	1,38	CD9_BOVIN CD9 antigen
P24627	1,19	TRFL_BOVIN Lactotransferrin
P01888	1,13	B2MG_BOVIN Beta-2-microglobulin
P01966	2,60	HBA_BOVIN Hemoglobin subunit alpha
P10152	1,13	ANG1_BOVIN Angiogenin-1
Q865V0	1,06	CEP57_BOVIN Centrosomal protein of 57 kDa
P02754	1,06	LACB_BOVIN Beta-lactoglobulin
P17697	1,01	CLUS_BOVIN Clusterin
P34955	1,02	A1AT_BOVIN Alpha-1-antitrypsin
Q2KIU3	1,00	HP252_BOVIN Protein HP-25 homolog 2
A2I7N3	1,04	SPA37_BOVIN Serpin A3-7
Q0P5J6	1,16	K1C27_BOVIN Keratin_ type I cytoskeletal 27
P69678	1,03	CUTA_BOVIN Protein CutA
P61823	1,11	RNAS1_BOVIN Ribonuclease pancreatic
P02081	1,04	HBBF_BOVIN Hemoglobin fetal subunit beta

**Tablo 26.** Yüksek kaliteli kolostrumda daha yüksek oranda bulunan proteinler (37 adet). En az 1,2 kat değişim gösteren (power>0,57) ilk 8 protein istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur.

Accession	Değişim oranı	Protein tanımı
Q2KIS7	3,07	TETN_BOVIN Tetranectin
O19116	1,47	SFRP1_BOVIN Secreted frizzled-related protein 1
Q9TUM6	2,44	PLIN2_BOVIN Perilipin-2
Q28104	3,37	COPE_BOVIN Coatomer subunit epsilon
P18892	1,88	BT1A1_BOVIN Butyrophilin subfamily 1 member A1
P0CG53	2,84	UBB_BOVIN Polyubiquitin-B
Q95114	1,64	MFGM_BOVIN Lactadherin
P02769	1,69	ALBU_BOVIN Albumin
Q03247	1,34	APOE_BOVIN Apolipoprotein E
O46375	1,12	TTHY_BOVIN Transthyretin
P81265	1,45	PIGR_BOVIN Polymeric immunoglobulin receptor
P08037	1,20	B4GT1_BOVIN Beta-1_4-galactosyltransferase 1
Q3SZR3	1,32	A1AG_BOVIN Alpha-1-acid glycoprotein
P13753	1,73	HA1B_BOVIN BOLA class I histocompatibility antigen_ alpha chain BL3-7
P12799	1,44	FIBG_BOVIN Fibrinogen gamma-B chain
Q28110	1,54	FCGR2_BOVIN Low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor II
P02676	1,46	FIBB_BOVIN Fibrinogen beta chain
P12763	1,21	FETUA_BOVIN Alpha-2-HS-glycoprotein
O97594	1,19	SMC3_BOVIN Structural maintenance of chromosomes protein 3
Q3ZC07	1,15	ACTC_BOVIN Actin_ alpha cardiac muscle 1
Q3MHN2	1,12	CO9_BOVIN Complement component C9
Q3ZBK6	1,46	LSM4_BOVIN U6 snRNA-associated Sm-like protein LSM4
P00735	1,20	THRB_BOVIN Prothrombin
P81644	1,09	APOA2_BOVIN Apolipoprotein A-II
Q2UVX4	1,04	CO3_BOVIN Complement C3
Q2KIT0	1,06	HP20_BOVIN Protein HP-20 homolog
P02672	1,10	FIBA_BOVIN Fibrinogen alpha chain
Q32PJ2	1,18	APOA4_BOVIN Apolipoprotein A-IV
Q3MHN5	1,04	VTDB_BOVIN Vitamin D-binding protein
P01035	1,61	CYTC_BOVIN Cystatin-C
P81187	1,01	CFAB_BOVIN Complement factor B
A2I7M9	1,01	SPA32_BOVIN Serpin A3-2
C6KGD8	1,07	HSTN_BOVIN Histatherin
Q2KIX7	1,12	HP251_BOVIN Protein HP-25 homolog 1
P06394	1,04	K1C10_BOVIN Keratin_ type I cytoskeletal 10
P17690	1,14	APOH_BOVIN Beta-2-glycoprotein 1
A2I7N1	1,02	SPA35_BOVIN Serpin A3-5

**Tablo 27.** Yüksek ve düşük kaliteli kolostrum örneklerinde anlamlı düzeyde fazla bulunan proteomlar

Yüksek kaliteli kolostrumda bol bulunan proteomlar (n=8)	Düşük kaliteli kolostrumda bol bulunan proteomlar (n=11)
BOVIN Tetranectin	BOVIN Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1
BOVIN Secreted frizzled-related protein 1	BOVIN Cofilin-1
BOVIN Perilipin-2	BOVIN Alpha-S2-casein
BOVIN Coatomer subunit epsilon	BOVIN Alpha-lactalbumin
BOVIN Butyrophilin subfamily 1 member A1	BOVIN Alpha-1B-glycoprotein
BOVIN Polyubiquitin-B	BOVIN Actin_cytoplasmic 1
BOVIN Lactadherin	BOVIN Nucleobindin-1
BOVIN Albumin	BOVIN Cathelicidin-4
	BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4
	BOVIN Chitinase-3-like protein 1
	BOVIN Monocyte differentiation antigen CD14



**Şekil 34.** Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 düzeyindeki değişim

### Accession Q5E9F7

Description COF1\_BOVIN Cofilin-1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=CFL1 PE=2 SV=3

Peptides 2 (1)

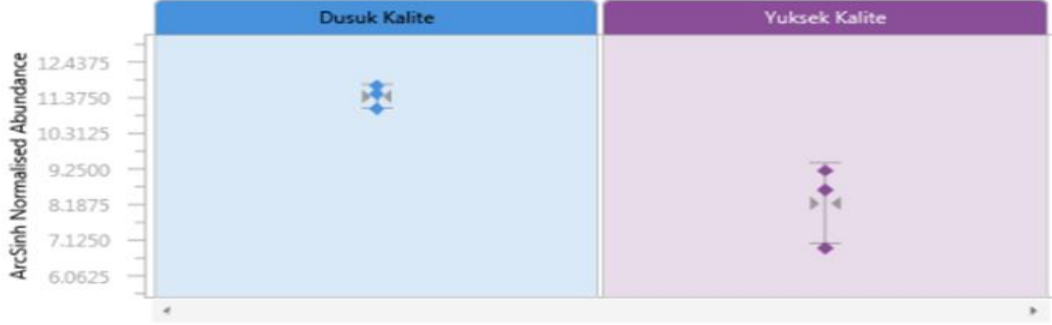
Score 18.89

Anova 0.01

Fold 17.43

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 35. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Cofilin-1 düzeyindeki değişim

### Accession P02663

Description CASA2\_BOVIN Alpha-S2-casein OS=Bos taurus OX=9913 GN=CSN1S2 PE=1 SV=2

Peptides 34 (33)

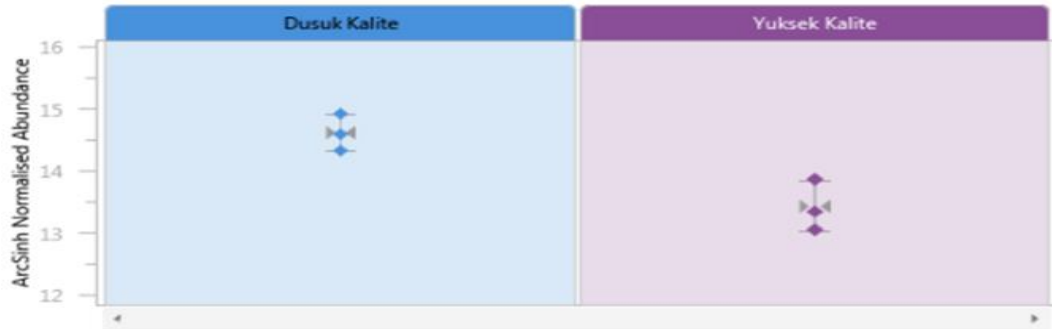
Score 212.60

Anova 0.02

Fold 3.20

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 36. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Alpha-S2-casein düzeyindeki değişim

### Accession P00711

Description LALBA\_BOVIN Alpha-lactalbumin OS=Bos taurus OX=9913 GN=LALBA PE=1 SV=2

Peptides 16 (16)

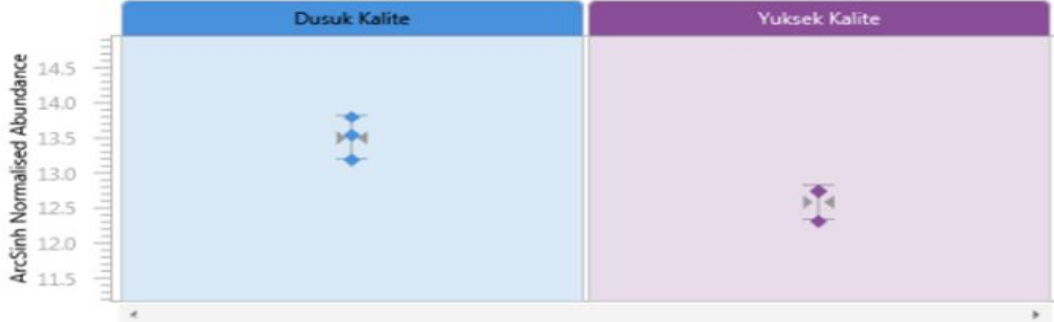
Score 134.26

Anova 0.02

Fold 2.52

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 37. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Alpha-lactalbumin düzeyindeki değişim

### Accession Q2KJF1

Description A1BG\_BOVIN Alpha-1B-glycoprotein OS=Bos taurus OX=9913 GN=A1BG PE=1 SV=1

Peptides 17 (17)

Score 111.64

Anova 0.02

Fold 2.05

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 38. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Alpha-1B-glycoprotein düzeyindeki değişim



### Accession P60712 (+1)

Description ACTB\_BOVIN Actin\_ cytoplasmic 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=ACTB PE=1 SV=1

Peptides 16 (8)

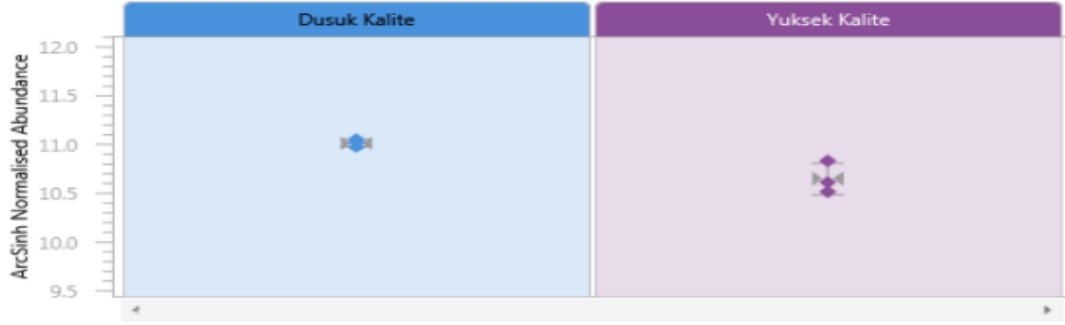
Score 150.01

Anova 0.02

Fold 1.43

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 39. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Actin\_ cytoplasmic 1 düzeyindeki değişim

### Accession Q0P569

Description NUCB1\_BOVIN Nucleobindin-1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=NUCB1 PE=1 SV=1

Peptides 31 (28)

Score 234.64

Anova 0.02

Fold 1.34

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 40. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Nucleobindin-1 düzeyindeki değişim

### Accession P33046

Description CTHL4\_BOVIN Cathelicidin-4 OS=Bos taurus OX=9913 GN=CATHL4 PE=1 SV=1

Peptides 3 (3)

Score 20.96

Anova 0.03

Fold 26.02

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 41. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Cathelicidin-4 düzeyindeki değişim

### Accession Q3T052

Description ITIH4\_BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 OS=Bos taurus OX=9913

Peptides 26 (24)

Score 199.56

Anova 0.03

Fold 1.67

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 42. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 düzeyindeki değişim

Accession P30922

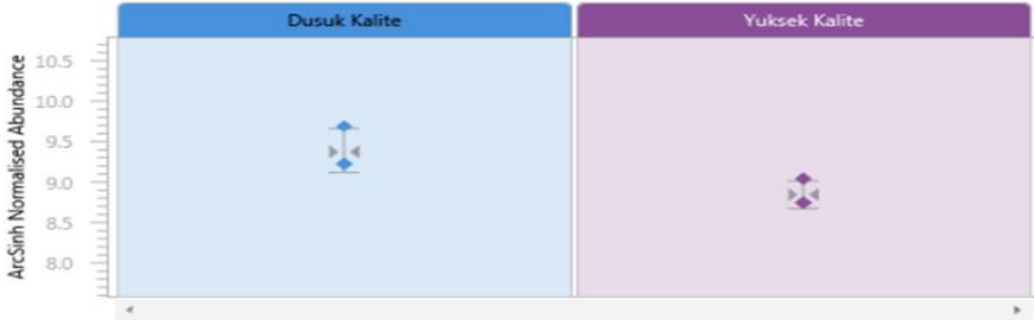
Description CH3L1\_BOVIN Chitinase-3-like protein 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=CHI3L1 PE=1 SV=3  
Peptides 10 (9)  
Score 65.08  
Anova 0.03  
Fold 1.84  
● Anova p-value  $\leq 0.05$   
● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 43. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Chitinase-3-like protein 1 düzeyindeki değişim

Accession Q95122

Description CD14\_BOVIN Monocyte differentiation antigen CD14 OS=Bos taurus OX=9913 GN=CD14  
Peptides 7 (7)  
Score 44.95  
Anova 0.04  
Fold 1.73  
● Anova p-value  $\leq 0.05$   
● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 44. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Monocyte differentiation antigen CD14 düzeyindeki değişim

### Accession Q2K157

Description TETN\_BOVIN Tetranectin OS=Bos taurus OX=9913 GN=CLEC3B PE=2 SV=1

Peptides 3 (3)

Score 27.47

Anova 1.67e-003

Fold 3.07

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 45. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Tetranectin düzeyindeki değişim

### Accession O19116

Description SFRP1\_BOVIN Secreted frizzled-related protein 1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=SFRP1

Peptides 1 (1)

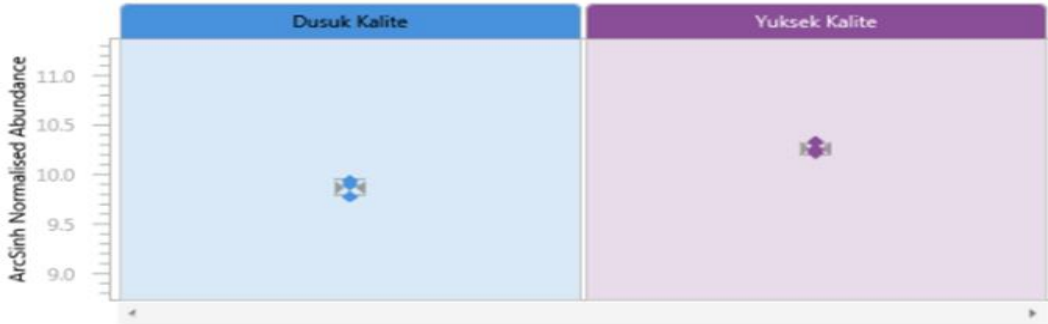
Score 10.85

Anova 2.34e-003

Fold 1.48

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 46. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Secreted frizzled-related protein 1 düzeyindeki değişim

#### Accession Q9TUM6

Description PLIN2\_BOVIN Perilipin-2 OS=Bos taurus OX=9913 GN=PLIN2 PE=2 SV=1

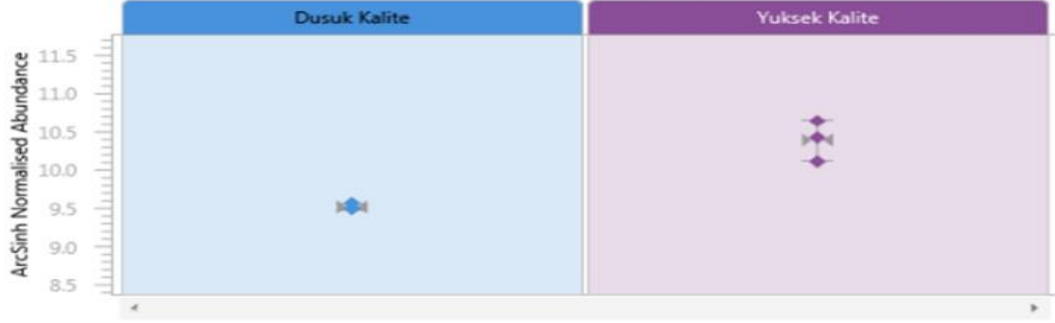
Peptides 16 (16)

Score 115.45

Anova 4.93e-003

Fold 2.45

- Anova p-value  $\leq 0.05$
- Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 47. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Perilipin-2 düzeyindeki değişim

#### Accession Q28104

Description COPE\_BOVIN Coatomer subunit epsilon OS=Bos taurus OX=9913 GN=COPE PE=1 SV=3

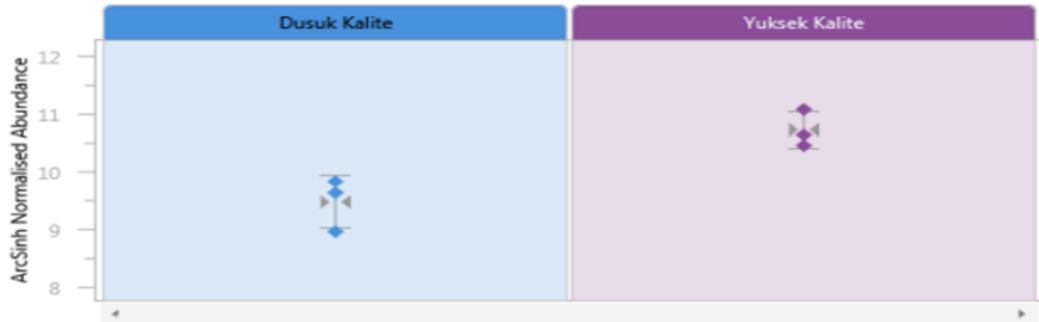
Peptides 1 (1)

Score 5.64

Anova 0.02

Fold 3.37

- Anova p-value  $\leq 0.05$
- Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 48. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Coatomer subunit epsilon düzeyindeki değişim

### Accession P18892

Description BT1A1\_BOVIN Butyrophilin subfamily 1 member A1 OS=Bos taurus OX=9913 GN=BTN1A1 Peptides 30 (28)

Score 237.76

Anova 0.02

Fold 1.89

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 49. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Butyrophilin subfamily 1 member A1 düzeyindeki değişim

### Accession P0CG53 (+3)

Description UBB\_BOVIN Polyubiquitin-B OS=Bos taurus OX=9913 GN=UBB PE=1 SV=1

Peptides 2 (2)

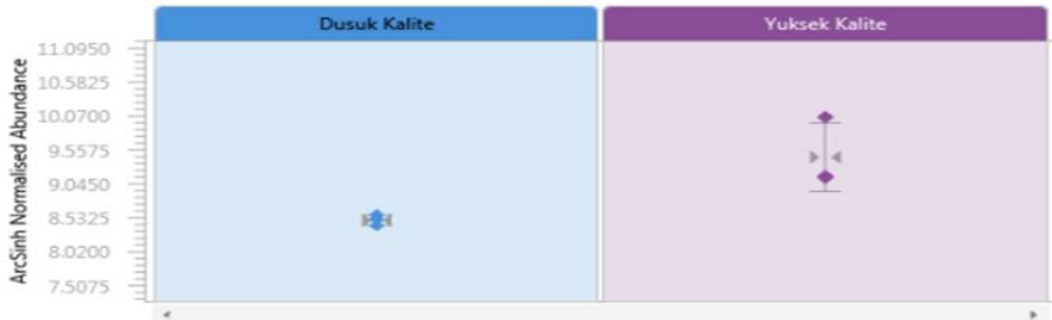
Score 14.16

Anova 0.03

Fold 2.85

● Anova p-value  $\leq 0.05$

● Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 50. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Polyubiquitin-B düzeyindeki değişim

### Accession Q95114

Description MFGM\_BOVIN Lactadherin OS=Bos taurus OX=9913 GN=MFGE8 PE=1 SV=2

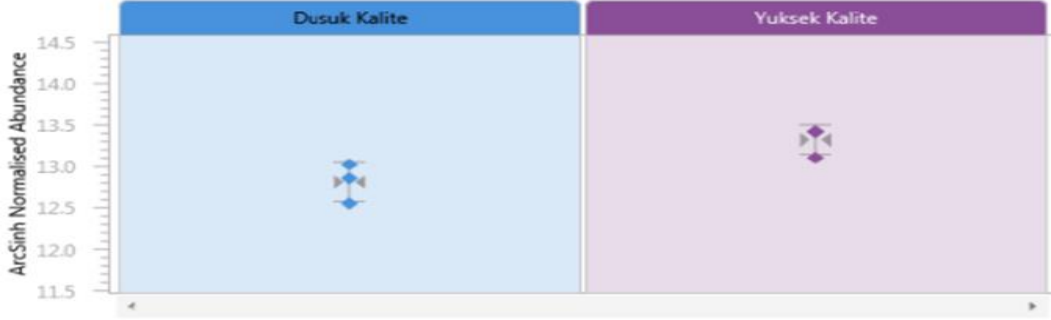
Peptides 39 (39)

Score 307.58

Anova 0.04

Fold 1.65

- Anova p-value  $\leq 0.05$
- Max fold change  $\geq 1.2$



Şekil 51. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Lactadherin düzeyindeki değişim

### Accession P02769

Description ALBU\_BOVIN Albumin OS=Bos taurus OX=9913 GN=ALB PE=1 SV=4

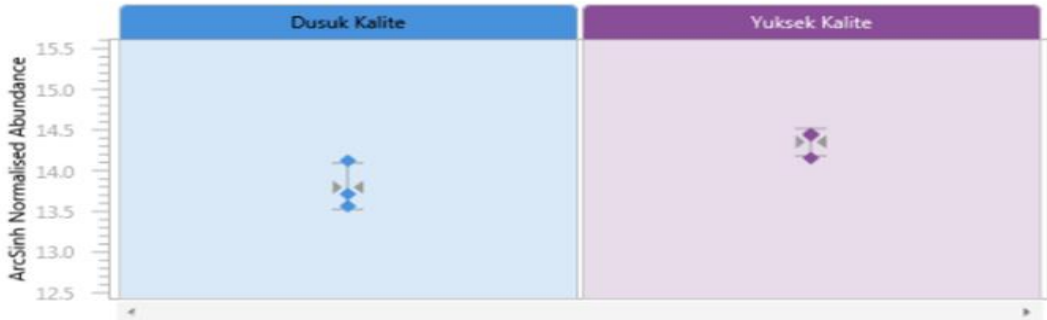
Peptides 76 (75)

Score 593.97

Anova 0.05

Fold 1.70

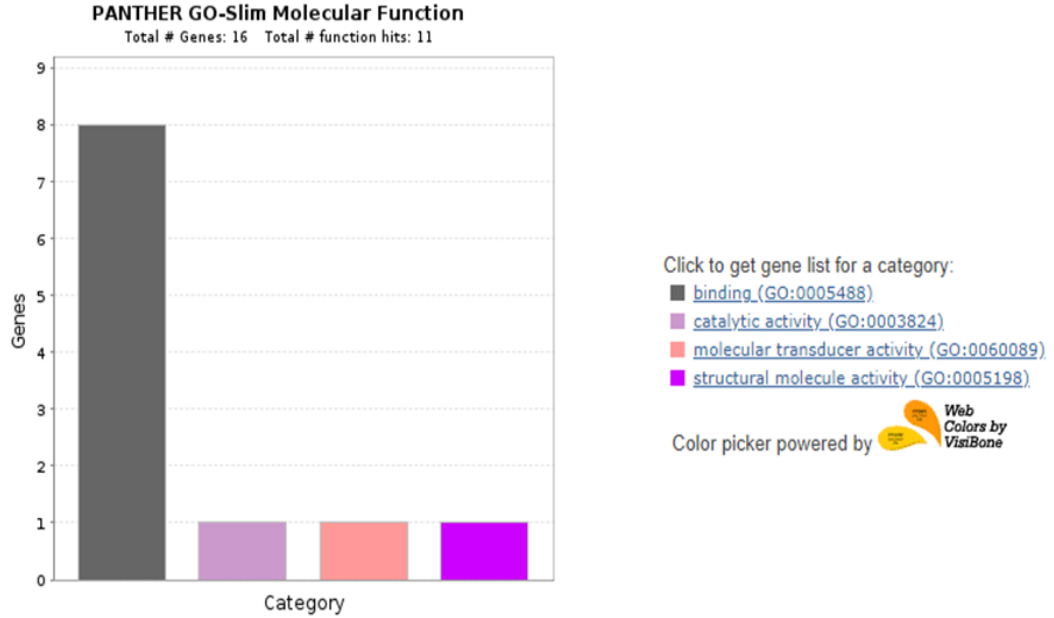
- Anova p-value  $\leq 0.05$
- Max fold change  $\geq 1.2$



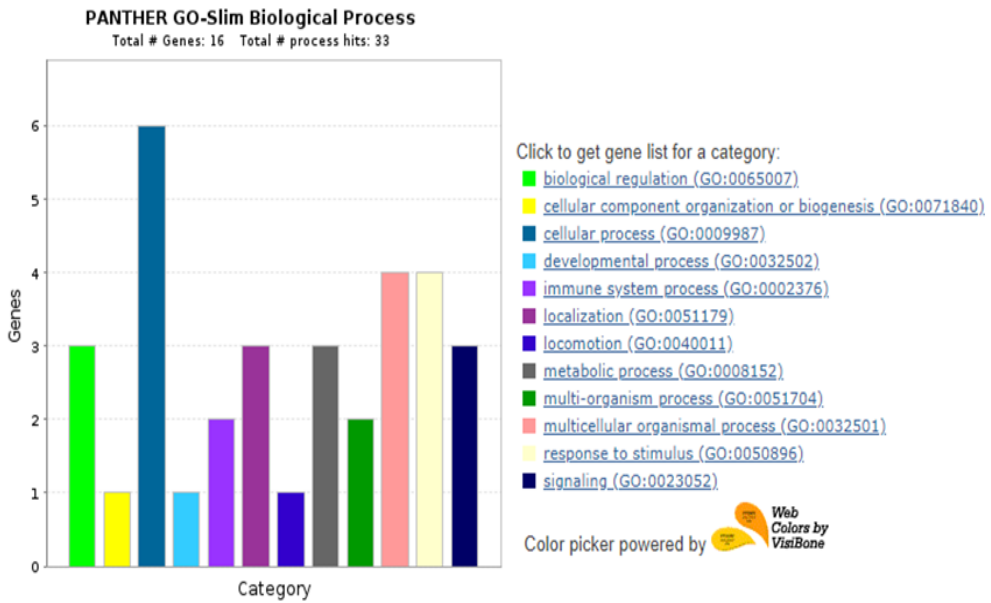
Şekil 52. Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Albumin düzeyindeki değişim

Kolostrum örneklerinde tespit edilen 95 proteinden anlamlı değişim gösteren proteomların (n=19) moleküler fonksiyonları ve dağılımları Şekil 53’de, biyolojik fonksiyonları ve dağılımları Şekil 54’te, sellüler yapılarıdaki dağılımları Şekil 55’te,

yolak (pathway) analizleri Şekil 56’da ve protein sınıfları da Şekil 57’de aktarılmıştır. Bu çalışmada kolostrumlarından elde edilen istatistiksel anlamlı protein ve fraksiyonlarının birbirini ile etkileşimleri ise Şekil 58’de gösterilmiştir.

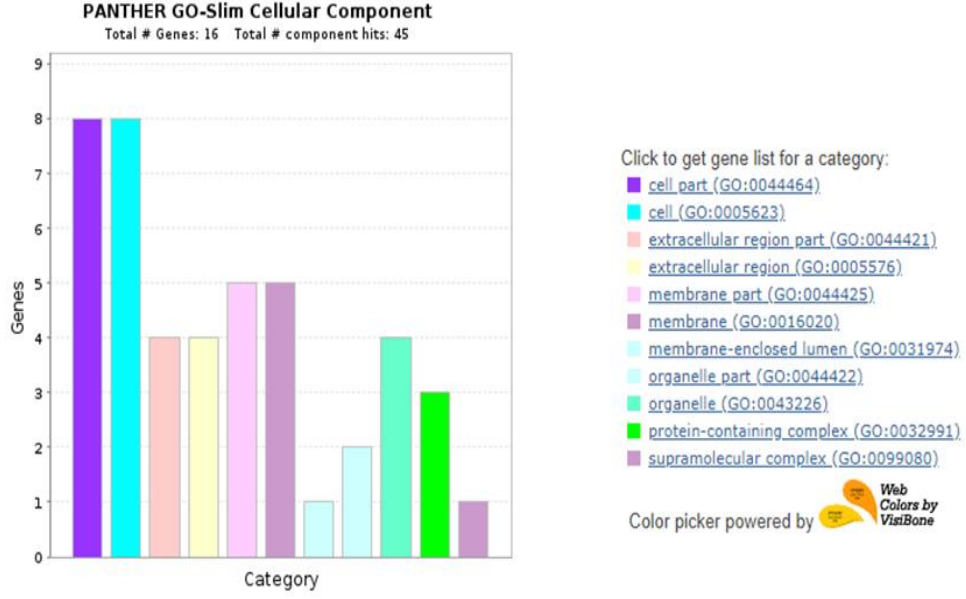


Şekil 53. Kolostrumda anlamlı değişim gösteren proteinlerin moleküler fonksiyon ve dağılımları

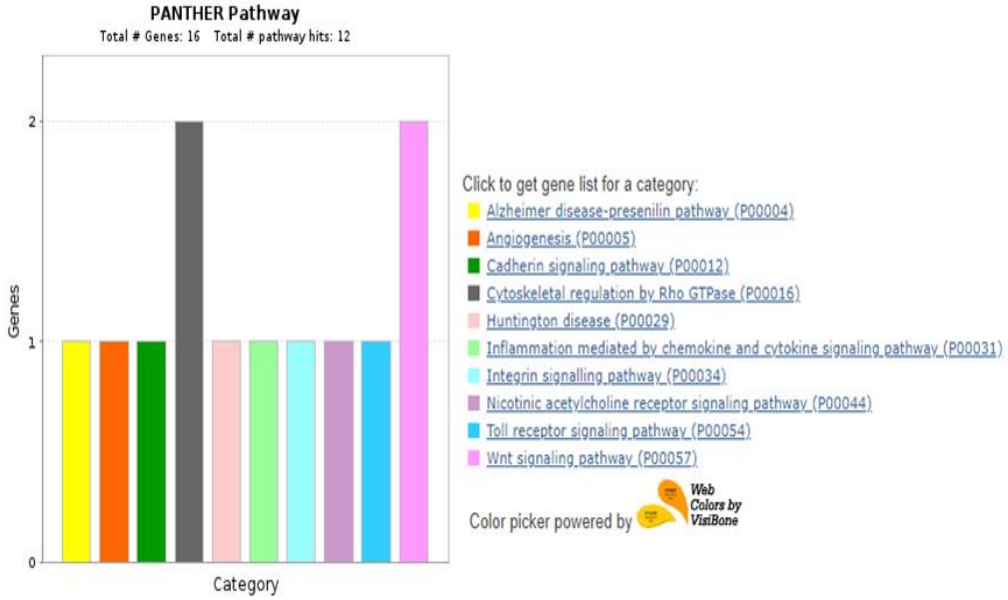


Şekil 54. Kolostrumda anlamlı değişim gösteren proteinlerin biyolojik fonksiyon ve dağılımları





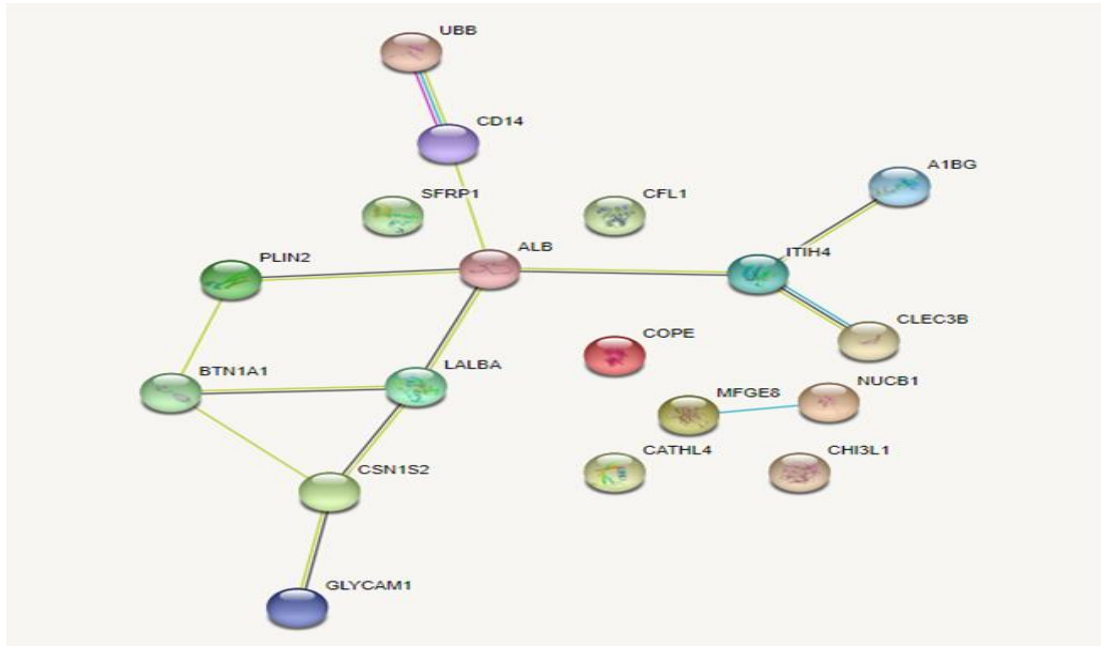
Şekil 55. Kolostrumda anlamlı değişim gösteren proteinlerin selüler yapılarıdaki dağılımları



Şekil 56. Kolostrumda anlamlı değişim gösteren proteinlerin yolak (pathway) analizi. Cytoskeletal regulation by Rho GTPase ve Wnt signalling pathway öncelikli yollar olarak dikkati çekmektedir.



**Şekil 57.** Kolostrumda anlamlı değişim gösteren protein sınıf analizi. Defence/immunity proteinleri en başta olmak üzere intercellular signal molecule, metabolite interconversion enzyme ve transmembrane signal receptor dikkati çekmektedir.



**Şekil 58.** Kolostrumda anlamlı olan protein ve fraksiyonlarının birbirleriyle etkileşimi (protein-protein interaksyonu). String-db.org ile üretilmiştir. UBB: Polyubiquitin-B; CD14: Monocyte differentiation antigen; ALB: Serum albumin; SFRP1: Secreted frizzled-related protein 1; PLIN2: Perilipin-2; BTN1A1: Butyrophilin subfamily 1 member A1; CSN1S2: Alpha-S2-casein; GLYCAM1: Bos taurus glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1; LALBA: Alpha-lactalbumin; CFL1: Cofilin-1; ITIH4: Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4; A1BG: Alpha-1B-glycoprotein; CLEC3B: Tetranectin; COPE: Coatomer subunit epsilon; MFGE8: Lactadherin; NUCB1: Nucleobindin-1; CATHL4 : Cathelicidin-4; CHI3L1: Chitinase-3-like protein 1

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Cryptosporidiosis buzağılarda 3-4 günlük yaştan itibaren görülmekte ve en çok 5-15 günlük dönemde, hatta 3 haftalıktan büyüklerde de ortaya çıkabilmektedir. Çalışmada cryptosporidiosis en erken 6. günde, en büyük ise 17.günde görülürken ortalama görülme yaşı  $11,33 \pm 0,59$  gün olarak hesaplanmış ve cryptosporidiosisin en çok görüldüğü yaş verileri (Castro-Hermida ve diğerleri, 2002; House ve diğerleri, 2015; Radostits ve diğerleri, 2007) ile paralellik göstermiştir.

Çalışmada emme refleksinin değerlendirilmesinde hiçbir grupta günler arası fark bulunmazken, birinci günde Grup 1 ve Grup 2’de, Grup 3’e göre emme refleksinin daha iyi olması ( $p<0,05$ ) tedavide kolostrum kullanımının, buzağının en önemli sağlık göstergesi olan emme refleksi üzerine olumlu etki göstermesinden kaynaklanabilir.

Buzağıkların kalp frekanslarında, hiçbir grupta günler arası fark bulunmazken, sadece 6. günde, Grup 1 ve Grup 3 arasında istatistiksek fark görülmüştür. Bu durum, 6. günde buzağıkların genel durumlarının ve vücut sıcaklıklarının fizyolojik sınırlar içerisinde olması nedeniyle muayene sırasında stres veya heyecandan kaynaklanabilir.

Solunum frekansı ve vücut sıcaklıkları tüm gruplarda ve tüm günlerde yapılan değerlendirmelerde fizyolojik sınırlar dahilinde bulunması ve hiçbir günde grup içi ve gruplar arasında istatistiksel önem meydana gelmemesi, cryptosporidiosisin diğer etkenlerle komplike olmadıkça sindirim sistemine lokalize hastalık tablosu oluşturması görüşünü desteklemektedir (Batmaz, 2016; Radostits ve diğerleri, 2007).

### 5.1. Cryptosporidiosisli Buzağılarda Dışkı Bulgularının Değerlendirilmesi

Dışkılarda 5’li skora göre değerlendirilen sonuçlar Tablo 4’te görüldüğü gibi tedavi öncesi dışkı skorları Grup1’de  $4,20 \pm 0,32$ , Grup 2’de  $4,40 \pm 0,30$  ve Grup 3’de  $4,00 \pm 0,33$  olarak ortaya çıkmıştır. Skor 3, 4, 5 olanlar ishal olarak değerlendirildiğinden bütün gruplarda dışkı skor ortalamaları ishal olduğunu

göstermektedir. Tedavi öncesi ve sonrası gruplar arasında dışkı skorları arasında anlamlı bir farklılık saptanmamasına rağmen, dışkı skorları 2'nin altına kolostrum verilen gruplarda 4. gün inerken, kontrol grubunda ancak 8. gün düşmüştür.

Tablo 5'te sunulduğu gibi, dışkı skorlarına paralel olarak çalışmadaki tüm buzağuların (30 buzağı) ortalama ishal süreleri  $3,53 \pm 0,30$  gün olarak belirlenirken, bu süre Grup 1'de  $3,00 \pm 0,49$  gün, Grup 2'de  $3,20 \pm 0,35$  gün ve Grup 3'te  $4,40 \pm 0,63$  gün olarak tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi kolostrum verilen gruplarda ishal süreleri kontrol grubuna göre istatistiksel önemli olmasa da daha kısa sürmüştür. Daha önceki çalışmalarda buzağularda cryptosporidiosis tedavisinde inek kolostrumu kullanımı üzerine veri olmamasına rağmen, buzağularda ve insanlarda cryptosporidiosis'e karşı profilaktik ve metafilaktik kolostrum kullanımı bulunmaktadır. Nitekim, Harp ve diğerleri (1989), profilaktik kolostrum kullanımının ishal süresi üzerine etkisi olmadığını belirtmesine rağmen, Perryman ve diğerleri (1999), metaflaktik kolostrum kullandıkları buzağularda ishal gözlenmediğini bildirmişlerdir. Greenberg ve Cello (1996), AIDS ve cryptosporidiosis hastalığı ile enfekte insanlarda tedavide 21 gün boyunca inek kolostrumu kullanılmasının dışkı miktarı ve dışkılama sıklığını azaltarak klinik iyileşme sağladığını belirtmişlerdir. Yine, Nord ve diğerleri (1990) ise AIDS'li bireylerde cryptosporidiosis'in tedavisi amacıyla hiperimmün kolostrum kullanımının dışkı miktarını ve ishal oranını azalttığını saptamışlardır.

Yine ishal süreleri  $\leq 10$  gün ve  $\geq 11$  gün olanlarla karşılaştırıldığında yaşları daha küçük olanlarda 3,2 gün, büyüklerde ise 3,6 gün tespit edilirken; bazı yazarlar (Blanchard, 2012; Castro-Hermida ve diğerleri, 2002) daha küçük yaşta enfekte olan buzağularda cryptosporidiosis'in patent periyodun daha uzun olduğunu ve ishalin daha şiddetli olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada iki yaş grubu buzağular arasında ishallerin gün sayıları anlamında fark çıkmamasının nedeni, gruplarda yer alan buzağuların yaş ortalamalarının ( $7,81 \pm 0,42$  ve  $13,36 \pm 0,47$  günlük yaş) birbirine yakın olmasından (en küçüğü 6 ve en büyüğü 17 günlük yaşta ve sadece 5 buzağı 1 haftalık yaş ve altında) ve buzağı sayısının düşük olmasından kaynaklandığı ileri sürülebilir. Yaşı büyük cryptosporidiosisli buzağularda Grup 1'de  $3,57 \pm 0,48$  gün, Grup 2'de  $3,00 \pm 0,70$ , Grup 3'de ise  $4,28 \pm 0,64$  gün olmasına rağmen, 10 günlük ve daha küçük yaştaki buzağularda Grup 1'de  $1,66 \pm 0,88$  gün, Grup 2'de  $3,40 \pm 0,24$ , Grup 3'de ise  $4,66 \pm 1,76$  gün olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre yaşı 10 gün ve daha küçüklerde ishal

süreleri bikarbonat ile birlikte verilen kolostrum uygulamasında daha kısa süreli olduğu dikkati çekmiştir. Bu durumun Grup 1’de yer alan 3 buzağının birinde hiç ishal gözlenmemiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim, buzağıda ishal olmadan da cryptosporidium ookisti saçılabilceği gözlenmiştir (Arsenopulos ve diğçerleri, 2017). Ayrıca Grup 1’de 10 günlük yaş ve altındaki buzağılarda ishalin daha kısa sürmesinin bir diğçer nedeni de uygulanan tedavi ile genç buzağılarda kolostrum emiliminin daha fazla olacağı düşünöldüğünden kolostrumun antidiyareik etkilerinin daha net gözlenmesinden kaynaklanmış olabileceği öne sürölebilir.

Tablo 10’da da göröldüğü gibi dışkıda ookist saçılımı saptanan gün sayıları (ookist saçılım süreleri) tüm gruplar birlikte değçerlendirildiğinde ookist saçılım süreleri ortalama  $3,73 \pm 0,32$  gün olarak belirlenirken; bu süre 10 günlük yaş ve altındakilerde  $4,63 \pm 0,54$  gün ve 11 günlük yaş ve üzeri olanlarda  $3,21 \pm 0,36$  gün olarak saptanmıştır. Bu veriler yaşı küçük buzağılarda daha önceki literatürlere uygunluk göstermektedir (Castro-Hermida ve diğçerler, 2002). Ookist saçılım süreleri Grup 1’de  $3,20 \pm 0,44$  gün, Grup 3’de ise  $3,90 \pm 0,70$  gün belirlenirken, yine yaşları daha küçük buzağılarda Grup 1’e ( $3,66 \pm 0,88$  gün) göre Grup 3’de ( $5,66 \pm 0,88$  gün) süre daha uzun olmuştur. Perryman ve diğçerleri (1999), metaflaktik olarak kolostrum kullanılan buzağılarda ishal gözlenmemesiyle birlikte ookist saçılımının daha düşük olduğu tespit etmişlerdir (Perryman ve diğçerleri, 1999). Farelerde de cryptosporidiosis metaflaksisinde hiperiimmun inek kolostrumu kullanımının ookist sayısı ve enfeksiyon oranını azalttığı gösterilmiştir (Fayer ve diğçerleri 1989a; Tzipori ve diğçerleri, 1994).

Çalışmamızda tedavide kolostrum verilen gruplarda ishal süresi ile birlikte atılan ookist miktarlarının daha az olması ve hızlı düşüş yapması, tedavide de kolostrumun olumlu etkiler sağlayabildiğini göstermiştir. Kolostrum verilen gruplardaki dışkı skorunun daha iyi olması, ishalleri gün sayılarının daha az olması kolostrumun bağırsak permabilitesini azaltarak, gastrointestinal hasarın azaltılmasında etkili olduğu görüşünü desteklemektedir (Eslamian ve diğçerleri, 2019; Playford ve diğçerleri, 2001). Yine tedavide kolostrum verilmesinin, kolostrum içindeki nötrale edici antikorlar ile parazitlerin konakçı hücrelerine adezyonunu inhibe ederek veya cryptosporidium sporozoitlerine karşı direkt sitotoksik etki göstererek olumlu etkiler sağladığı (Fayer ve diğçerleri, 1989a; House ve diğçerleri, 2015) düşünölmektedir.

Ayrıca çalışmada kolostrumdaki IgG'lerin buzağı tarafından emilimi olmadığı görülmesine rağmen, buzağı serumundaki düşük moleküler ağırlıklı proteinlerdeki değişim olması, kolostrumdan bu proteinlerin değişen oranlarda emilebildiğini ve buzağının immunitesindeki rolleri ile cryptosporidiosis mücadelesinde katkı sağlayabildiği öne sürülebilir.

Blanchard (2012) buzağılarda ilk ookist saçılımının 6-7 günlük yaşta başlamakla birlikte genellikle 6-25 günlük buzağuların etkilendiğini belirtmiştir. Buna benzer şekilde çalışmamızda en erken ookist saçılımı 6 günlük yaşta buzağıda saptanmış olup, hastalıktan etkilenen buzağular 6-17 günlük yaşta olmuşlardır.

Literatürde ookist saçılımının her zaman ishalle ilişkisi olmasa da ishallerde dışkıların daha fazla olduğu bildirilmiştir (Arsenopoulos ve diğerleri 2017; Thomson ve diğerleri, 2017). Buna benzer şekilde çalışmamızda dışkı skoru ile dışkı ookist sayısı arasında tüm buzağular değerlendirildiğinde orta düzeyli korelasyon ( $r=0,495$ ) olduğu, her bir grup ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'te korelasyon kat sayıları sırasıyla  $r=0,688$  ( $p<0,01$ ),  $r=0,395$  ( $p<0,01$ ) ve  $r=0,399$  ( $p<0,01$ ) olduğu saptanmıştır. Bu durum ishallerde dışkıların daha fazla olduğu görüşünü (Arsenopoulos ve diğerleri, 2017; Blanchard, 2012) desteklemektedir. Ancak çalışmamızda korelasyon kat sayısının çok yüksek bulunmamasının nedeni, gruplardaki n sayılarının düşük olmasından kaynaklanmış olabilir.

Bilindiği gibi aminoglikozidlerin alkali şartlarda etkinlikleri artarken asidik ortamlarda etkinlikleri azalmaktadır (Mıstık, 2000). Bu bağlamda, Grup 1'de ishal süresinin ve atılan ookist sayısının daha hızlı azalması, tedavide bikarbonat kullanımının paramomisin etkinliğini artırdığı öne sürülebilir. Yine, kolostrumdaki immunoglobulin ve diğer protein bileşenlerinin mide asitinden zarar görmelerini engellemek için Grup 1'de tedavide bikarbonat kullanımı gastrik asiditeyi azaltmada fayda sağladığı görülmektedir. Çalışmamıza benzer şekilde Tzipori ve diğerleri (1994), domuz yavrularına hiperimmün inek kolostrumu vermeden önce simetidin uygulayarak gastrik asiditeyi azaltmayı amaçlamışlardır. Tzipori ve diğerleri (1994), simetidin kullanımının immunoglobulinlerin korunmasında yeterince etkili olmadığını saptamışlardır, buna benzer şekilde bikarbonat uygulamasının da Grup

1'de immunoglobulinlerin emiliminde etkisi olmamasına rağmen, düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin emiliminde veya bağırsaktaki lokal etkileri ile antidiyareik etkilerinin görülmesinde katkı sağlayabildiği ileri sürülebilir.

## **5.2. Cryptosporidiosisli Buzağılarda Serum Laboratuvar Bulgularının Değerlendirilmesi**

Buzağılarda pasif transfer immunitésinin belirlenmesinde direkt olarak IgG ölçümü ve indirekt olarak Brix%, TP ve GGT değerlerinin kullanımı üzerine çokça veri bulunmaktadır (Aydoğdu ve diğerleri, 2019; Bielman ve diğerleri, 2010; Topal, 2018; Topal ve diğerleri, 2018; Weaver ve diğerleri, 2000).

Bu testler içerisinde serum IgG düzeyinin belirlenmesi buzağılarda pasif transfer durumun belirlenmesinde en temel test olup, RID veya ELISA testleri ile ölçülebilmektedir. Bu anlamda buzağılarda pasif transfer immunitésinin yeterli olabilmesi için 24-48 saatlik yaştaki buzağılarda için IgG>1000 mg/dL olması gerektiği vurgulanmaktadır (Bielman ve diğerleri, 2010; Godden, 2008; Weaver ve diğerleri, 2000). Dolayısıyla çalışmada kullanılan bütün gruplarda serum IgG düzeyleri ortalamalarının 1000 mg/dL düzeyinden yüksek olduğu dolayısıyla pasif transfer yetmezliği ile ilgili negatif etkilerin hiçbir grupta ekstra problem oluşturmadiğını ifade edebiliriz.

Ježek, Nemeć, Malovrh ve Klinkon (2010), doğum sonrası serum IgG düzeylerini takip ettikleri buzağılarda IgG düzeyinin ilk haftaya göre ikinci hafta azalma eğilimde olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde Topal (2018), doğum sonrası ilk 3 gün serum IgG düzeyinin yükseldiğini, ancak sonrasında azalma eğiliminde olarak 7 günlük yaştaki buzağılarda serum IgG düzeyinin 1248 mg/dL olduğunu belirtmişdir. Bu anlamda serum IgG düzeylerinin azalma eğilimi dikkate alındığında çalışmamızdaki buzağılarda 0. gün yaş ortalamaları (tedavinin 0. günü)  $11,3 \pm 0,59$  gün olduğundan 0. gün IgG değerlerinin adı geçen çalışmalara paralellik gösterdiği ve 3. gün IgG seviyelerinin daha düşük bulunması belirtilen çalışmalara (Topal, 2018; Topal ve diğerleri, 2018) benzerlik göstermiştir.

Grup 1 ve Grup 3'te istatistiksel anlamlı olmakla birlikte bütün gruplarda serum IgG düzeyinin, 0. güne göre 3. gün serum örneklerinde azaldığı tespit edilmiştir. Grup 1 ve Grup 2'de kolostrum verilmesinin IgG emilimine ekstra etkisi olmadığı görülmüştür. Nitekim (Godden, 2008), doğum sonrası yaklaşık 24. saatte buzağılarda 'bağırsak kapanması' nın şekillendiğini ve bu saatten sonra verilen kolostrumdan IgG gibi makromoleküllerin emilemeyeceğini belirtmiştir. Benzer şekilde çalışmamızda ortalama yaşları  $11,3 \pm 0,59$  gün olan buzağılarda kolostrumun iki farklı şekilde uygulanmasının serum IgG düzeyine etkisi görülmemiştir. Ancak insanlarda yapılan bir araştırmada atletere kolostrum verilmesinin tükürükteki IgA düzeyini artırdığı da belirtilmiştir (Mero ve diğerleri, 2002). Dolayısıyla farklı immunoglobulin türlerinin emilim oranlarının farklı olabileceği vurgulanmaktadır (Ježek ve diğerleri, 2010).

Brix % değerinin buzağılarda (Deelen, Ollivett, Haines ve Leslie, 2014; Elsohaby, McClure ve Keefe, 2015; Topal ve diğerleri, 2018), ve oğlaklarda (Batmaz ve diğerleri, 2019) pasif transfer durumun değerlendirilmesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Önceki araştırmalarda, Brix % değerinin %8,3 (Elsohaby ve diğerleri, 2015) ve %8,4 (Deelen ve diğerleri, 2014) değerleri ile buzağılarda pasif transfer düzeyinin değerlendirilmesinde kullanılabileceğini belirtilmiştir. Çalışmamızda tüm gruplarda Brix % değerlerinin ( $\%8,37 \pm 0,54$ ;  $\%8,66 \pm 0,23$  ve  $\%8,30 \pm 0,22$ ) belirtilen değerlerden yüksek olduğu görülmüş ve IgG değerlerine benzer şekilde pasif transferlerinin yeterli oldukları görülmüştür. Çalışmamızda gruplar arası ve grup içlerinde günler arası farklılık görülmemiş, ancak günler arasında hafif dalgalanmalar olmuştur. Bu durum, farklı günlerde buzağılarda hidrasyon durumlarının değişebilmesinden kaynaklanmış olabilir. Diğer yandan Grup 1 ve Grup 2'de kolostrum verilmesinin serum IgG de olduğu gibi Brix % değerini de etkilemediği görülmüştür.

Serum total protein (TP) düzeyinin buzağılarda pasif transfer durumunun belirlenmesinde kullanılabildiği bilinmektedir. Buzağılarda pasif transfer durumun yeterli olabilmesi için TP değerinin 5,5 g/dL ve üzeri olması gerektiği bildirilmiştir (Deelen ve diğerleri, 2014; Elsohaby ve diğerleri, 2015; Weaver ve diğerleri, 2000). Topal ve diğerleri (2018) ise, buzağılarda farklı günlerde TP cut off değerinin değişebildiğini (1. günde 5,2 g/dL ve 3. günde 6,1 g/dL) ifade etmişlerdir. Bu anlamda çalışmamızda ilk gün (ishalin ilk günü) TP değerlerinin sırasıyla  $6,23 \pm 0,19$  g/dL,



6,41 ± 0,20 g/dL ve 6,07 ± 0,27 g/dL olması IgG ve Brix değerlerine benzer şekilde pasif transferlerinin yeterli olduğunu göstermektedir. Serum TP konsantrasyonlarında, kolostrum verilen gruplar ile verilmeyen grup arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir. Grup içi değerlendirmelerde Grup 3'teki buzağılarda herhangi bir fark görülmemesine rağmen, Grup 1'de 1. güne göre 3. günde ve Grup 2'de ise 1. güne göre 7. günde anlamlı azalma bulunmuştur (p<0,05). Bu durum Grup 1'deki buzağılarda Grup 2'deki buzağılara göre hidrasyonun daha hızlı restore edildiğine işaret edebilir. Bu durum kolostrum ile birlikte bikarbonat uygulamasının bağırsak permabilite bozukluğu üzerine daha hızlı ve iyileştirici etki gösterdiğini destekleyebilir.

Meme alveollerinde ductuli hücrelerinden yoğun bir şekilde salgılanan GGT enziminin, kolostrumda bol miktarda (kan serumundakinden 800 kat daha yüksek) bulunduğu (Thompson ve Pauli, 1981; Zanker ve diğerleri, 2001) ve GGT düzeyinin IgG düzeyi ile yüksek korelasyon gösterdiği bilinmektedir (Lombardi, Avallone, Pagnini, D'angelo ve Bogin, 2001; Weaver ve diğerleri, 2000). Bu anlamda yeni doğan buzağılara kaliteli kolostrumların içirilmesi ile GGT enziminin hızlıca bağırsaklardan emilimi şekillenerek buzağı kan serumunda GGT seviyesinin yükseldiği, dolayısıyla PTY'nin takibinde kullanılabilirdiği bilinmektedir (Jezec ve diğerleri, 2010; Topal, 2018; Weaver ve diğerleri, 2000). Buzağı kan serumunda GGT düzeyi ile PTY'nin değerlendirilmesinde farklı zamanlarda farklı cut off değerleri olduğu vurgulanmaktadır. Bu anlamda, yeterli pasif transferin sağlanabilmesi için 24-48 saatlik yaşta serum GGT düzeyinin >200 IU/L (Weaver ve diğerleri, 2000) hatta >500 IU/L (Pekcan, Fidancı, Özkul ve Özbeyaz, 2013), 4 günlük yaşta >100 IU/L, 7 günlük yaşta >50 IU/L veya >75IU/L olması gerektiği belirtilmiştir (Jezec ve diğerleri, 2010; Weaver ve diğerleri, 2000). Nitekim buzağılarda doğum sonrası 0 U/L civarında olan GGT düzeyinin kolostrum tüketimi sonrası 24 saatte 1773 U/L (Quezada-Tristan ve diğerleri, 2014) ve hatta 2429 IU (Topal, 2018) düzeylerine ulaştığı gösterilmiştir. Topal (2018), buzağılarda 24. saatten sonra serum GGT düzeyinin giderek azalarak 10. günde 401,13 IU/L ve 15. günde ise 235,47 IU/L düzeylerine gerilediğini ifade etmiştir.

Çalışmada yer alan tüm gruplarda çalışmanın 0. gününde (buzağuların yaş ortalamaları 11,3 ± 0,59 gün) GGT düzeyleri Topal (2018)'in belirlediği değerlere

göre düşük olmakla birlikte, 7 günden büyüklerde >75 IU/L olması (Jezec ve diğerleri, 2010; Weaver ve diğerleri, 2000) bakımından yeterli pasif transfere sahip oldukları görülmüştür. Çalışmada her üç grupta da GGT seviyelerinin 0. gün değerlerine kıyasla 3. gün örneklerinde istatistiksel anlamlılık düzeyinde azalma dikkati çekmiştir. Bu durum diğer yazarların da belirttiği şekilde zamanla GGT düzeyinin azaldığını desteklemektedir (Jezec ve diğerleri, 2010; Topal, 2018). Dolayısıyla tedavide yüksek kaliteli kolostrum uygulanan gruplar (Grup1 ve Grup 2) ile kolostrum uygulanmayan (Grup 3) karşılaştırıldığında buzağuların 3. gün serum GGT düzeylerinde bir farklılık görülmemiştir. Bu durum yeni doğanlarda GGT emiliminin çok iyi derecede olmasına rağmen (Topal, 2018; Jezec ve diğerleri, 2010), daha büyük buzağularda bağırsaklarda GGT emiliminin olmadığını göstermiştir. Nitekim, yeni doğanlar dışında ruminantlarda büyüklüğü 7.000-14.000 dalton olan moleküllerin intestinal emilimi olduğu bildirildiğinden (Sklan ve Halevy, 1985), yaklaşık 68.000 dalton moleküler büyüklükteki GGT'nin emilmemesi IgG gibi büyük molekülü olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Zanker ve diğerleri, 2001).

### **5.3. Kolostrum Bulgularının Değerlendirilmesi**

Buzağularda pasif transfer immunitésinin sağlanmasında bilindiği gibi en temel unsur kaliteli inek kolostrumunun içirilmesidir (Godden, 2008). Bu anlamda inek kolostrumunun kalitesinin ölçülmesinde en güvenilir test (altın standart) IgG düzeyinin belirlenmesi olup, 50 g/L ve üzeri konsantrasyonlarda IgG içeren kolostrumların kaliteli olduğu kabul edilmektedir (Batmaz, 2016; Godden, 2008; Weaver ve diğerleri, 2000). Ayrıca, IgG ölçümüne göre daha hızlı ve pratik olan Brix refraktometre (Bielman ve diğerleri, 2010; Quigley ve diğerleri, 2013), total protein değeri (Chigerwe ve Hagey, 2014), hidrometre (Weaver ve diğerleri, 2000) ve GGT (Zanker ve diğerleri, 2001) gibi semiquantatif testlerle de pratik ve hızlı olarak saha şartlarında kolostrum kalitesi belirlenebilmektedir.

İneklerde kolostrumun kaliteli olabilmesi için litrede en az 50 g hatta 60g IgG içermesi gerektiği ve bunu sağlayabilmek için Brix % değerinin en az %21 (Quigley ve diğerleri, 2013) ve %22 (Bielman ve diğerleri, 2010) olması gerektiği ifade edilmiştir. Hatta Brix % değeri %27 ve üzerinde olan kolostrumların IgG düzeyi  $\geq 100$

g/L olduğu belirtilmiştir (Bartens ve diğerleri 2016; Batmaz, 2016). Çalışmada buzağılara içirilen kolostrumların (n=18 inek) Brix% ortalamaları  $30,08 \pm 0,65$  olduğu dikkate alındığında bu değer, diğer çalışmalarda bahsedilen eşik değerinin oldukça üzerinde olduğu ve kolostrumların yüksek kaliteli oldukları görülmektedir (Bartier ve diğerleri, 2015; Bielman ve diğerleri, 2010; Quigley ve diğerleri, 2013).

Yine proteomik analizlerde yüksek kaliteli ve düşük kaliteli kolostrum örnekleri kıyaslandığında Brix % değerlerinin sırasıyla  $32,56 \pm 1,53$  ve  $19,16 \pm 1,18$ ; kolostrum serumundan yapılan Brix% ölçümlerinin ise  $33,46 \pm 1,38$  ve  $19,20 \pm 1,33$  olduğu belirlenmiştir. Yine aynı yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda direkt kolostrum total protein ölçümlerinin sırasıyla  $26,26 \pm 2,21$  mg/dL ve  $13,13 \pm 0,74$  mg/dL olduğu, kolostrum serum total protein düzeylerinin ise  $24,40 \pm 1,40$  mg/dL ve  $13,26 \pm 0,96$  mg/dL olduğu saptanarak yüksek ve düşük kaliteli kolostrumların birbirinden bariz derecede farklı oldukları ortaya konmuştur.

#### **5.4. Cryptosporidiosisli Buzağılarda Serum Proteomik Bulgularının Değerlendirilmesi**

Grup 1'deki buzağılarda A1AT ve SAA proteinlerinin 0. gün serumunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanırken, ACTG ve HP20 proteinlerinin 3. gün serumlarında anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır.

Grup 1'deki buzağılarda 0. gün serumlarında BOVIN Alpha-1-antiproteinase (A1AT) konsantrasyonunun 3. gün serumlarına göre 1,21 kat artış ile anlamlı değişim gösterdiği tespit edilmiştir. A1AT'nin aynı zamanda alpha-1-antitripsin olarak da bilindiği ve karaciğerde sentezlenerek dolaşıma katıldığı bildirilmektedir (Uniprot, Gettins, 2002). Bu proteinin primer hedefinin elastaz olduğu, ancak plasmin ve trombin'e de orta düzeyde afiniteye sahip olduğu belirtilmektedir. A1AT'nin endopeptidazlar üzerine negatif düzenleyici rol oynayan serin tip endopeptidaz inhibitörü olduğu, tripsin, kimotripsin ve plasminojenin aktivasyonunu inhibe ettiği bildirilmektedir (Uiprot). Böylece A1AT'nin primer görevinin aşırı proteolizi önlemek olmakla birlikte antimikrobiyal, immunmodulator, antiinflamatuvar ve anti-apoptotik

etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Becker ve diğerleri, 2014; Indalao ve diğerleri, 2019; Murata, Shimada ve Yoshioka, 2004; Stoller ve Aboussouan, 2005).

Bazı yazarlar A1AT'nin akut faz reaktanı gibi davrandığını ve inflamasyon durumunda yükselme eğiliminde olduğunu belirtmişlerdir (Boehmer ve diğerleri, 2008; Gupta ve Sarin, 1984). Nitekim, Gupta ve Sarin (1984), A1AT'nin sağlıklı insanlara göre, endogenous uveitis ve phacoallergic endophtalmitis'li insanlarda serum A1AT'nin anlamlı ölçüde yüksek olduğunu bildirilmiştir. Boehmer ve diğerleri (2008) ise, sağlıklı ve mastitli ineklerin sütlerini karşılaştırdıkları araştırmada, mastitisli sütlerde alpha-1-antiproteinase aktivitesinin arttığını saptamışlardır.

Strygler, Nicar, Santangelo, Porter ve Fordtran, (1990), sağlıklı ve gastrointestinal problemi olan insanlarda dışkıdaki A1AT düzeyini incelemişler, ancak tutarlı sonuç elde edememişlerdir. Fontana ve diğerleri (1988) ise akut ishal olan yeni doğan çocuklarda, sağlıklılara göre dışkı A1AT düzeyinin daha yüksek olduğunu, özellikle Salmonella enfeksiyonlarında bu proteinin fekal atılımının arttığını belirlemişlerdir.

A1AT proteini ile cryptosporidiosis ilişkisi üzerine yapılan çalışmalar son derece sınırlı olmakla birlikte, alpha-1-antitrypsin (A1AT) eksikliği olan bir çocukta cryptosporidiosisin daha şiddetli ve uzun süreli hastalık oluşturduğu ortaya konmuştur (Becker ve diğerleri, 2014). *C. parvum* ookistlerinin parazitik serin (serine) proteazları varlığında ekskiste olarak sporozoitlerin serbest kaldığı ve duyarlı hücreleri enfekte ettiği bilinmektedir (Becker ve diğerleri, 2014; Forney, Yang ve Healey, 1997a). Nitekim Forney ve diğerleri (1997a) *C. parvum* ookistleri ve human alpha-1-antitripsin ile invitro koşullarda yaptıkları bir araştırmada, bu proteomun cryptosporidium ookistlerinin ekskistasyonuna karşı antagonist etki göstererek anticryptosporidial potansiyale sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Yine Forney, Yang ve Healey (1997b), A1AT ve paramomisin kullanımının sinerjik etki ile anticryptosporidial etki gösterdiğini invitro çalışmada göstermişlerdir. Bu proteomun cryptosporidiosisli buzağlarda invivo değerlendirilmesine dair bir çalışma yapılmamış olup, tez çalışmamızda ilk kez değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda Grup 1'de 0. gün serum örneklerinde 3. güne göre bu proteinin seviyesinin yüksek olması yukarıdaki bilgiler doğrultusunda, hem yüksek A1AT

düzeşinin anticryptosporidial etki göstererek tedavi ile bu grupta ookist azalışının daha hızlı şekillenmesi hem de tedavi ile yangının azalması ile açıklanabilir. Ayrıca çalışmamızda dışkı A1AT düzeyleri değerlendirilmemiş olmakla birlikte, birçok buzağıda ishal tek günle sınırlı olmadığından 3. gün örneklerinde serum A1AT düzeyinin düşmesi, Fontana ve diğeri (1988)'in bahsettikleri gibi ishal durumunda fekal atılımın artması nedeniyle şekillenmiş olabilir.

A1AT'nin inek ve insan sütlerinde varlığı da önceki çalışmalarda (Boehmer ve diğeri, 2008; Chowanadisai ve Lönnerdal, 2002) gösterilmiş olup, insanlarda yapılan araştırmada laktasyonun ilk günlerinde daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu ve laktasyonun ilerleyen zamanlarında seviyesinin azaldığı belirtilmiştir. Aynı araştırmada, invitro olarak sütteki A1AT'nin sindirime karşı dayanıklı olduğu ve laktoferrin gibi proteinleri sindirilmekten koruduğı belirtilmiştir (Chowanadisai ve Lönnerdal, 2002). Benzer şekilde çalışmamızda, A1AT'nin düşük kaliteli kolostrumlarda kısmen daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmakla birlikte kolostrum örneklerinde varlığı da saptanmıştır.

Grup 1'deki buzağılarda 0. gün serumlarında anlamlı değışim gösteren diğeri bir protein BOVIN Serum amyloid A protein (SAA) olmuştur. SAA, karaciğerde hepatositlerde üretilerek dolaşıma salınan, akut faz yanıtında rol alan apolipoprotein yapıda majör akut faz reaktanı olarak tanımlanmakta ve birçok farklı izoformları olduğu belirtilmektedir (Alsemgeest ve diğeri, 1995; Uniprot). SAA'nın türe bağılı olmakla birlikte akut faz yanıtı sırasında 1000 kata kadar yükselbildiğı bildirilmektedir (Alsemgeest ve diğeri, 1995).

SAA'nın immunsupresif, kolesterolün dokulardan hepatositlere geri taşınması, otokrin kollajenaz indükleyici, bakteriyel lipopolisakkaridlere bağlanarak istilacı mikroorganizmalara karşı savunma, yıkımlanan doku bileşenlerinin dolaşımdan uzaklaştırılması, oksidatif ürünlerin inhibisyonu, endotoksinlerin detoksifikasyonu, lenfosit ve endotelial hücre proliferasyonunun inhibisyonu, platelet kümeleşmesinin inhibisyonu ve T lenfositlerin ekstraselüler matriks proteinlerine adhesyonunun önleminde rol oynadığı bildirilmiştir (Alsemgeest ve diğeri, 1995; Murata ve diğeri, 2004; Tobias, McAdam ve Ulevitch, 1982). Bu fonksiyonları ile SAA'nın

enflamatuar sürecin down regülasyonunda da rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Murata ve diğerleri, 2004).

Sığırlarda birçok yangısal süreçte SAA'nın yükseldiği gösterilmiştir (Ansari-Lari, Nazifi, Rezaei ve Asadi-Fardaqi, 2008; Karreman, Wentink ve Wensing, 2000). SAA artışının akut yangısal durumlarda daha belirgin olduğu dolayısıyla akut ve kronik yangıların ayırımında kullanılabileceği bildirilmiştir (Horadagoda ve diğerleri, 1999). Bu bağlamda SAA'nın ruminantlarda diagnostik, prognostik amaçlarla ve tedavinin moniterizasyonunda kullanılabilen akut faz proteini olduğu belirtilmektedir (Dinler ve diğerleri, 2017; Murata ve diğerleri, 2004). Nitekim, SAA'nın buzağılarda omphalitis durumunda serum seviyesinin yükseldiği, operasyon sonrası ise seviyesinin anlamlı derecede düştüğü gösterilmiştir (Bozukluhan ve diğerler, 2018). Yine, *E.coli*, *rotavirus*, *coronavirus* ve *Eimeria* kaynaklı ishallerde sağlıklı olanlara göre SAA seviyesinin yükseldiği (Balıkçı ve Al, 2014), hatta ishallerde SAA'nın önemli derecede arttığını ve bu artışın ishallerin şiddeti ile ilişkili olduğu (Hajiomohammadi, Nazifi, Ansari-Lari, Khoshmanzar ve Bigdeli, 2013) ortaya konmuştur. Dinler ve diğerleri (2017) ise, cryptosporidiosisli kuzularda SAA düzeyinin sağlıklılara göre yüksek olduğunu, ancak dışkıdaki ookist miktarı ile SAA arasında bir ilişki olmadığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda SAA'nın Grup 1'deki buzağılarda 0. gün serumunda 2,16 kat yüksek olduğu, 3. gün ise down regule olduğu saptanmıştır. Buzağılarda 0. gün ishal ve cryptosporidiosisin şiddeti 3. güne göre daha fazla olduğundan SAA'nın 0. gün yüksek olması diğer çalışmalara paralellik göstermiştir (Ansari-Lari ve diğerleri, 2008; Balıkçı ve Al, 2014; Dinler ve diğerleri, 2017). Bu anlamda Grup 1'de kolostral tedavi ile SAA düzeyinin downregule olması 3. günde yangının şiddetinin azalması ve dolayısıyla tedavi başarısının göstergesi olabilir. Ayrıca dışkı ookist sayısı ve SAA düzeyi dikkate alındığında Dinler ve diğerleri (2017)'nin aksine aralarında doğrusal bir ilişki olduğu görülmüştür. Ancak bu durumun değerlendirilmesinde daha detaylı (n sayısı daha fazla) çalışmalara ihtiyaç görülmektedir.

Önceki çalışmalarda insan (Kumon ve diğerleri, 2011) ve inek (McDonald, Larson, Mack ve Weber, 2001) kolostrumlarında SAA'nın saptandığı bildirilmesine rağmen, çalışmamızda kolostrum örneklerinde SAA tanımlanmamıştır. Bu durumun,

kolostrum örneklerinde analiz sırasında büyük moleküllü maddelerin uzaklaştırılırken, bazı düşük moleküllü proteinlerin kaybolmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda actin cytoplasmic 2 (ACTG)'nin Grup 1'deki buzağılarda 3. gün serumunda 1,31 kat değişim oranı ile up regule olduğu saptanmıştır. Uniprot protein veri bankasında, actinlerin bütün ökaryotik hücrelerden salınan ve birçok hücre tipinin motilitesinde rol alan proteinler oldukları belirtilmektedir. Ayrıca actinlerin ATP, benzer protein ve profilin bağlanması, postsinaptik actin iskeletinin yapısal bileşeni ve ubiquitin protein ligase bağlanması gibi moleküler fonksiyonlarının olduğu, anjiogenesis, interferon gammaya hücresel yanıt, hücre göçünün pozitif regülasyonu, gen ekspresyonunun pozitif regülasyonu ve yara iyileşmesinin pozitif regülasyonu gibi birçok biyolojik proseslerde rol aldığı bildirilmektedir (Uniprot). ACTG ile yapılmış çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, inek uterusuna *E. coli* lipopolisakaridi uygulanmasının endometrial epitelde actin-sitoplasmik 2 düzeyinde down regülasyona yol açtığı bildirilmiştir (Piras ve diğerleri, 2017).

Literatürde, cryptosporidiosisli buzağılarda ACTG düzeyi üzerine bir araştırma bulunmamakta, ancak genel olarak aktin düzeyinde çalışmalara rastlanmıştır. Bu anlamda cryptosporidium türleri ile enfeksiyon sonucu konak canlıda, konak ile parazitofor vakuol arasında aktin ve aktin bağlayıcı proteinlerden oluşan plak benzeri yapı şekillendiği belirtilmiştir (Elliott ve Clark, 2000; O'Hara, Small, Chen ve LaRusso, 2008). Forney, Vaughan, Yang ve Healey (1998), cryptosporidium sporozoitlerinin hareketlerinin aktin bağımlı olduklarını belirtmişlerdir. Çalışmamızda Grup 1'de 0. gün serum örneklerine göre 3. gün örneklerinde ACTG'nin up regule olması, önceki araştırmalarda da belirttiği üzere cryptosporidiosisde hücresel yanıtın ön planda olması ve iyileşme süreci ile ilişkilendirilebilir (Harp ve Goff, 1998; Thomson ve diğerleri, 2017).

İnek kolostrumu ve sütünde ACTG tespit edilmesine rağmen (Nissen, Andersen, Bendixen, Ingvarsen ve Røntved, 2017), çalışmamızda kolostrum örneklerinde bu protein tanımlanmamıştır. Bu durumun analizde globülin gibi büyük moleküllü proteinlerin uzaklaştırılması sırasında kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda Grup 1’de tespit edilen proteinlerin bir diğeri de protein HP-20 homolog (HP20) olmuştur. Bu proteinin bazı kaynaklarda hibernation spesifik protein-20 olarak da tanımlandığı görülmektedir (Fujita ve diğeri, 2013). Literatürde ve Uniprot protein veri bankasında bu proteinin görevleri üzerine veri bulunmamaktadır. Bu proteinin inek kolostrumunda (Nissen ve diğeri, 2017), endotoksemili buzağı serumunda (Yılmaz ve diğeri, 2016) ve Murrah ırkı mandalarda (*Bubalus bubalis*) kan plazmasında (de Pontes ve diğeri, 2017), sığırların foliküler sıvısında (Ferrazza ve diğeri, 2017) saptandığı bildirilmiştir. Persiste endometrial inflamasyonda protein HP-20 homolog’un up regule olduğu, endometritislerin erken teşhisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Miller ve diğeri, 2019). Yine sığırlarda açlığı takiben HP20 konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (Fujita ve diğeri, 2013). Literatürde cryptosporidiosis vakalarında HP20 düzeyi üzerine yapılmış araştırma bulunmadığından, çalışmamızda bu proteinin kolostral tedavi ile 3. gün kan serumunda 1,22 değişim oranı ile up regule olduğu ilk kez saptanmıştır. Ayrıca yukarıda bahsedildiği üzere, buzağılarda ishal birkaç gün devam ettiği ve bağırsakta şeker vb. moleküllerin emilimi aksadığı için 3. gün serumlarında bu protein upregule olmuş olabilir.

HP20’nin daha önceki çalışmalarda (Nissen ve diğeri, 2017) da gösterildiği gibi çalışmamızda kolostrum örneklerinde varlığı saptanmıştır. Ancak ilk defa yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlardaki karşılaştırması yapılmış olup, yüksek kaliteli kolostrumlarda daha fazla bulunduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu proteinin 3. gün serumlarında up regule olması, kolostral tedavi ile emiliminin artmasından da kaynaklanabilir.

Grup 2’deki buzağılarda A1BG, S39AB, CTHL1 ve ACTB proteinlerinin 0. gün serumunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu saptanırken, APOA4 proteinin 3. gün serumlarında anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada Alpha-1B-glycoprotein (A1BG), Grup 2 deki buzağılarda 0. günde 1,34 değişim oranı ile yüksek seviyede bulunurken, 3. günde down regule olduğu saptanmıştır. Uniprot veri bankasında A1BG’nin platelet degranulasyonu ve nötrofil degranülasyonunda rol aldığı bildirilmiştir (Uniprot). Literatürde bu proteinle ilgili araştırmalar sınırlı olup, endotoksemili buzağılarda (Yılmaz ve diğeri, 2016)



ve mastitisli inek sütlerinde (Boehmer ve diğerleri, 2011) bu proteinin tespit edildiği bildirilmiştir. Nitekim, Yılmaz ve diğerleri (2016), lipopolisakkarit uygulaması sonrası buzağılarda serum A1BG düzeyinin azaldığını saptamışlardır. Yine sığırlarda *Mycobacterium bovis* ve *Mycobacterium paratuberculosis* enfeksiyonlarında A1BG'nin tespit edildiği ve özellikle *M. bovis* enfeksiyonlarında bu proteinin seviyesinin yükseldiği bildirilmiştir (Seth ve diğerleri, 2009). Çalışmamızda A1BG düzeyinin üçüncü günde azalması, yangının azalması ve klinik iyileşme ile nitelendirilmiştir. Nitekim 0. gün değerlerine göre 3. gün örneklerinde atılan ookist miktarının ve dışkı skorunun azaldığı görülmüştür.

A1BG nin süt ve kolostrumda varlığını bildiren araştırmalar (Le, Barton, Sanders ve Zhang, 2011; Nissen ve diğerleri, 2017) olmakla birlikte ilk kez düşük kaliteli kolostrum örneklerinde istatistiksel anlamlılık derecesinde daha fazla bulunduğu ortaya konmuştur. Çalışmamızda kolostral tedaviye rağmen, 3. gün buzağı kan serumunda A1BG düzeyinin azalması, kolostrumdan emilimin olmadığına işaret edebilir.

Bu çalışmada tespit edilen proteinlerden bir diğeri birçok varyantı bulunan çinko taşıyıcı moleküllerden (zinc transporters) olan Zinc transporter ZIP11 (S39AB) olmuştur. S39AB'nin fonksiyonları hala tam olarak bilinmemekle birlikte (Yu ve diğerleri, 2013), hücrel çinko taşıyıcısı olarak görev yaptığı ve hücrel çinko homeostazisinin sağlanmasında rol aldığı bildirilmektedir (Ohashi, Hara, Takagishi, Hase ve Fukada, 2019; Uniprot). Ayrıca çinko taşıyıcı moleküllerin bağırsak stem hücrelerinin kendi kendini yenilemesinde rol aldığı belirtilmektedir (Ohashi ve diğerleri, 2019).

Buzağılarda yapılan bir araştırmada çinko-methiyonin kullanımının buzağılarda karaciğer ve serum çinko seviyesini artırdığı, ishal insidansını azalttığı ve jejunum mukozasında ZIP4 transporter düzeyinde artış sağladığı saptanmıştır (Ma ve diğerleri, 2020). Yapılan araştırmalarda, ZIP11'in böbrek ve idrar kesesi kansinomalari ile ilişkili olduğu, ayrıca kolorektal kanserlerde tümör hücrelerinin çinkoya ihtiyacını karşılamak amacıyla S39AB'nin up regule olduğu belirtilmiştir (Ohashi ve diğerleri, 2019)

S39AB'nin fare midesi ve kolonunda mukozal bütünlük, fonksiyonlar ve pH'ın sürdürülmesinde rol aldığı belirtilmiştir (Martin ve diğerleri, 2013) Literatürde cryptosporidiosisli buzağılarda S39AB ile ilgili bir araştırma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, Grup 2'deki buzağılarda 0. günde 1,29 değişim oranı ile yüksek seviyede bulunurken, 3. günde down regule olduğu saptanmıştır. Bu anlamda, devam eden ishal durumunda bağırsak rejenerasyonu ve mukozal bütünlüğün sürdürülmesi için artan tüketim ile ilişki olarak S39AB düzeyinin 3. günde azalmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmada, kolostrum örneklerinde S39AB tespit edilmediğinden, kolostrum tüketiminin buzağı serumunda bu proteinin miktarına pozitif etki yapmadığı görülmüştür.

Grup 2'deki buzağılarda tespit edilen proteinlerden bir diğeri cathelicidin-1 (CTHL1) olup 0. gün serumlarında 1,98 değişim oranı ile yüksek seviyede olduğu ve 3. gün ise down regule olduğu saptanmıştır. Cathelicidinler genel olarak konakçı savunma peptitleri sınıfı proteinler olup, bakteri, mantar ve zarflı virüslere karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteleriyle bilinmektedirler (Young-Speirs, Drouin, Cavalcante, Barkema ve Cobo, 2018). Hatta, cathelicidinlerin enfeksiyonu doğrudan kontrol etme ve konakçının savunma yanıtını düzenleme konusundaki kapasiteleri ile, antibiyotiklere ve immünomodülatörlere alternatif olarak potansiyel olarak kullanılabilirliği vurgulamaktadır (Young-Speirs ve diğerleri, 2018).

Sığırlarda birçok farklı cathelicidin tipi tanımlanmış olup, CTHL1'in lipopolisakkarid bağlanması, sitolisis, gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı savunma yanıtı ve doğuştan gelen immün yanıtta görev aldığı bildirilmektedir. Ayrıca özellikle *S. aureus* ve *E. coli* başta olmak üzere, mikrobisidal aktiveye sahip olduğu belirtilmektedir (Uniprot). Bu anlamda Ibeagha-Awemu, Ibeagha, Messier ve Zhao (2010), *E. coli* ve *S. aureus* kaynaklı mastitislerde CTHL1'in up regule olduğunu saptamışlardır. Smolenski ve diğerleri (2011) ise cathelicidinlerin sığırlarda mastitisli sütlerde enfeksiyon başlangıcında somatik hücre sayısı ile güçlü korelasyon gösterdiğini ve somatik hücre sayısı  $6,2 \times 10^3$  kadar düşük iken ve klinik bulgular başlamadan dahi tespit edilebildiğini dolayısıyla mastitisin erken biyobelirteci olabileceğini ve enfeksiyon aşamasının belirlenmesinde kullanılabilirliğini ifade etmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda cryptosporidiosisin ilk gününde CTHL1 düzeyinin yükselmesi, enfeksiyonun ilk gün daha şiddetli olması ile ilişkilendirilebilir.

Diğer yandan çalışmada kolostrum örneklerinde (düşük kaliteli kolostrumda daha yüksek konsantrasyonda) de CTHL1 tespit edilmesine rağmen, 3. gün serum örneklerinde down regule olması, yeterince emilmediğinin göstergesi olabilir.

Grup 2'deki buzağuların 0. gün serumlarında daha yüksek konsantrasyonlarda tespit edilen bir diğer protein Actin cytoplasmic-1 (ACTB) olmuştur. Uniprot veri bankasında, aktinlerin hücrelerin sitoplazmasında filamentler üretmek için polimerize olan oldukça korunmuş yapıdaki proteinler oldukları, monomerik (G-aktin) veya polimerik (F-aktin) formlarda bulunabildikleri, hücre hareketliliği ve kasılması, gen transkripsiyonunu ve hasarlı DNA'nın hareketliliğini ve onarımını düzenleme gibi fonksiyonlara sahip oldukları belirtilmiştir (Uniprot).

Cryptosporidiosisli buzağularda, ACTB düzeyi ile ilişkili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmada Grup 2'de 3. günde klinik iyileşme gözlenirken beraberinde bu proteinin down regule olması, ACTB'nin ishal sürecinde aşırı tüketimi veya dışkı ile kaybindan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Hatta bu proteinin belki bir akut faz proteini gibi yangı ile ilişkili olabileceği öne sürülebilir.

Niessen ve diğerleri (2017), inek sütü ve kolostrumunda ACTB'nin tespit edildiğini bildirmişler; Le ve diğerleri (2011) inek kolostrumunda süte göre ACTB'nin up regule olduğunu saptamışlardır. Böylece kolostrum ve sütte ACTB varlığı üzerine çalışmalar yapılmış olsa da yüksek kaliteli ve düşük kaliteli kolostrumlarda ACTB düzeyleri ilk kez çalışmamızda karşılaştırılmıştır. Bu anlamda çalışmamızda ACTB'nin, 1,42 kat değişim oranı ile düşük kaliteli kolostrum örneklerinde istatistiki anlamlılık derecesinde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Ancak kolostral tedaviye rağmen buzağı kan serumunda bu proteinin düzeyinin azalması, yeterince emilim olmadığına işaret etmektedir.

BOVIN Apolipoprotein A-IV (APOA4)'ün, çalışmada Grup 2'de 0. güne göre 3. günde 1,46 değişim oranı ile upregule olduğu tespit edilmiştir. APOA4'ün kolesterol, fosfotidilkolin ve fosfolipid bağlanması, kolesterol homeostasisi, lipoprotein lipaz aktivitesinin pozitif regülasyonu, lipid biyosentez prosesinin pozitif regülasyonu, trigliserid homeostasisi, çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL) partiküllerinin şekillendirilmesi gibi birçok biyolojik ve moleküler fonksiyona sahip olduğu belirtilmektedir (Uniprot). Ayrıca APOA4'ün antiatherogenic, antioksidan ve

antiinflamatuvar özellikleri olduğu bildirilmektedir (Broedl ve diğerleri, 2007; Vowinkel ve diğerleri, 2004).

Yenidoğan buzağılarda (Herosimczyk ve diğerleri, 2013) ve domuzlarda (Huang, Olson, Gordon, Middleton ve Simko, 2012) kolostrum tüketimi sonrası kanda APOA4'ün up regule olduğu bildirilmiştir. Michalek, Dratwa-Chalupnik ve Jaszczuk, (2015) ise, süt ikame yem ve laktoz verdikleri buzağılarda serum APOA4 seviyesinin yükseldiğini bildirmişlerdir.

Nissen ve diğerleri (2017) inek kolostrumun ve sütünde APOA4 bulunduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda yüksek kaliteli kolostrum örneklerinde APOA4'ün daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ve buna paralel olarak kolostral tedavi ile Grup 2'de 3. gün kan serumunda up regule olduğu ortaya konmuştur. Böylece, Herosimczyk ve diğerlerinin (2013) yeni doğanlarda kolostrum tüketimi sonrası gösterdikleri APOA4 konsantrasyon artışının daha büyük buzağılarda da gerçekleştiği gösterilmiştir. Yine 3. gün serum örneklerinde APOA4'ün yükselmesi, bağırsak permabilitesinin kısmen düzelmesi ve lipid emiliminin artmasına cevaben de şekillenmiş olabileceği öne sürülmektedir. Ayrıca APOA4'ün antiinflamatuvar etkileri olması dolayısıyla 0. günde yangı daha şiddetli olduğu için bu proteinin tüketiminin arttığı, 3. günde ise yangı azaldığı için tüketimin azalmasının serum düzeyinin up regule olmasına katkı sağladığı düşünülmektedir.

Grup 1 ve Grup 2'de uygulanan kolostral tedavi ile buzağı kan serumunda yukarıda adı geçen proteinlerde anlamlı değişiklikler saptanmasına rağmen, kolostrum uygulanmayan Grup 3'teki buzağılarda proteomik analizlerde günler arasında hiçbir proteomda anlamlı değişiklik görülmemiştir. Bu durum tedavide kolostrum uygulanan gruplarda, buzağının yaşına rağmen (yeni doğan olmamasına rağmen) yüksek kaliteli kolostrumda bulunan bazı proteinlerin değişen oranlarda da olsa emilebildiğini ortaya koymuştur. Ayrıca Grup 1'de daha belirgin olmakla birlikte kolostrum verilen gruplarda iyileşmenin daha kısa sürede ve daha belirgin olması bu proteomların sistemik ve bağırsaktaki lokal etkileri ile tedavide olumlu etkileri olduğu kabul edilebilir.

## 5.5. Kolostrum Proteomik Bulgularının Değerlendirilmesi

Yang ve diğerleri (2017), inek ve insan sütü ile kolostrumları üzerine yaptıkları araştırmada 584 protein tespit etmişlerdir. Le ve diğerleri (2011) inek sütü ve kolostrumu üzerinde yaptıkları araştırmada 217'si süt ve kolostrumda ortak olmak üzere 293 protein tanımlamışlardır. Tanımladıkları proteinlerin 36 tanesinin kolostruma, 40 tanesinin ise süte spesifik olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmada kolostrumda bulunan toplam protein sayısı ise 253 olarak belirtilmiştir. Adı geçen çalışmada kolostrumda süte göre immunoglobulin bileşenleri ve doğal savunmada rol alan proteinlerin up-regule oldukları belirtilmiştir. Nissen ve diğerleri (2017) inek sütü ve kolostrumunda, 162'si selüler kısımda 352'si ise sıvı kısımda olmak üzere 514 protein tanımlamışlardır. Aynı çalışmada 140'ı sıvı kısımda ve 324'ü selüler kısımda olmak üzere 464 protein kolostrumda tanımlanmıştır. Zhang ve diğerleri (2015a), doğum sonrası 9 gün boyunca değerlendirdikleri inek kolostrumu ve sütünde 212 protein tespit etmişlerdir. Zhang ve diğerleri (2015b) ise laktasyonun farklı dönemlerindeki inek sütleriyle yaptıkları araştırmada 229 protein tespit etmişlerdir. Nissen ve diğerleri (2012) ise sığır kolostrumunda 403 adet protein tanımlanmışlardır. Bizim araştırmamızda ise kolostrum numunelerinde, NCBI Ref Seq veri tabanına göre 54'ü anlamlı olmak üzere 221 protein tanımlanırken, Uniprot veri tabanına göre inek kolostrumlarında 19'u anlamlı değişim gösteren toplam 95 protein tanımlanmıştır. Farklı çalışmalardaki tespit edilen protein miktarındaki farklılığın nedeninin laktasyon dönemindeki farklılık, kullanılan analiz metotları, protein gen bankası veri tabanı ve hayvanların ırk farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çalışma kapsamında, kolostrum örneklerinde elde edilen proteinlerin 8 tanesi (TETN, SFRP1, PLIN2, COPE, BT1A1, UBB, MFGM ve ALBU) yüksek kaliteli kolostrumlarda, 11 tanesi (GLCM1, COF1, CASA2, LALBA, A1BG, ACTB, NUCB1, CTHL4, ITIH4, CH3LI ve CD14) ise düşük kaliteli kolostrumlarda daha fazla konsantrasyonlarda bulunmak üzere 19 proteinin anlamlı değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Anlamlı değişim gösteren proteinlerin moleküler fonksiyonlarına bakıldığında başlıca bağlayıcı (binding) aktivite olmak üzere, katalitik aktivite, moleküler dönüştürücü ve yapısal moleküler aktivitede sorumlu oldukları görülmektedir (Şekil 53). Tespit edilen anlamlı proteinlerin görev aldıkları yollar irdelendiğinde, hücre iskeleti düzenleme yolağı ve Wnt sinyalizasyon yolları dikkat

çekici bulunmuştur (Şekil 56). Tespit edilen proteinlerin sellüler komponentlerdeki dağılımlarına bakıldığında başlıca hücre, hücre kısımları, membran ve membran kısımlarında yer aldıkları tespit edilmiştir (Şekil 55). Benzer şekilde, Le ve diğerleri (2011) de inek kolostrumunda tespit ettikleri kolostrum proteomlarının çoğunluğunun ekstrasellüler bölge olmak üzere sitoplazma, intrasellüler organel ve membran kısımlarında yer aldığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada kolostrum örneklerinde tespit edilen proteinlerin, öncelikli olarak immunité proteinleri olmak üzere, metabolit interconversion enzim, transmembran sinyal reseptörü, hücre iskeleti proteinleri, kalsiyum bağlayıcı proteinler, hücreler arası sinyal molekülü, membran değiş-tokuş proteini (traffic) ve protein taşıyıcı aktivite düzenleyici proteinler olduğu görülürken (Şekil 57), Le ve diğerleri (2011) ise, inek kolostrumunda tespit ettikleri 253 adet proteininin en çok sırasıyla, hücresel prosesler, metabolik prosesler, uyarana karşı yanıt ve biyolojik düzenlemede görev aldıklarını belirtmişlerdir.

Süt ve kolostrumun içeriklerinin besin öğeleri, makro moleküller ve mikromoleküler yapıları ile birbirinden farklı olduğu bilinmektedir (Nissen ve diğerleri, 2017; Yang ve diğerleri, 2017; Zhang ve diğerleri, 2015b). Le ve diğerlerinin (2011) inek kolostrum ve sütü karşılaştırdıkları araştırmada, Actin, cytoplasmic-1 (hücresel motilide görevli), Lactadherin (MFGM komponenti olup viral enfeksiyonun önlenmesinde görevli) ve Alpha-1B-glycoprotein'in (Ig benzeri V tipi alanlar içerir) içinde bulunduğu 24 proteinin kolostrumda daha yüksek oranda bulunduğunu; Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1, Nucleobindin-1 (kalsiyum taşınmasında görevli) ve Butyrophilin subfamily 1 member A1'in içinde bulunduğu 8 proteinin ise sütte anlamlı derecede daha yüksek oranda bulunduğu bildirilmiştir. Lactadherin konsantrasyonu, adı geçen çalışmaya benzer şekilde çalışmamızda yüksek kaliteli kolostrumlarda daha fazla bulunurken (up-regulasyon), Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 ve Nucleobindin-1 adlı proteinler düşük kaliteli kolostrum örneklerinde daha yüksek oranlarda bulunmuştur. Bu durum düşük kaliteli kolostrum örneklerinin içerik olarak normal süte benzer olmasına dayandırılmıştır. Ancak, Le ve diğerleri (2011)'nin bulduğu sonuçtan farklı olarak bizim çalışmamızda Actin cytoplasmic-1 ve Alpha-1B-glycoprotein ise düşük kaliteli kolostrum örneklerinde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunurken, ve Butyrophilin subfamily

1 member A1 adlı proteinin ise yüksek kaliteli kolostrum örneklerinde daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmanın kolostrum örneklerinde anlamlı değişim gösterdiği tespit edilen proteinlerden ilki Tetranectin (TETN) olmuştur. TETN'in kan serumunda ve ekstraselüler matrikste bulunabilen bir protein olup (Wewer ve diğerleri, 1994; Zhang ve diğerleri, 2015b), ilk olarak 1986 yılında insan serumunda saptandığı bildirilmektedir (Clemmensen, Petersen ve Kluft, 1986). TETN'in nötrofil, monosit ve fibroblastlar başta olmak üzere birçok farklı hücre tipi tarafından üretildiği bildirilmiştir (Borregaard, Christensen, Bejerrum, Birgens ve Clemmensen, 1990; Nielsen, Clemmensen ve Kharazmi, 1993). Plazminojen kringle 4 bağlayıcı protein olan TETN'in biyolojik fonksiyonu henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, doku rejenerasyonu, osteogenesis ve miyogenesis'te rol aldığı belirtilmiştir (Obrist ve diğerleri, 2004; Park ve diğerleri, 2015; Wewer ve diğerleri, 1998; Xu ve diğerleri, 2001). Protein veri bankası (Uniprot)'a göre TETN'in, kalsiyum iyon bağlanması, karbonhidrat bağlanması, heparin bağlanması, kemik mineralizasyonu, ossifikasyon ve plazminojen aktivasyonunda görev aldığı belirtilmiştir. Bu anlamda tetranectin'in plazminojene bağlanarak aktivasyonunu sağladığı ve proteolitik süreçlerin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Westergaard, Andersen, Heegaard, Fedosov ve Petersen, 2003; Zhang ve diğerleri, 2015b). Park ve diğerleri, (2015) fetal ve ergin sığır serumunda yaptıkları araştırmada TETN'in adipojenik bir protein olduğunu ve fetal sığır serumunda daha yüksek miktarlarda bulunduğunu saptamışlardır. Bu bilgiler doğrultusunda, yeni doğanlarda doku rejenerasyonu ve gelişimin hızlı olması nedeniyle bu ihtiyacın karşılanması amacıyla kolostrumda TETN düzeyinin yüksek miktarlarda olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda TETN'in yüksek kaliteli kolostrumlarda 3,07 kat artış gösterdiği de dikkate alındığında, buzağı beslenmesinde kaliteli kolostrumların önemi birkez daha ortaya konulmuştur.

Çalışmada yüksek kaliteli kolostrum örneklerinde 1,47 kat artış ile anlamlı değişim gösteren diğer bir protein Secreted frizzled-related protein 1 (SFRP1) olmuştur. SFRP1'in, belirli hücre tiplerinde hücre büyümesini ve farklılaşmasını düzenleyici görev aldığı, vasküler hücreler üzerinde antiproliferatif etkileri olduğu bilinmektedir (Uniprot). Esteve ve diğerleri (2019), Alzheimer hastalığında beyin ve

beyin omurluk sıvısında SFRP1'in arttığını göstererek hastalığın patogenezinin katkı sağlamışlardır. Klopocki ve diğerleri (2004), tümör gelişiminde Wnt sinyal yolağının önemli rolü olduğunu, SFPR-1'in ise Wnt sinyal yolağının negatif regülatörü olduğunu belirtmiştir. Daha önceki çalışmalarda SFRP1'in süt ve kolostrumda tespiti yapılmadığından çalışmamızda ilk defa kolostrum numunelerinde (yüksek kalitelielerde daha fazla oranda) saptandığı görülmüştür. SFRP1'in hücre büyümesi ve farklılaşmasındaki rolü düşünöldüğünde yeni doğanlardaki mitotik aktivitenin yüksekliğı nedeniyle ihtiyacı karşılamak amacıyla kolostrumda bulunduğı düşünölebilir.

Kolostrumda tespit edilen BOVIN Perilipin-2'nin (PLIN2) aynı zamanda Adipophilin olarak da bilindiğı, ökaryot hücrelerinde yağ birikiminin düzenlenmesi, yağ dokusunun gelişimi, devamlılığının sağlanmasında (Mather, 2000; Russel ve diğerleri, 2007; Uniprot) ve hücreler arası transportta (Zhang ve diğerleri, 2015b) rol oynadığı belirtilmiştir. PLIN2'nin inek sütü ve kolostrumu ile yapılan önceki çalışmalarda da tespit edildiğı (Dallas ve diğerleri, 2014; Le ve diğerleri, 2011; Zhang ve diğerleri, 2015b) ve PLIN2'nin hem exosome proteinleri arasında (Reinhardt ve diğerleri, 2012) hem de süt yağ globul membranında (Mather, 2000) en bol bulunan proteinden biri olduğı ve süt yağı sekresyonunda anahtar rol oynadığı bildirilmiştir. (Russell ve diğerleri, 2007; Zhang ve diğerleri, 2015b).

Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda ilk kez araştırılan PLIN2 konsantrasyonunun yüksek kaliteli kolostrumlarda 2,44 kat daha yüksek olduğı tespit edilmiştir. İnek sütü ve kolostrumunun içerikleri karşılaştırıldığında inek kolostrumunda yağ oranının daha yüksek olduğı bilindiğinden (Godden, 2008) ve yüksek kaliteli kolostrumlarda da Brix % değerinin daha yüksek olması protein konsantrasyonunun yüksekliğı yanında yağ ve kuru madde oranlarındaki değışimlerden de etkilenebildiğı ve dolayısıyla PLIN2 konsantrasyonunun yüksek kaliteli kolostrumlarda up regule olabildiğı öne sürölebilir.

Çalışmada yüksek kaliteli kolostrumlarda BOVIN Coatomer subunit epsilon (COPE)'nin, 3,37 kat artış ile anlamlı değışim gösterdiği saptanmıştır. COPE'nin sitosolik (cytosolic) protein kompleksi olduğı ve endoplasmik retikulumdan protein transportunda görev aldığı bilinmektedir (Uniprot). COPE'nin fonksiyonları ile ilgili



bilgi sınırlıdır. Microcystin ile akciğer hasarı oluşturulan farelerin akciğer dokusunda COPE konsantrasyonunun arttığı gösterildiğinden (Zhao, Sun, Yan, Xu ve Shen, 2018) bunun yangısal bir protein olabileceği düşünülmüştür. Kolostrumda COPE tespiti ile ilgili literatüre rastlanmaması, bu çalışmada ilk kez tespitini göstermiştir.

Kolostrumlarda tespit edilen BOVIN Butyrophilin subfamily 1 member A1 (BT1A1) adlı proteinin yüksek kaliteli kolostrumlarda 1,88 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. BT1A1'in fonksiyonu hala tam olarak anlaşılmasa da (Mather, 2000), apikal plazma membranı ile sitoplazmik damlacıkların birleşmesi için spesifik bir membranla ilişkili reseptör görevi yaparak süt yağı damlacıklarının salgılanmasında rol oynadığı bildirilmiştir (Uniprot) Ayrıca sitokin üretiminin düzenlenmesi, immun yanıtın düzenlenmesi ve T hücre reseptör sinyalleme yolağında rol alarak savunma da rolü olduğu belirtilmiştir. (Ibeagha-Awemu ve diğerleri, 2010; Uniprot).

Yunanca “Buthros” ve “philos” kelimelerinin birleştirilmesi ile oluşturulan “Butyrophilin” in kelime anlamı olarak “yağı seven (yağa afinite duyan)” anlamına geldiği belirtilmiştir (Mather, 2000). Nitekim, süt yağ globül membran proteomları ve eksosom membran proteomlarının karşılaştırıldığında BT1A1'in süt yağ globül membranında daha yoğun bulunduğu belirtilmiştir (Mather, 2000; Reinhardt ve diğerleri, 2012). Le ve diğerleri (2011), BT1A1'in süt ve kolostrumda miktarlarını araştırdıkları çalışmada kolostrumda 4,4 kat daha yoğun bulunduğunu; Nissen ve diğerleri (2017), ise kolostrum ve sütün selüler kısımlarını karşılaştırdıklarında kolostrumda daha yoğun bulunduğunu, sıvı kısımları karşılaştırdıklarında ise sütte daha yoğun bulunduğunu tespit etmişlerdir. Ibeagha-Awemu ve diğerleri (2010), mastitli inek sütlerinde BT1A1 düzeyinin down regule olduğunu belirtmişlerdir. Bu bilgiler temelinde, yüksek kaliteli kolostrumlarda BT1A1 yoğunluğunun daha fazla olması süt yağı ile ilişkisinin yanında, bu kolostrumların IgG değerlerinde de olduğu gibi immünolojik bileşenler yönünden daha zengin oldukları görüşünü desteklemektedir. Dolayısıyla buzağı beslenmesinde yüksek kaliteli kolostrumların kullanılması sadece IgG konsantrasyonlarının yüksekliği ile değil, aynı zamanda BT1A1 gibi immünolojik moleküllerin de buzağılara sunulması anlamında önem taşıyabilir.

Çalışmada kolostrumlarda tespit edilen bir diğer protein Polyubiquitin-B (UBB) olmuştur. İlk kez düşük ve yüksek kaliteli kolostrumların proteomik yapılarının karşılaştırıldığı çalışmamızda, UBB'nin yüksek kaliteli kolostrumlarda 2,84 kat up regule olduğu saptanmıştır. Daha önce süt ve kolostrumda yapılan birçok çalışmada UBB tespit edilememesine rağmen, az sayıdaki bazı çalışmalarda kolostrum ve sütte Ubiquitin tespit etmişlerdir (Le ve diğerleri, 2011; Nissen ve diğerleri, 2017).

Uniprot gen bankası verilerine bakıldığında UBB'nin, serbest halde veya diğer proteinlere kovalent bağlı olarak bulunabildiği, serbest haldeki polyubiquitin protein kinaz aktivasyonu ve sinyallenme gibi farklı rollerde bulunabildiği, bağlı haldeki polyubiquitin ise bağlandıkları hedef proteinlere göre DNA tamiri, DNA hasarına yanıt, endoplasmik retikulum ilişkili bozulma (degradasyon), hücre döngüsünün düzenlenmesi, kinaz modifikasyonu, proteozom yoluyla protein degradasyonu gibi farklı fonksiyonlarda bulunabildiği görülmektedir (Uniprot). Le ve diğerleri (2011) ise ubiquitin protein bağlanması ve transkripsiyonun düzenlenmesinde etkili olduğunu belirtmişlerdir.

BOVIN Lactadherin (MFGM)'in, birçok dokuda apoptotik hücrelerin fagositik olarak uzaklaştırılmasına katkıda bulunduğu, bağırsak epitelial homeostazisin sürdürülmesinde ve mukozal iyileşmenin desteklenmesinde rol aldığı bildirilmiştir (Uniprot). Bazı yazarlar, MFGM'nin viral enfeksiyonlara karşı koruyucu rolü olduğunu da belirtmişlerdir (Le ve diğerleri, 2011; Mather, 2000). Ayrıca MFGM'nin major süt yağ globul membranı proteinlerinden biri olduğu belirtilmektedir (Mather, 2000; Reinhardt ve diğerleri, 2012). Nitekim, önceki çalışmalarda da olduğu gibi (Boehmer, 2011; Le ve diğerleri, 2011; Zhang ve diğerleri 2015b), çalışmamızda da kolostrum örneklerinde tespit edilmiş olup, yüksek kaliteli kolostrumlarda 1,64 kat artış ile anlamlı değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Dolayısıyla, yüksek kaliteli kolostrum tüketimi ile sağlanan MFGM'nin yeni doğanlarda bağırsak maturasyonunun (Blum, 2006) oluşmasında da çok büyük etkileri olduğu öngörülmektedir. Ayrıca, MFGM'nin bağırsak bütünlüğünün sağlanması ve rejenerasyonundaki pozitif etkileri dolayısıyla, cryosporidiosis gibi permabilite bozukluğu, villöz atrofi gibi intestinal problemlere yol açan durumlarda, tedavi de kullanımının katkı sağlayabileceği ileri sürülebilir. Nitekim kolostrum verilen

gruplarda klinik iyileşmenin (dışkı ookist saçılımı ve ishallerin gün sayılarının daha az olması) daha kısa sürede şekillenmesinde MFGM'nin de rolü olabilir.

Çalışmada tespit edilen bir diğer protein BOVIN Albumin (ALBU) olmuştur. Bilindiği gibi ALBU'nun ana işlevi, kanın koloidal ozmotik basıncının düzenlenmesi olup, su, Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Zn, Mg, yağ asitleri, hormonlar, bilirubin ve ilaçlara bağlanarak taşınmasında görev almaktadır. Ayrıca bakteriyel siderofor enterobaktinine bağlandığı ve *E. coli*'nin enterobaktin aracılı demir alımını inhibe ederek demir kullanımını önleyebildiği ve *E. coli* gibi enterik bakterilerin büyümesini sınırlayabildiği belirtilmektedir (Uniprot).

Levieux ve Ollier (1999) süt serumundaki başlıca dört proteinin IgG,  $\beta$ -lactoglobulin,  $\alpha$ -lactalbumin ve serum albümin (ALBU) olduğunu belirtmişlerdir. Nitekim, Niessen ve diğerleri (2017), kolostrumda daha yoğun olmakla birlikte inek sütünde de ALBU'nun bulunduğunu tespit etmişlerdir. Benzer şekilde erken postpartum dönemde (ilk 8 gün) takip edilen ineklerde ilk sağım kolostrumunda ALBU düzeyinin en yüksek olduğu ve devam eden sağımlarda azalma eğiliminde olduğunu saptanmıştır (Levieux ve Ollier, 1999). Çalışmamızda ise ilk kez yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda ALBU düzeyi karşılaştırılmış olup ALBU'nun yüksek kaliteli kolostrumlarda 1,69 değişim oranı ile up regule olduğu saptanmıştır. Belirtilen çalışmalar ve tez çalışmamızda elde edilen sonuçlar ışığında kolostrumdaki ALBU yoğunluğu da kaliteli kolostrumların bir göstergesi olabilir.

Çalışmamızda düşük kaliteli kolostrumlarda up regule (3,50 değişim oranı ile) olduğu belirlenen ilk protein BOVIN Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1 (GLCM1) olmuştur. GLCM1 ile ilgili bilgi son derece sınırlı olmakla birlikte, özdeş proteinlerin bağlanmasında (identical protein binding) görevli olduğu bildirilmektedir (Uniprot). Ayrıca GLCM1'in mucin benzeri antibakteriyel bileşen olduğu, konakçı savunması ve immunitede rol aldığı bildirilmektedir (Hettinga ve diğerleri 2011; Zhang ve diğerleri, 2015b). Daha önceki çalışmalarda da süt ve kolostrumda GLCM1 saptanmış olup (Dallas ve diğerleri, 2014; Nissen ve diğerleri, 2017), Hettinga ve diğerleri (2011), inek ve insan sütlerini kıyasladıklarında inek sütünde anlamlı derecede GLCM1'in up regule olduğunu ifade etmişlerdir. GLCM1'in sığır sütünde kolostruma göre 2 kat daha fazla bulunarak up-regule olduğu tespit edilmiştir (Le ve

diğerleri, 2011). Bu bağlamda düşük kaliteli kolostrumların immun fonksiyon ve içerik bakımından süte benzerliği dikkate alındığında, GLCM1'in düşük kaliteli kolostrumlarda daha fazla bulunması anlamlı görünmektedir.

BOVIN Cofilin-1 (COF1), düşük kaliteli kolostrumlarda 17,42 kat değişim ile up regule olduğu saptanmıştır. COF1'in aktin ile bağlanarak hücre hareketten sorumlu olduğu, ayrıca mitoz ve normal sitokinez (cytokinesis) de gerekli olduğu, hücre morfolojisi ve hücre iskeletin düzenlenmesinde rol aldığı bilinmektedir. Boehmer ve diğerleri (2011) mastitisli sütlerde COF1'i tespit ederken; Ibeagha-Awemu ve diğerleri (2010) ise farklı bir cofilin-1 izolatının (BOJYL8) mastitisli inek sütlerinde up regule olduğunu bulmuşlardır.

Kolostrum örneklerinde tespit edilen bir diğer protein ise BOVIN Alpha-S2-casein (CASA2) olmuştur. CASA2'nin aynı zamanda Casocidin-1 olarak ta bilindiği, sütün kalsiyum fosfat taşıma kapasitesinde görevli olduğu bilinmekte olup, ayrıca *E. coli* ve *S. carnosus* bakterilerinin gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir. Ayrıca CASA2'nin bakterilere karşı savunma yanıtında, östradiol, büyüme hormonu ve progesteron gibi bir takım hormonlara yanıtta görev aldığı belirtilmiştir (Uniprot). Dallas ve diğerleri (2014), laktasyon pikindeki sağlıklı ineklerin sütünde yaptıkları araştırmada CASA2 tespit etmişler ve CASA2'nin antihipertansif etkileri olduğunu ifade etmişlerdir. Çalışmada CASA2'nin düşük kaliteli kolostrumlarda 3,19 kat yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Yüksek kaliteli kolostrumlarda gamma globülinlerin yüksek konsantrasyonlarda olduğu düşünüldüğünde, analiz sırasında CASA2 miktarında azalmalara yol açabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada, kolostrumlarda tespit edilen bir diğer protein BOVIN Alpha-lactalbumin (LALBA) olmuştur. Uniprot protein veri bankasında LALBA'nın laktoz sentaz enziminin düzenleyici alt ünitesi olduğundan sütün major karbonhidratı olan laktozun sentezinde rol aldığı ifade edilmektedir (Uniprot). Sığır ve keçilerde yapılan araştırmalarda ilk sağım kolostrum örneklerinde LALBA konsantrasyonunun daha yüksek olduğu ve takip eden sağımlarda giderek azaldığı saptanmıştır (Levieux ve Ollier, 1999; Levieux, Morgan, Geneix, Masle ve Bouvier, 2002). Çalışmada LALBA konsantrasyonunun düşük kaliteli kolostrumda 2,51 değişim oranı ile yüksek kaliteli

kolostrum örneklerine göre daha yüksek konsantrasyonda olduğu saptanmıştır. Yukarıdaki veriler doğrultusunda, düşük kaliteli kolostrumların normal süte benzerliği dikkate alındığında ve sütte laktoz konsantrasyonunun kolostrumdan daha yüksek olduğu (Godden, 2019) bilindiğinden daha çok LALBA ile daha çok laktoz arasında bağlantı olması muhtemel görünmektedir.

Prosser, Eichler, Farr ve Davis (1992), yeni doğan buzağuların kan serumunda LALBA bulunmadığını, ancak kolostrum tüketimini takiben serumdaki seviyesinin 8 saat içinde yükseldiğini saptamışlardır. Aynı araştırmacılar LALBA'nın molekül ağırlığı küçük olmasına rağmen aynı immunoglobulinler gibi emilimlerinin 24-36. saatten sonra sınırlandığını ifade etmişlerdir. Buna paralel olarak cryptosporidiosis tedavisi amacıyla buzağulara verdiğimiz kolostrum sonrası Grup1 ve Grup2'de 3. gün numunelerinde LALBA seviyesi anlamlı artış göstermemesi bu görüşü destekler niteliktedir.

BOVIN Alpha-1B-glycoprotein (A1BG) de kolostrumlarda tespit edilen ve anlamlı değişim gösteren proteinlerden olmuştur. A1BG'nin fonksiyoları ile ilgili bilgi sınırlı olmakla birlikte Uniprot veri bankasında A1BG'nin platelet degranulasyonu ve nötrofil degranülasyonunda rol aldığı bildirilmiştir. A1BG nin süt ve kolostrumda varlığını bildiren araştırmalar (Le ve diğerleri, 2011; Nissen ve diğerleri, 2017) olmakla birlikte A1BG'nin kolostrum örneklerinde süte göre up regule olduğu bildirilmiş (Le ve diğerleri, 2011). Diğer yandan A1BG'nin mastitisli sütlerde bulunduğu (Boehmer, 2011; Ibeagha-Awemu ve diğerleri, 2010) ve mastitisli sütlerde up regule olduğu bildirilmiştir (Ibeagha-Awemu ve diğerleri, 2010). Çalışmamızda ise ilk kez düşük kaliteli kolostrum örneklerinde A1BG'nin 2,05 değişim oranı ile up regule olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışmada Grup 2'de kolostral tedavi ile 3. gün buzağı kan serumunda bu proteinin miktarının artmaması, yeterince emilim olmadığına işaret edebilir.

BOVIN Actin cytoplasmic 1 (ACTB)'de çalışmada tespit edilen ve anlamlı değişim gösteren proteinlerden olmuştur. Aktinlerin fonksiyonlarına bakıldığında, tüm ökaryotik hücrelerin sitoplasmasında monomerik (G-actin) ve polimerik (F-actin) formlarda bulunarak hücre hareketliliği ve kasılmada rol aldıkları görülmektedir.

Ayrıca ATP taşınması, protein kinaz bağlanması, axonogenesis'te görevli olduğu bildirilmiştir. (Uniprot; Le ve diğerleri, 2011).

Niessen ve diğerleri (2017), inek sütü ve kolostrumunda ACTB'nin tespit edildiğini bildirmişler, Le ve diğerleri (2011), inek kolostrumunda süte göre ACTB'nin up regule olduğunu bildirmişlerdir. Boehmer (2011) ise mastitisli sütlerde ACTB tespit edildiğini bildirmişlerdir. Böylece kolostrum ve sütte ACTB varlığı üzerine çalışmalar yapılmış olsa da yüksek kaliteli ve düşük kaliteli kolostrumlarda ACTB düzeyleri ilk kez çalışmamızda karşılaştırılmıştır. Bu anlamda çalışmamızda ACTB'nin, 1,42 kat değişim oranı ile düşük kaliteli kolostrum örneklerinde istatistiki anlamlılık derecesinde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir.

Kolostrumlarda anlamlı değişim gösteren diğer bir proteinin BOVIN Nucleobindin-1 (NUCB1) olduğu ve düşük kaliteli kolostrumlarda 1,33 değişim oranı ile up regule olduğu saptanmıştır. Protein veri bankası Uniprot'ta NUCB1'in kalsiyum homeostazında görev alan, Golgi'nin ana kalsiyum bağlayıcı proteini olduğu, kalsiyum bağlanması, DNA bağlanması gibi fonksiyonları olduğundan bahsedilmektedir (Le ve diğerleri, 2011; Uniprot). Le ve diğerleri (2011), NUCB1'in inek sütünde kolostruma göre up regule olduğunu tespit etmişlerdir. Zhang, Boeren, van Hooijdonk, Vervoort ve Hettinga (2015c), NUCB1'in protein sentezinde görev yaptığını ve subklinik mastitisli ineklerde yaptıkları araştırmada, somatik hücre sayısı arttıkça sütte bulunan NUCB1 seviyesinin azaldığını saptamışlardır. Buna paralel olarak Ibeagha-Awemu ve diğerleri (2010) mastitisli sütlerde NUCB1'in down regule olduğunu saptamışlardır. Subklinik ve klinik mastitis durumlarında somatik hücre sayısının fazla olabilmesine benzer şekilde düşük kaliteli kolostrumlarda da somatik hücre sayısının fazla olabileceği düşünüldüğünde, NUCB1 miktarı yüksek olan kolostum ve sütlerin buzağı beslenmesinde kullanılmaması önerilebilir. Yine düşük kaliteli kolostrumların yoğunluk ve içerik olarak normal süte benzerliği değerlendirildiğinde, NUCB1 seviyesinin yüksekliği Le ve diğerleri (2011)'ni destekler niteliktedir.

Kolostrumlarda anlamlı değişim gösteren proteinlerden bir diğeri BOVIN Cathelicidin-4 (CTHL4) olmuştur. CTHL4'ün düşük kaliteli kolostrumlarda 26 kattan fazla değişim oranı ile up regule olduğu belirlenmiş ve çalışma sonuçlarımızda

kolostrumda anlamlı değişim gösteren tüm proteinler arasında (19 adet) en yüksek değişim oranına sahip olduğu bulunmuştur. CTHL4'ün antibiyotik, antimikrobiyal ve fungusid aktiveye sahip olması dolayısı ile mantar, gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı savunma yanıtında rol aldığı belirtilmiştir. Mikrobisidal aktivitesinin özellikle *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca, lipopolisakkarit bağlanması ve doğuştan gelen immün yanıtta rol aldığı belirtilmiştir (Uniprot; Zhang ve diğerleri, 2015a).

Bazı araştırmalarda inek kolostrumunda farklı cathelicidin tipleri tespit edilmesine rağmen CTHL4 saptanmadığı görülmüştür (Le ve diğerleri, 2011; Nissen ve diğerleri, 2017). Hettinga ve diğerleri (2011) ise inek sütünde insan sütüne göre istatistiksel anlamlılık derecesinde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunu tespit etmişlerdir. Yine ineklerde mastitisli sütlerde CTHL4'ün up-regule olduğu belirtilmiştir (Boehmer, 2011; Ibeagha-Awemu ve diğerleri 2010).

BOVIN Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 (ITIH4) yine kolostrumlarda tanımlanan ve 1,67 değişim oranı ile düşük kaliteli kolostrumlarda up regule olduğu saptanan bir protein olmuştur. ITIH4'ün, travmaya karşı gelişen yangısal yanıtta rol alan tip 2 akut faz proteini olduğu ve ayrıca karaciğer gelişimi ve yenilenmesinde rol oynayabileceği bildirilmiştir (Uniprot; Zhang ve diğerleri, 2015a). Nitekim, deneysel olarak, BRSV enfeksiyonu oluşturulan danalarda (13-21 haftalık yaşta) ve farklı etkenlerle (*Actinomyces pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* ve *Peptostreptococcus indolicus* etkenleri ile) mastitis oluşturulan ineklerde kan serumunda ITIH4'ün yükseldiği ve dolayısıyla bu proteinin pozitif akut faz proteinlerine dahil edilmesi gerektiği bildirilmiştir (Pineiro ve diğerleri, 2004). Benzer şekilde akut faz yanıtı kapsamında ITIH4'ün mastitisli sütlerde de up regule olduğu bildirilmiştir (Ibeagha-Awemu ve diğerleri, 2010).

Nissen ve diğerleri (2017) hem inek kolostrumunda hem de inek sütünde bu proteomun varlığını bildirmişlerdir. Ayrıca ITIH4'ün proteaz inhibitörü olan proteinlerden olduğu bildirildiğinden (Nissen ve diğerleri, 2017; Zhang ve diğerleri, 2015a), diğer proteaz inhibitörleri ile birlikte immunoglobulin ve diğer proteinlerin proteolizini önleyerek pasif immunitenin sağlanmasında görevli olduğu öne sürülebilir.

Çalışmada tanımlanan proteinlerden bir diğeri ise, düşük kaliteli kolostrumlarda 1,84 değişim oranı ile up regule olduğu belirlenen BOVIN Chitinase-3-like protein 1 (CH3L1) olmuştur. Uniprot protein veri bankasında CH3L1 kitinaz aktivitesi olmayan, karbonhidrat bağlayıcı lektin olarak tanımlanmakta ve doku yenilenmesinde (remodelling), hücrelerin çevresindeki değişikliklere yanıt verme ve bunlarla başa çıkma kapasitesinde rol oynadığı belirtilmektedir. Ayrıca, karbonhidrat metabolik sürecinde, apoptotik proseslerde, tümör nekrosis faktöre hücre sel yanıt, interlökin 8 üretiminde, IL-1 ve IL-6'ya yanıt gibi inflamatuvar yanıt sürecinde rolü olduğu belirtilmiştir (Uniprot). Ibeagha-Awemu ve diğeri (2010), CH3L1'in mastitisli sütlerde up regule olduğunu saptamışlardır. Daha önce kolostrumda varlığı bildirilmesine rağmen (Nissen ve diğeri, 2017), çalışmamızda ilk kez düşük ve yüksek kaliteli kolostrumlardaki varlıkları karşılaştırılmış ve düşük kaliteli kolostrumlarda daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir.

BOVIN Monocyte differentiation antigen CD14 (CD14), düşük kaliteli kolostrumlarda 1,73 değişim oranı ile up-regule olduğu saptanan CD14 primer olarak perifer kan monositleri ve makrofajlar üzerindeki miyeloid farklılaşma antijeni olarak tanımlanmaktadır (Haziot ve diğeri, 1988). Bu protein, bakteriyel lipopolisakkarit için ko-reseptör rolü olarak, lipopolisakkaritlere karşı doğal bağışıklık yanıtına aracılık ettiği bildirilmiştir. MyD88, TIRAP ve TRAF6 yoluyla NF-kappa-B aktivasyonuna, sitokin sekresyonuna ve inflamatuvar yanıtta rol aldığı, B hücrelerinin büyümesi ve farklılaşmasını indüklediği bildirilmiştir (Filipp ve diğeri, 2001; Uniprot). Nissen ve diğeri (2017), bu fonksiyonları ile CD14'ün de akut faz proteinleri arasında yer aldığını ifade etmişlerdir. Benzer şekilde akut faz yanıtı kapsamında CD14'ün mastitisli sütlerde de up regule olduğu bildirilmiştir (Boehmer, 2011). Hettinga ve diğeri (2011), insan serumunda süte göre daha yoğun konsantrasyonlarda CD14 bulunduğunu, insan sütü ve inek sütü kıyaslandığında ise insan sütünde anlamlı derecede daha yoğun bulunduğunu tespit etmişlerdir.

CD14'ün kolostrumda saptandığı önceki çalışmalarda da (Nissen ve diğeri, 2017; Zhang ve diğeri, 2015a) bildirilmiştir. Pal, Pal, Sharma ve Bhattacharya (2019), CD14'ün diğeri stokinlerin de yardımıyla patojenlere bağlanarak antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirtirken, CD14 üzerinde gelişen mutasyonların bu proteinin



aktivitesinde azalmaya yol açarak buffalolarda mastitis gelişimde rol oynadığını belirtmişlerdir.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bilgiler temelinde, buzağılarda cryptosporidiosisin tedavisinde paramomisine ilave olarak,

- a- kolostrum kullanılan gruplarda ookist saçılımının ve dışkı skorunun daha hızlı ve daha belirgin iyileştiği,
- b- tedavide kolostrum ile birlikte bikarbonat kullanımının ookist saçılım süresini belirgin şekilde kısalttığı,

görüldükçe cryptosporidiosisli buzağuların tedavisinde paramomisinin yanında kolostrum kullanımının özellikle bikarbonatla birlikte kullanılmasının yalnız paramomisin kullanılan buzağılara göre olumlu etkileri olduğu ortaya konmuştur.

Ayrıca,

- c- Pasif transfer durumunun belirlenmesinde kullanılan testler (IgG, TP, Brix% ve GGT) değerlendirildiğinde, kolostral tedavi ile bu testlerin hiç birinde artış olmaması, kolostrumdan IgG başta olmak üzere büyük moleküllü proteinlerin emilmediğini veya tespit edilemeyecek düzeyde emilim olduğunu görüşünü desteklemiştir.
- d- Buzağılarda yapılan kolostral tedavi ile Grup1’de A1AT ve SAA proteinlerinin down regule olurken ACTG ve HP20 proteinlerinin up regule olduğu; Grup 2’de ise A1BG, S39AB, CTHL1 ve ACTB proteinleri down regule olurken, APOA4 proteinin up regule olduğu; kolostrum kullanılmayan Grup3’te ise tedavi ile hiçbir proteinde anlamlı değişim olmadığı görüldüğünden, tedavide kolostrum kullanımının buzağı serum proteomisine etkileri olduğu anlaşılmıştır.
- e- Kolostrumdaki bütün proteinlerin, buzağı serumunda tespit edilmemesi, ancak kolostrum kullanılan gruplarda klinik başarı sağlanması, bir çok proteomun büyük buzağılarda (48-72 saatlik yaştan büyükler) sistemik emilimleri düşük olduğunu, fakat lokal etkileri olabileceğini düşündürmüştür.
- f- Kolostrum bulguları değerlendirildiğinde, yüksek kaliteli ve düşük kaliteli kolostrumlarda proteomik analizlerde belirgin farklılık olduğu tespit edilmiştir.

g- Kolostrumlardaki proteomik analizler sonucu, 8 proteinin (TETN, SFRP1, PLIN2, COPE, BT1A1, UBB, MFGM ve ALBU) yüksek kaliteli kolostrumlarda; 11 proteinin (GLCM1, COF1, CASA2, LALBA, A1BG, ACTB, NUCB1, CTHL4, ITIH4, CH3LI ve CD14) ise düşük kaliteli kolostrumlarda up regule olduğu saptanmıştır.

Tüm bu sonuçlar doğrultusunda, ilk kez yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlar proteomik analizlerle karşılaştırılmış, yüksek kaliteli kolostral tedavi ile cryptosporidiosisli buzağuların tedavisindeki klinik ve laboratuvar (biyokimyasal ve proteomik testlerle) değerlendirmeleri irdelenmiş ve tedavinin cryptosporidiosisli buzağulardaki serum proteomiğine yansımaları ilk kez değerlendirilmiş, anlamlı değişim gösteren her bir proteinin cryptosporidiosisli buzağularda hastalık teşhisinde ve tedavinin moniterizasyonunda potansiyel biyobelirteç olabilme potansiyeli taşıdığı ve bu konudaki araştırmaların detaylandırılmasının faydalı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Ayrıca, tespit edilen bu proteinler ile ilgili olarak protein veri bankalarına yeni görevler eklendikçe, proteinlerin birbirleri ile olan interaksiyonlarının daha çeşitlendirilip detaylandırılabilceği ve daha somut bulgular sağlanabileceği ön görülmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

Aberg, M., Emanuelson, U., Troell, K., & Björkman, C. (2019). Infection dynamics of *Cryptosporidium bovis* and *Cryptosporidium ryanae* in a Swedish dairy herd. *Veterinary Parasitology*, *X*, (1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.vpoa.2019.100010>

Abubakar, I., Aliyu, S. H., Arumugam, C., Hunter, P. R., & Usman, N. K. (2007). Prevention and treatment of cryptosporidiosis in immunocompromised patients. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, *1*. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004932.pub2>

Adams, G. D., Bush, L. J., Horner, J. L., & Staley, T. E. (1985). Two methods for administering colostrum to newborn calves. *Journal of Dairy Science*, *68*(3), 773–775. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(85\)80887-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(85)80887-0)

Akın, C., Planchon, S., Renaut, J., Sezerman, O. U., Ozpınar, A. (2014). Detection of Whey Fraction Common Proteins of Human and Goat Colostrum by MALDI-TOF/TOF. *Final Showcase Meeting Of Farm Animal Proteomics*, At Palazzo Lombardia, Milan. <https://doi.org/10.13140/2.1.3390.6880>

Alak, J.I., Wolf, B.W., Mdurvwa, E.G., Pimentel-Smith, G.E., Kolavala, S., Abdelrahman, H., & Suppiramaniam, V. (1999). Supplementation with *Lactobacillus reuteri* or *L. acidophilus* reduced intestinal shedding of *Cryptosporidium parvum* oocysts in immunodeficient C57BL/6 mice. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-Grand, France)*, *45*(6), 855–863.

Al-Mathal, E. M., & Alsalem, A. M. (2012). Pomegranate (*Punica granatum*) peel is effective in a murine model of experimental *Cryptosporidium parvum*. *Experimental Parasitology*, *131*(3), 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.04.021>

Alsemgeest, S. P. M., Horadagoda, A., Hulskamp-Koc, C. K., Tootend, P., Kim, H., Niewold, T. A., & Gruys, E. (1995). First evidence for the existence of multiple isoforms of bovine serum amyloid-A (apoSAA). *Scandinavian Journal of Immunology*, *41*(4), 407–413. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.1995.tb03585.x>

Anderson, B. C. (1987). Abomasal cryptosporidiosis in cattle. *Veterinary Pathology*, *24*(3), 235–238. <https://doi.org/10.1177/030098588702400307>

Ansari-Lari, M., Nazifi, S., Rezaei, M., Asadi-Fardaqi, J. (2008). Comparative study of plasma proteins including haptoglobin and serum amyloid A in different types of traumatic reticuloperitonitis in cattle. *Comparative Clinical Pathology*, *17*, 245. <https://doi.org/10.1007/s00580-008-0741-3>

Anusz, K. Z., Mason, P. H., Riggs, M. W., & Perryman, L. E. (1990). Detection

of *Cryptosporidium parvum* oocysts in bovine feces by monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(12), 2770–2774. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.12.2770-2774.1990>

Armengol, R., & Fraile, L. (2016). Colostrum and milk pasteurization improve health status and decrease mortality in neonatal calves receiving appropriate colostrum ingestion. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4718–4725. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10728>

Arsenopoulos, K., Theodoridis, A., & Papadopoulos, E. (2017). Effect of colostrum quantity and quality on neonatal calf diarrhoea due to *Cryptosporidium* spp. infection. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 53, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2017.07.005>

Arslan, M. Ö., Gıcık, Y., Erdoğan, H. M., & Sarı, B. (2001). Prevalence of *Cryptosporidium* spp. oocysts in diarrhoeic calves in Kars Province, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25(2), 161-164.

Astı, C., Ozbakıs, G., Azrug, A. F., Orkun, O., Nalbantoglu, N., Cakmak, A., & Burgu, A. (2012). Farklı İllere Ait Buzağı Dışkı Bakısı Sonuçları. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18, A209-A214. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2012.6350>

Aydogdu, U., & Guzelbektes, H. (2018). Effect of colostrum composition on passive calf immunity in primiparous and multiparous dairy cows. *Veterinárni Medicína*, 63(1), 1-11. <https://doi.org/10.17221/40/2017-VETMED>

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>

Aydogdu, U. , Şen, İ., & Güzelbekteş, H . (2019). Buzağılarda Pasif Transfer Yetmezliğinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 9 (2), 104-111. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/mjavl/issue/51057/629894>

Azami, M., Moghaddam, D. D., Salehi, R., & Salehi, M. (2007). The identification of *Cryptosporidium* species in Isfahan, Iran by PCR-RFLP analysis of the 18S rRNA gene. *Molecular Biology*, 41(5), 851–856. <https://doi.org/10.1134/S0026893307050196>

Bal, S. H., ve Budak, F. (2013). Genomik, Proteomik Kavramlarına Genel Bakış ve Uygulama Alanları. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 39(1), 65-69.

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.

Barakat, F. M., McDonald, V., Di Santo, J. P., & Korbel, D. S. (2009). Roles for NK cells and an NK cell-independent source of intestinal gamma interferon for innate immunity to *Cryptosporidium parvum* infection. *Infection and Immunity*, 77(11),

5044–5049. <https://doi.org/10.1128/IAI.00377-09>

Bardanzellu, F., Fanos, V., & Reali, A. (2017). "Omics" in Human Colostrum and Mature Milk: Looking to Old Data with New Eyes. *Nutrients*, 9(8), 843. <https://doi.org/10.3390/nu9080843>

Bartens, M. C., Drillich, M., Rychli, K., Iwersen, M., Arnholdt, T., Meyer, L., & Klein-Jöbstl, D. (2016). Assessment of different methods to estimate bovine colostrum quality on farm. *New Zealand Veterinary Journal*, 64(5), 263–267. <https://doi.org/10.1080/00480169.2016.1184109>

Bartier, A.L., Windeyer, M.C., & Doepel, L. (2015). Evaluation of on-farm tools for colostrum quality measurement. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1878-1884. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8415>

Bashahun, G.M., & Amina, A. (2017). Colibacillosis in calves: A review of literature. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2(3), 62-71. <https://doi.org/10.31248/JASVM2017.041>

Başaran, E., Aras, S., & Cansaran-Duman D. (2010) Genomik, Proteomik, Metabolomik Kavramlarına Genel Bakış Ve Uygulama Alanları. *Türk Hijyen Ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 85.

Batmaz, H., Kaçar, Y., Topal, O., Mecitoğlu, Z., Gümüşsoy, K., & Kaya, F. (2019). Evaluation of passive transfer in goat kids with Brix refractometer and comparison with other semiquantitative tests . *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* ,43 (5), 596-602 .Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/tbtkveterinary/issue/50874/663665>

Batmaz, H. (2016) Sığırların İç Hastalıkları Semptomdan Tanıya Tanıdan *Sağaltıma*, 3. Baskı, Fikret Özsan Matbaası, Bursa, s:361-364, 425-428.

Batmaz, H. (2015a). Buzağı Sağlığı. Editör: Batmaz, H., *Sığırlarda Sürü Sağlığı ve Yönetimi*, 1.Baskı, Alfa Aktüel yayınları Bursa, s:120-153

Batmaz, H. (2015b). Biyogüvenlik. Editör: Batmaz, H., *Sığırlarda Sürü Sağlığı ve Yönetimi*, 1.Baskı, Alfa Aktüel yayınları Bursa, s:93-95.

Beam, A. L., Lombard, J. E., Koprak, C. A., Garber, L. P., Winter, A. L., Hicks, J. A., & Schlater, J. L. (2009). Prevalence of failure of passive transfer of immunity in newborn heifer calves and associated management practices on US dairy operations. *Journal of Dairy Science*, 92(8), 3973–3980. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2225>

Becker, S. L., Millenaar, D., Oberkircher, N., Herrmann, M., Gortner, L., Rissland, J.,... von Müller, L. (2014). Intestinal cryptosporidiosis in a 6-year-old child with alpha1-antitrypsin deficiency. *Klinische Padiatrie*, 226(5), 301–302. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1384526>

Benson, J. E., Ensley, S. M., Carson, T. L., Halbur, P. G., Janke, B. H., & Quinn, W. J. (1998). Lasalocid toxicosis in neonatal calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 10(2), 210-214.

Bielmann, V., Gillan, J., Perkins, N. R., Skidmore, A. L., Godden, S., & Leslie, K. E. (2010). An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 93(8), 3713-3721.

Bilić, P., Guillemin, N., Kovačević, A., Beer Ljubić, B., Jović, I., Galan, A., ... Mrljak, V. (2018). Serum proteome profiling in canine idiopathic dilated cardiomyopathy using TMT-based quantitative proteomics approach. *Journal of Proteomics*, 179, 110–121. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.03.007>

Björkman, C., von Brömssen, C., Troell, K., & Svensson, C. (2018). Disinfection with hydrated lime may help manage cryptosporidiosis in calves. *Veterinary Parasitology*, 264 (November), 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.11.004>

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>

Blum, J. W. (2006). Nutritional physiology of neonatal calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90(1–2), 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2005.00614.x>

Boehmer, J. L., Bannerman, D. D., Shefcheck, K., & Ward, J. L. (2008). Proteomic analysis of differentially expressed proteins in bovine milk during experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Journal of Dairy Science*, 91(11), 4206–4218. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1297>

Boehmer, J. L., DeGrasse, J. A., Lancaster, V. A., McFarland, M. A., Callahan, J. H., & Ward, J. L. (2011). Evaluation of protein expression in bovine bronchoalveolar fluid following challenge with *Mannheimia haemolytica*. *Proteomics*, 11(18), 3685–3697.

Boileau, M. J., & Kapil, S. (2010). Bovine coronavirus associated syndromes. *The Veterinary clinics of North America. Food Animal Practice*, 26(1), 123–146. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2009.10.003>

Borregaard, N., Christensen, L., Bejerrum, O. W., Birgens, H. S., & Clemmensen, I. (1990). Identification of a highly mobilizable subset of human neutrophil intracellular vesicles that contains tetranectin and latent alkaline phosphatase. *The Journal of Clinical Investigation*, 85(2), 408–416. <https://doi.org/10.1172/JCI114453>

Boxell, A., Hijjawi, N., Monis, P., & Ryan, U. (2008). Comparison of various staining methods for the detection of *Cryptosporidium* in cell-free culture. *Experimental Parasitology*, 120(1), 67–72. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.04.023>

Bozukluhan, K., Merhan, O., Ogun, M., Kurt, B., Cihan, M., Erkilic, E. ... 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>

Brandon, M. R., Watson, D. L., & Lascelles, A. K. (1971). The mechanism of

transfer of immunoglobulin into mammary secretion of cows. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, 49(6), 613-623. <https://doi.org/10.1038/icb.1971.67>

Brignole, T. J., & Stott, G. H. (1980). Effect of suckling followed by bottle feeding colostrum on immunoglobulin absorption and calf survival. *Journal of Dairy Science*, 63(3), 451–456. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82952-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82952-3)

Broedl, U. C., Schachinger, V., Lingenhel, A., Lehrke, M., Stark, R., Seibold, F., ... Konrad-Zerna, A. (2007). Apolipoprotein A-IV is an independent predictor of disease activity in patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 13(4), 391–397. <https://doi.org/10.1002/ibd.20078>

Brunet, J., Lemoine, J. P., Pesson, B., Valot, S., Sautour, M., Dalle, F., ... Candolfi, E. (2016). Ruling out nosocomial transmission of *Cryptosporidium* in a renal transplantation unit: Case report. *BMC Infectious Diseases*, 16(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1661-5>

Burgu, A. (1984). Türkiye’de Buzağlarda *Cryptosporidium*’ların bulunuşu ile ilgili ilk çalışmaları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 31(3), 573-585.

Castro-Hermida, J. A., González-Losada, Y. A., Mezo-Menéndez, M., & Ares-Mazás, E. (2002). A study of cryptosporidiosis in a cohort of neonatal calves. *Veterinary Parasitology*, 106(1), 11–17. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(02\)00038-9](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(02)00038-9)

Castro-Hermida, J. A., González-Losada, Y., Freire-Santos, F., Mezo-Menéndez, M., & Ares-Mazás, E. (2001). Evaluation of beta-cyclodextrin against natural infections of cryptosporidiosis in calves. *Veterinary Parasitology*, 101(2), 85–89. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00505-2](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00505-2)

Ceciliani, F., Eckersall, D., Burchmore, R., & Lecchi, C. (2014). Proteomics in veterinary medicine: applications and trends in disease pathogenesis and diagnostics. *Veterinary Pathology*, 51(2), 351–362. <https://doi.org/10.1177/0300985813502819>

Chae, A., Aitchison, A., Day, A., & Keenan, J. (2017). Bovine colostrum demonstrates anti-inflammatory and antibacterial activity in in vitro models of intestinal inflammation and infection. *Journal of Functional Foods*, 28, 293-298. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2016.11.016>

Chalmers, R. M. & Davies, A. P. (2010). Minireview: Clinical cryptosporidiosis. *Experimental Parasitology*, 124(1), 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.02.003>

Chalmers, R. M., & Katzer, F. (2013). Looking for *Cryptosporidium*: the application of advances in detection and diagnosis. *Trends in Parasitology*, 29(5), 237–251. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2013.03.001>

Chalmers, R. M., Elwin, K., Thomas, A. L., Guy, E. C., & Mason, B. (2009). Long-term *Cryptosporidium* typing reveals the aetiology and species-specific epidemiology of human cryptosporidiosis in England and Wales, 2000 to 2003. *Euro*

*Surveillance : bulletin Europeen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin*, 14(2), 19086.  
<https://doi.org/10.2807/ese.14.02.19086-en>

Chalmers, R. M., Campbell, B. M., Crouch, N., Charlett, A., & Davies, A. P. (2011a). Comparison of diagnostic sensitivity and specificity of seven *Cryptosporidium* assays used in the UK. *Journal of Medical Microbiology*, 60 (Pt 11), 1598–1604. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.034181-0>

Chalmers, R. M., Smith, R., Elwin, K., Clifton-Hadley, F. A., & Giles, M. (2011b). 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>

Charlton, S.J., (2009). *Calf Rearing Guide*. Context, Leicestershire

Chiaradia, E., Pepe, M., Tartaglia, M., Scopetta, F., D'Ambrosio, C., Renzone, G., ... Scaloni, A. (2012). Gambling on putative biomarkers of osteoarthritis and osteochondrosis by equine synovial fluid proteomics. *Journal of Proteomics*, 75(14), 4478–4493. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.02.008>

Chigerwe, M., & Hagey, J. V. (2014). Refractometer assessment of colostrum and serum IgG and milk total solids concentrations in dairy cattle. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 1-6. <https://doi.org/10.1186/s12917-014-0178-7>

Cho, Y. I., & 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>

Chowanadisai, W., & Lönnerdal, B. (2002).  $\alpha$ 1-Antitrypsin and antichymotrypsin in human milk: Origin, concentrations, and stability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(4), 828-833.

Cıngı, C., Kabu, M., Erdogan, H., Haydardedeoğlu, A., & Ural K. (2019). Determination of D-Dimer Levels in Calves with Cryptosporidiosis. *Kocatepe Veterinary Journal*, 1-1. <https://doi.org/10.30607/kvj.599089>.

Clemmensen, I., Petersen, L. C., & Kluft, C. (1986). Purification and characterization of a novel, oligomeric, plasminogen kringle 4 binding protein from human plasma: tetranectin. *European Journal of Biochemistry*, 156(2), 327–333. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1986.tb09586.x>

Conneely, M., Berry, D. P., Murphy, J. P., Lorenz, I., Doherty, M. L., & Kennedy, E. (2014). Effect of feeding colostrum at different volumes and subsequent number of transition milk feeds on the serum immunoglobulin G concentration and health status of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 6991–7000. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7494>

Dallas, D. C., Guerrero, A., Parker, E. A., Garay, L. A., Bhandari, A., Lebrilla, C. B., ... German, J. B. (2014). Peptidomic profile of milk of Holstein cows at peak lactation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(1), 58–65.



<https://doi.org/10.1021/jf4040964>

de Freitas Campos, C., Cole, N., Van Dyk, D., Walsh, B. J., Diakos, P., Almeida, D., ... Willcox, M. D. (2008). Proteomic analysis of dog tears for potential cancer markers. *Research in Veterinary Science*, 85(2), 349–352. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.11.006>

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 Pontes, L. G., Cavassan, N., de Barros, L. C., Ferreira Junior, R. S., Barraviera, B., & Santos, L. (2017). Plasma proteome of buffaloes. *Proteomics. Clinical Applications*, 11(9-10). <https://doi.org/10.1002/prca.201600138>

De Waele, V., Speybroeck, N., Berkvens, D., Mulcahy, G., & Murphy, T. M. (2010). Control of cryptosporidiosis in neonatal calves: Use of halofuginone lactate in two different calf rearing systems. *Preventive Veterinary Medicine*, 96(3–4), 143–151. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.06.017>

Debnath, M., Prasad, G. B., & Bisen, P. S. (2010). Molecular Diagnostics: Promises and Possibilities. Dordrech Heidelberg London, Springer, pp 11-31.

Deelen, S. M., Ollivett, T. L., Haines, D. M., & Leslie, K. E. (2014). Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(6), 3838–3844. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7939>

Delafosse, A., Chartier, C., Dupuy, M. C., Dumoulin, M., Pors, I., & Paraud, C. (2015). Cryptosporidium parvum infection and associated risk factors in dairy calves in western France. *Preventive Veterinary Medicine*, 118(4), 406–412. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.01.005>

Dhama, K., Chauhan, R. S., Mahendran, M., & Malik, S. V. (2009). Rotavirus diarrhea in bovines and other domestic animals. *Veterinary Research Communications*, 33(1), 1–23. <https://doi.org/10.1007/s11259-008-9070-x>

Dhillon, A. S., Thacker, H. L., Dietzel, A. V., & Winterfield, R. W. (1981). Respiratory cryptosporidiosis in broiler chickens. *Avian Diseases*, 25(3), 747–751.

Dillingham, R. A., Lima, A. A., & Guerrant, R. L. (2002). Cryptosporidiosis: Epidemiology and impact. *Microbes and Infection*, 4(10), 1059–1066. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01630-1](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01630-1)

Dinler, C., Ulutas, B., Voyvoda, H., Ulutas, P. A., Ural, K., & Karagenc, T. (2017). Haptoglobin and serum amyloid-A concentrations and their relationship with oocyst count in neonatal lambs experimentally infected with *Cryptosporidium parvum*. *Veterinary Parasitology*, 247, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.09.023>

Dzik, S., Miciński, B., Aitzhanova, I., Miciński, J., Pogorzelska, J., Beisenov, A.,

& Kowalski, I. M. (2017). Properties of bovine colostrum and the possibilities of use. *Polish Annals of Medicine*, 24(2), 295–299. <https://doi.org/10.1016/j.poamed.2017.03.004>

Elitok, B., Elitok, Ö. M., & Pulat, H. (2005). Efficacy of azithromycin dihydrate in treatment of cryptosporidiosis in naturally infected dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(4), 590–593. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02732.x>

Elliott, D. A., & Clark, D. P. (2000). Cryptosporidium parvum induces host cell actin accumulation at the host-parasite interface. *Infection and Immunity*, 68(4), 2315–2322. <https://doi.org/10.1128/iai.68.4.2315-2322.2000>

Elsohaby, I., McClure, J. T., & Keefe, G. P. (2015). Evaluation of digital and optical refractometers for assessing failure of transfer of passive immunity in dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(2), 721–726. <https://doi.org/10.1111/jvim.12560>

Elsohaby, I., McClure, J. T., Cameron, M., Heider, L. C., & Keefe, G. P. (2017). Rapid assessment of bovine colostrum quality: How reliable are transmission infrared spectroscopy and digital and optical refractometers?. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 1427–1435. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11824>

Eslamian, G., Ardehali, S. H., Baghestani, A. R., & Shariatpanahi, Z. V. (2019). Effects of early enteral bovine colostrum supplementation on intestinal permeability in critically ill patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutrition*, 60, 106-111. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.10.013>

Esteban, E., & Anderson, B. C. (1995). *Cryptosporidium muris*: prevalence, persistency, and detrimental effect on milk production in a drylot dairy. *Journal of Dairy Science*, 78(5), 1068-1072. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76723-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76723-6)

Esteve, P., Rueda-Carrasco, J., Mateo, M. I., Martin-Bermejo, M. J., Draffin, J., Pereyra, G., ... Garcia-Esparcia, P. (2019). Elevated levels of Secreted-Frizzled-Related-Protein 1 contribute to Alzheimer's disease pathogenesis. *Nature Neuroscience*, 22(8), 1258-1268.

Farthing M. J. (2000). Clinical aspects of human cryptosporidiosis. *Contributions to Microbiology*, 6, 50–74. <https://doi.org/10.1159/000060368>

Fayer, R. (1992). Activity of sulfadimethoxine against cryptosporidiosis in dairy calves. *The Journal of Parasitology*, 78(3), 534-537.

Fayer, R. (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology*, 124(1), 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.03.005>

Fayer, R., Perryman, L. E., & Riggs, M. W. (1989a). Hyperimmune Bovine Colostrum Neutralizes *Cryptosporidium* Sporozoites and Protects Mice against Oocyst Challenge. *The Journal of Parasitology*, 75(1), 151. <https://doi.org/10.2307/3282956>

Fayer, R., Andrews, C., Ungar, B. L., & Blagburn, B. (1989b). Efficacy of hyperimmune bovine colostrum for prophylaxis of cryptosporidiosis in neonatal calves. *The Journal of Parasitology*, 75(3), 393-397.

Fayer, R., & Ellis, W. (1993). Paromomycin is effective as prophylaxis for cryptosporidiosis in dairy calves. *The Journal of Parasitology*, 79(5), 771-774.

Fayer, R., Gasbarre, L., Pasquali, P., Canals, A., Almeria, S., & Zarlenga, D. (1998). *Cryptosporidium parvum* infection in bovine neonates: Dynamic clinical, parasitic and immunologic patterns. *International Journal for Parasitology*, 28(1), 49-56. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(97\)00170-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(97)00170-7)

Fayer, R., Santín, M., & Xiao, L. (2005). *Cryptosporidium bovis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *The Journal of Parasitology*, 91(3), 624-629. <https://doi.org/10.1645/GE-3435>

Fayer, R., Santín, M., & Trout, J. M. (2008). *Cryptosporidium ryanae* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) in cattle (*Bos taurus*). *Veterinary Parasitology*, 156(3-4), 191-198. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.05.024>

Ferrazza, R. A., Garcia, H., Schmidt, E., Mihm Carmichael, M., Souza, F. F., Burchmore, R., ... Ferreira, J. (2017). Quantitative proteomic profiling of bovine follicular fluid during follicle development. *Biology of Reproduction*, 97(6), 835-849. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox148>

Fichtenbaum, C. J., Ritchie, D. J., & Powderly, W. G. (1993). Use of paromomycin for treatment of cryptosporidiosis in patients with AIDS. *Clinical Infectious Diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 16(2), 298-300. <https://doi.org/10.1093/clind/16.2.298>

Filipp, D., Alizadeh-Khiavi, K., Richardson, C., Palma, A., Paredes, N., Takeuchi, O., ... Julius, M. (2001). Soluble CD14 enriched in colostrum and milk induces B cell growth and differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(2), 603-608.

Fischer, O. (1983). Attempted therapy and prophylaxis of cryptosporidiosis in calves by administration of sulphadimidine. *Acta Veterinaria Brno*, 52(3-4), 183-190. <https://doi.org/10.2754/avb198352030183>

Fontana, M., Zuin, G., Galli, L., Paccagnini, S., Villa, M., & Loguercio, L. (1988). Fecal alpha-1-antitrypsin excretion in acute diarrhea: relationship with causative pathogens. *Helvetica Paediatrica Acta*, 43(3), 211-218

Forney, J. R., Yang, S., & Healey, M. C. (1997a). Antagonistic effect of human alpha-1-antitrypsin on excystation of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *The Journal of Parasitology*, 83(4), 771-774.

Forney, J. R., Yang, S., & Healey, M. C. (1997b). Synergistic anticryptosporidial potential of the combination alpha-1-antitrypsin and paromomycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(9), 2006-2008. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.9.2006>

Forney, J. R., Vaughan, D. K., Yang, S., & Healey, M. C. (1998). Actin-dependent motility in *Cryptosporidium parvum* sporozoites. *The Journal of Parasitology*, 84(5), 908–913

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>

Fujita, S., Okamoto, R., Taniguchi, M., Ban-Tokuda, T., Konishi, K., Goto, I., ... Ito, M. (2013). Identification of bovine hibernation-specific protein complex and evidence of its regulation in fasting and aging. *Journal of Biochemistry*, 153(5), 453–461. <https://doi.org/10.1093/jb/mvt008>

Garber, L. P., Salman, M. D., Hurd, H. S., Keefe, T., & Schlater, J. L. (1994). Potential risk factors for *Cryptosporidium* infection in dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 205(1), 86–91.

Garcia, L. S., Bruckner, D. A., Brewer, T. C., & Shimizu, R. Y. (1983). Techniques for the recovery and identification of cryptosporidium oocysts from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 18(1), 185–190. <https://doi.org/10.1128/jcm.18.1.185-190.1983>

Gertler, M., Dürr, M., Renner, P., Poppert, S., Askar, M., Breidenbach, J., ... Wilking, H. (2015). Outbreak of *Cryptosporidium hominis* following river flooding in the city of Halle (Saale), Germany, August 2013. *BMC Infectious Diseases*, 15, 88. <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0807-1>

Gettins P. G. (2002). Serpin structure, mechanism, and function. *Chemical Reviews*, 102(12), 4751–4804. <https://doi.org/10.1021/cr010170>

Gharpure, R., Perez, A., Miller, A. D., Wikswa, M. E., Silver, R., & Hlavsa, M. C. (2019). Cryptosporidiosis Outbreaks—United States, 2009–2017. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 68(25), 568-472. <https://doi.org/10.1111/ajt.15557>

Godden, S. (2008). Colostrum management for dairy calves. *The 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: Food Animal Practice*, 35(3), 535-556. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2019.07.005>

Golinelli, L. P., Conte-Junior, C. A., Paschoalin, V. M. F., Silva, J. T. (2011). Proteomic analysis of whey from bovine colostrum and mature milk. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 54(4), 761-768. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132011000400016>

Gomez, D. E., & Weese, J. S. (2017). Review article compte rendu viral enteritis in calves. *Canadian Veterinary Journal*, 58(12), 1267–1274.

Gong, C., Cao, X. F., Deng, L., Li, W., Huang, X. M., Lan, J. C., ... Peng, G. N.

(2017). Epidemiology of Cryptosporidium infection in cattle in China: A review. *Parasite*, 24(5). <https://doi.org/10.1051/parasite/2017001>

Goodgame, R. W., Genta, R. M., White, A. C., & Chappell, C. L. (1993). Intensity of infection in AIDS-associated cryptosporidiosis. *The Journal of Infectious Diseases*, 167(3), 704–709. <https://doi.org/10.1093/infdis/167.3.704>

Gookin, J. L., Nordone, S. K., & Argenzio, R. A. (2002). Host responses to Cryptosporidium infection. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16(1), 12–21. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2002.tb01602.x>

Gosling, R. J. (2018). A review of cleaning and disinfection studies in farming environments. *Livestock*, 23(5), 232–237. <https://doi.org/10.12968/live.2018.23.5.232>.

Graczyk, T. K., Cranfield, M. R., & Bostwick, E. F. (1999). Hyperimmune bovine colostrum treatment of moribund Leopard geckos (*Eublepharis macularius*) infected with *Cryptosporidium* sp. *Veterinary Research*, 30(4), 377–382.

Greenberg, P. D., & Cello, J. P. (1996). Treatment of severe diarrhea caused by *Cryptosporidium parvum* with oral bovine immunoglobulin concentrate in patients with AIDS. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology : Official Publication of the International Retrovirology Association*, 13(4), 348–354. <https://doi.org/10.1097/00042560-199612010-00008>

Grinberg, A., Lopez-Villalobos, N., Markovics, A., Kosak, A., Galindez, J., & Tranquillo, V. M. (2002). Controlling the onset of natural cryptosporidiosis in calves with paromomycin sulphate. *Veterinary Record*, 151(20), 606–608. <https://doi.org/10.1136/vr.151.20.606>

Gulliksen, S. M., Lie, K. I., Sølverød, L., & Østerås, O. (2008). Risk factors associated with colostrum quality in Norwegian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(2), 704–712. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0450>

Gunn, G. J., & Stott, A. W. (1998). A comparison of economic losses due to calf enteritis and calf pneumonia in Scottish beef herds. *XX World Buiatrics Congress*. <http://www.sciquest.org.nz/node/62142>

Gupta, A. K., & Sarin, G. S. (1984). Immunoassay of serum alpha-1 antitrypsin level in uveitis. *The British Journal of Ophthalmology*, 68(4), 242–244. <https://doi.org/10.1136/bjo.68.4.242>

Güler, L., Gündüz, K., & Ok, U. (2008). Virulence factors and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from calves in Turkey. *Zoonoses and Public Health*, 55(5), 249–257. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01121.x>

Haçarız, O., Baykal, A. T., Akgün, M., Kavak, P., Sağıroğlu, M. Ş., & Sayers, G. P. (2014). Generating a detailed protein profile of *Fasciola hepatica* during the chronic stage of infection in cattle. *Proteomics*, 14(12), 1519–1530. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400012>

Hadfield, S. J., Robinson, G., Elwin, K., & Chalmers, R. M. (2011). Detection

and differentiation of *Cryptosporidium* spp. in human clinical samples by use of real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(3), 918–924. <https://doi.org/10.1128/JCM.01733-10>

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, 227 - 232.

Harp, J. A., & Goff, J. P. (1995). Protection of calves with a vaccine against *Cryptosporidium parvum*. *The Journal of Parasitology*, 81(1), 54–57. <https://doi.org/10.2307/3284005>

Harp, J. A., & Goff, J. P. (1998). Strategies for the control of *Cryptosporidium parvum* infection in calves. *Journal of Dairy Science*, 81(1), 289–294. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75578-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75578-X)

Harp, J. A., Jardon, P., Atwill, E. R., Zylstra, M., Checel, S., Goff, J. P., & De Simone, C. (1996). Field testing of prophylactic measures against *Cryptosporidium parvum* infection in calves in a California dairy herd. *American Journal of Veterinary Research*, 57(11), 1586–1588.

Harp, J. A., Woodmansee, D. B., & Moon, H. W. (1989). Effects of colostral antibody on susceptibility of calves to *Cryptosporidium parvum* infection. *American Journal of Veterinary Research*, 50(12), 2117-2119.

Hauck, S. M., Hofmaier, F., Dietter, J., Swadzba, M. E., Blindert, M., Amann, B., ... Deeg C. A. (2012). Label-free LC-MSMS analysis of vitreous from autoimmune uveitis reveals a significant decrease in secreted Wnt signalling inhibitors DKK3 and SFRP2. *Journal of Proteomics*, 75(14), 4545-54. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.052>.

Haziot, A., Chen, S., Ferrero, E., Low, M. G., Silber, R., & Goyert, S. M. (1988). The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 141(2), 547–552.

Heinrichs A.J, Jones C.M. (2008). Colostrum Substitutes and Milk Replacers. In: B.P. Smith (Ed). *Large Animal Internal Medicine*, 4th edition, Mosby Elsevier, pp: 367-372

Hernández-Castellano, L. E., Almeida, A. M., Castro, N., & Argüello, A. (2014). The colostrum proteome, ruminant nutrition and immunity: a review. *Current Protein & Peptide Science*, 15(1), 64–74. <https://doi.org/10.2174/1389203715666140221124622>

Herosimczyk, A., Lepczyński, A., Ozgo, M., Dratwa-Chałupnik, A., Michałek, K., & Skrzypczak, W. F. (2013). Blood plasma protein and lipid profile changes in calves during the first week of life. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 16(3), 425–434. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2013-0060>

Hettinga, K., van Valenberg, H., de Vries, S., Boeren, S., van Hooijdonk, T., van Aarendonk, J., & Vervoort, J. (2011). The host defense proteome of human and bovine milk. *PLoS one*, 6(4), e19433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019433>

Hoepelman, I. M. (1996). Human cryptosporidiosis. *International Journal of STD & AIDS*, 7(1\_suppl), 28-33. <https://doi.org/10.1258/0956462961917285>

Holland, R. E., Boyle, S. M., Herdt, T. H., Grimes, S. D., & Walker, R. D. (1992). Malabsorption of vitamin A in preruminating calves infected with *Cryptosporidium parvum*. *American Journal of Veterinary Research*, 53(10), 1947–1952.

Horadagoda, N. U., Knox, K. M., Gibbs, H. A., Reid, S. W., Horadagoda, A., Edwards, S. E., & Eckersall, P. D. (1999). Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *The Veterinary Record*, 144(16), 437–441. <https://doi.org/10.1136/vr.144.16.437>

Horgan, R. P., & Kenny, L. C. (2011). ‘Omic’ technologies: genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. *The Obstetrician & Gynaecologist*, 13(3), 189-195.

House, J. K. & Gunn, A. A. (2008). Manifestations and Management of Disease in Neonatal Ruminants. In B.P. Smith. *Large Animal Internal Medicine*, 4th edition, Mosby Elsevier, pp: 345-362.

House, J. K., Smith, G. F., Mcguirk, S. M., Gunn, A. A. & Izzo, M. (2015). Manifestations and Management of Disease in Neonatal Ruminants. In B.P. Smith. *Large Animal Internal Medicine*, 5th edition, Mosby Elsevier, pp:302-338.

Huang, Y., Olson, D. J., Gordon, J. R., Middleton, D. M., & Simko, E. (2012). Plasma protein profiles of neonatal pigs before and after suckling. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 76(1), 1-7.

Hunt, E., Fu, Q., Armstrong, M. U., Rennix, D. K., Webster, D. W., Galanko, J. A., ... Rhoads, J. M. (2002). Oral bovine serum concentrate improves cryptosporidial enteritis in calves. *Pediatric Research*, 51(3), 370–376. <https://doi.org/10.1203/00006450-200203000-00017>

Hyde, R. M., Green, M. J., Sherwin, V. E., Hudson, C., Gibbons, J., Forshaw, T., Vickers, M., & Down, P. M. (2020). Quantitative analysis of calf mortality in Great Britain. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2615–2623. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17383>

Ibeagha-Awemu, E. M., Ibeagha, A. E., Messier, S., & Zhao, X. (2010). Proteomics, genomics, and pathway analyses of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* infected milk whey reveal molecular pathways and networks involved in mastitis. *Journal of Proteome Research*, 9(9), 4604–4619. <https://doi.org/10.1021/pr100336e>

Indalao, I., Agustiningsih, A., Pratiwi, E., Puspa, K., Ikawati, H., & Ramadhany, R. (2019). The Utilization of Alpha-1 Anti-trypsin (A1AT) in Infectious Disease Monitoring and Treatment. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 09 (01),

51-58. <https://doi.org/10.5799/jmid.537178>

Innes, E. A., Chalmers, R. M., Wells, B., & Pawlowic, M. C. (2020). A One Health Approach to Tackle Cryptosporidiosis. *Trends in Parasitology*, 36(3), 290–303. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.12.016>

İnci, A. (2013), Sığırlarda Cryptosporidiosis, M.A. Özcel, *Veteriner Hekimliğinde Parazit Hastalıkları*, s: 135-142.

Jarvie, B. D., Trotz-Williams, L. A., McKnight, D. R., Leslie, K. E., Wallace, M. M., Todd, C. G., & Peregrine, A. S. (2005). Effect of halofuginone lactate on the occurrence of *Cryptosporidium parvum* and growth of neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 88(5), 1801–1806. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72854-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72854-X)

Jenkins M. C. (2001). Advances and prospects for subunit vaccines against protozoa of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 101(3-4), 291–310. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(01\)00557-x](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(01)00557-x)

Jenkins, M. C., Higgins, J., Abrahante, J. E., Kniel, K. E., O'Brien, C., Trout, J., ... Fayer, R. (2008). Fecundity of *Cryptosporidium parvum* is correlated with intracellular levels of the viral symbiont CPV. *International Journal for Parasitology*, 38(8–9), 1051–1055. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.11.005>

Jenkins, M., Higgins, J., Kniel, K., Trout, J., & Fayer, R. (2004). Protection of calves against cryptosporiosis by oral inoculation with gamma-irradiated *Cryptosporidium parvum* oocysts. *The Journal of Parasitology*, 90(5), 1178–1180. <https://doi.org/10.1645/GE-3333RN>

Ježek, J., Nemeč, M., Malovrh, T., & Klinkon, M. (2010). Indicators of passive immunity and health status of calves. *Acta Veterinaria*, 60(5-6), 513-523.

Jiang, Y., Ren, J., Yuan, Z., Liu, A., Zhao, H., Liu, H., ... Shen, Y. (2014). *Cryptosporidium andersoni* as a novel predominant *Cryptosporidium* species in outpatients with diarrhea in Jiangsu Province, China. *BMC Infectious Diseases*, 14, 555. <https://doi.org/10.1186/s12879-014-0555-7>

Joachim, A., Krull, T., Schwarzkopf, J., & Dauschies, A. (2003). Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. *Veterinary Parasitology*, 112(4), 277–288. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(03\)00006-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(03)00006-2)

Kahrs, R. F. (1995). General disinfection guidelines. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 14(1), 105–163. <https://doi.org/10.20506/rst.14.1.836>

Karaoğlan, G. (2017). *Klinoptilolit İçeren Polimer Nanopartiküllerin Cryptosporidium Parvum Üzerine In Vitro Etkinliğinin Araştırılması*, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erişim adresi: <http://hdl.handle.net/11607/3083>

Karreman, H. J., Wentink, G. H., & Wensing, T. (2000). Using serum amyloid A



to screen dairy cows for sub-clinical inflammation. *The Veterinary Quarterly*, 22(3), 175–178. <https://doi.org/10.1080/01652176.2000.9695051>

Keidel, J., & Dauschies, A. (2013). Integration of halofuginone lactate treatment and disinfection with p-chloro-m-cresol to control natural cryptosporidiosis in calves. *Veterinary Parasitology*, 196(3-4), 321–326. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.003>

Khramtsov, N. V., Chung, P. A., Dykstra, C. C., Griffiths, J. K., Morgan, U. M., Arrowood, M. J., & Upton, S. J. (2000). Presence of double-stranded RNAs in human and calf isolates of *Cryptosporidium parvum*. *Journal of Parasitology*, 86(2), 275–282. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2000\)086\[0275:PODSRI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[0275:PODSRI]2.0.CO;2)

Kim, Y., Atalla, H., Mallard, B., Robert, C., & Karrow, N. (2011). Changes in Holstein cow milk and serum proteins during intramammary infection with three different strains of *Staphylococcus aureus*. *BMC Veterinary Research*, 7, 51. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-7-51>

Klein, P. (2008). Preventive and therapeutic efficacy of halofuginone-lactate against *Cryptosporidium parvum* in spontaneously infected calves: A centralised, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Veterinary Journal*, 177(3), 429–431. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.05.007>

Klopocki, E., Kristiansen, G., Wild, P. J., Klaman, I., Castanos-Velez, E., Singer, G., ... & Dahl, E. (2004). Loss of SFRP1 is associated with breast cancer progression and poor prognosis in early stage tumors. *International Journal of Oncology*, 25(3), 641–649.

Kolenda, R., Burdukiewicz, M., & Schierack, P. (2015). A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli*. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*, 5, 23. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2015.00023>

Kotloff, K. L., Nataro, J. P., Blackwelder, W. C., Nasrin, D., Farag, T. H., Panchalingam, S., ... Levine, M. M. (2013). Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): A prospective, case-control study. *The Lancet*, 382(9888), 209–222. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60844-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60844-2)

Kuczynska, E., & Shelton, D. R. (1999). Method for detection and enumeration of *Cryptosporidium parvum* oocysts in feces, manures, and soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 2820–2826. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.7.2820-2826.1999>

Kumon, Y., Yasuoka, Y., Yamanaka, S., Wada, A., Takeuchi, H., & Sugiura, T. (2011). Acute-phase serum amyloid A is present in human colostrum and milk. *Amyloid : the international journal of experimental and clinical investigation : the official journal of the International Society of Amyloidosis*, 18 Suppl 1, 11–13. <https://doi.org/10.3109/13506129.2011.574354003>

Kuşkucu, M. A. (2013). Mikrobiyoloji ve infeksiyon hastalıklarında omikler ve

uygulamaya yansımaları. *Antibiyotik ve Kemoterapi Dergisi*, 27, 95-100.

Kvác, M., & Vítovec, J. (2003). Prevalence and pathogenicity of *Cryptosporidium andersoni* in one herd of beef cattle. *Journal of Veterinary Medicine, B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 50(9), 451–457. <https://doi.org/10.1046/j.0931-1793.2003.00701.x>

Lake, I. R., Bentham, G., Kovats, R. S., & Nichols, G. L. (2005). Effects of weather and river flow on cryptosporidiosis. *Journal of Water and Health*, 3(4), 469–474. <https://doi.org/10.2166/wh.2005.048>

Lallemand, M., Villeneuve, A., Belda, J., & Dubreuil, P. (2006). Field study of the efficacy of halofuginone and decoquinate in the treatment of cryptosporidiosis in veal calves. *The Veterinary Record*, 159(20), 672–676. <https://doi.org/10.1136/vr.159.20.672>

Lamy, E., & Mau, M. (2012). Saliva proteomics as an emerging, non-invasive tool to study livestock physiology, nutrition and diseases. *Journal of Proteomics*, 75(14), 4251–4258. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.05.007>

Larson, B. L., Heary, H. L., Jr, & Devery, J. E. (1980). Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 63(4), 665–671. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(80\)82988-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82988-2)

Le, A., Barton, L. D., Sanders, J. T., & Zhang, Q. (2011). Exploration of bovine milk proteome in colostrum and mature whey using an ion-exchange approach. *Journal of Proteome Research*, 10(2), 692–704. <https://doi.org/10.1021/pr100884z>

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>

Lemberger, S. I., Deeg, C. A., Hauck, S. M., Amann, B., Hirmer, S., Hartmann, K., & Dorsch, R. (2011). Comparison of urine protein profiles in cats without urinary tract disease and cats with idiopathic cystitis, bacterial urinary tract infection, or urolithiasis. *American Journal of Veterinary Research*, 72(10), 1407–1415. <https://doi.org/10.2460/ajvr.72.10.1407>

Lemeteil, D., Roussel, F., Favennec, L., Ballet, J. J., & Brasseur, P. (1993). Assessment of candidate anticryptosporidial agents in an immunosuppressed rat model. *The Journal of Infectious Diseases*, 167(3), 766–768. <https://doi.org/10.1093/infdis/167.3.766>

Lendner, M., Böttcher, D., Delling, C., Ojo, K. K., Van Voorhis, W. C., & Dauschies, A. (2015). A novel CDPK1 inhibitor--a potential treatment for cryptosporidiosis in calves?. *Parasitology Research*, 114(1), 335–336. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4228-7>

Leoni, F., Amar, C., Nichols, G., Pedraza-Díaz, S., & McLauchlin, J. (2006). Genetic analysis of *Cryptosporidium* from 2414 humans with diarrhoea in England between 1985 and 2000. *Journal of Medical Microbiology*, 55(6), 703–707.

<https://doi.org/10.1099/jmm.0.46251-0>

Levieux, D., & Ollier, A. (1999). Bovine immunoglobulin G, beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin and serum albumin in colostrum and milk during the early post partum period. *The Journal of Dairy Research*, 66(3), 421–430. <https://doi.org/10.1017/s0022029999003581>

Levieux, D., Morgan, F., Geneix, N., Masle, I., & Bouvier, F. (2002). Caprine immunoglobulin G, beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin and serum albumin in colostrum and milk during the early post partum period. *The Journal of Dairy Research*, 69(3), 391–399. <https://doi.org/10.1017/s0022029902005575>

Li, J., Zhang, Z., Rosenzweig, J., Wang, Y. Y., & Chan, D. W. (2002). Proteomics and bioinformatics approaches for identification of serum biomarkers to detect breast cancer. *Clinical Chemistry*, 48(8), 1296–1304.

Lindsay, D. S., Upton, S. J., Owens, D. S., Morgan, U. M., Mead, J. R., & Blagburn, B. L. (2000). *Cryptosporidium andersoni* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporiidae) from cattle, *Bos taurus*. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 47(1), 91–95. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2000.tb00016.x>

Liu, L., Oza, S., Hogan, D., Chu, Y., Perin, J., Zhu, ...Black, R. E. (2016a). Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet (London, England)*, 388(10063), 3027–3035. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31593-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31593-8)

Liu, J., Platts-Mills, J. A., Juma, J., Kabir, F., Nkeze, J., Okoi, C., ... Houpt, E. R. (2016b). Use of quantitative molecular diagnostic methods to identify causes of diarrhoea in children: a reanalysis of the GEMS case-control study. *Lancet (London, England)*, 388(10051), 1291–1301. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31529-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31529-X)

Lombardi, P., Avallone, L., Pagnini, U., D'angelo, D., & Bogin, E. (2001). Evaluation of buffalo colostrum quality by estimation of enzyme activity levels. *Journal of Food Protection*, 64(8), 1265-1267.

Lunde, C. S., Stebbins, E. E., Jumani, R. S., Hasan, M. M., Miller, P., Barlow, J., ... Rosenthal, P. J. (2019). Identification of a potent benzoxaborole drug candidate for treating cryptosporidiosis. *Nature Communications*, 10(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10687-y>

Ma, F., Wo, Y., Li, H., Chang, M., Wei, J., Zhao, S., & Sun, P. (2020). Effect of the Source of Zinc on the Tissue Accumulation of Zinc and Jejunal Mucosal Zinc Transporter Expression in Holstein Dairy Calves. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10(8), 1246. <https://doi.org/10.3390/ani10081246>

Mac Kenzie, W. R., Schell, W. L., Blair, K. A., Addiss, D. G., Peterson, D. E., Hoxie, N. 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>

MacPherson, D. W., & McQueen, R. (1993). Cryptosporidiosis: Multiattribute evaluation of six diagnostic methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 31(2), 198–202. <https://doi.org/10.1128/jcm.31.2.198-202.1993>

Mansor, R., Mullen, W., Albalat, A., Zerefos, P., Mischak, H., Barrett, D. C., ... Eckersall, P. D. (2013). A peptidomic approach to biomarker discovery for bovine mastitis. *Journal of Proteomics*, 85, 89-98.

Marco-Ramell, A., Arroyo, L., Saco, Y., García-Heredia, A., Camps, J., Fina, M., ... Bassols, A. (2012). Proteomic analysis reveals oxidative stress response as the main adaptative physiological mechanism in cows under different production systems. *Journal of Proteomics*, 75(14), 4399-4411.

Martin, A. B., Aydemir, T. B., Guthrie, G. J., Samuelson, D. A., Chang, S. M., & Cousins, R. J. (2013). Gastric and colonic zinc transporter ZIP11 (Slc39a11) in mice responds to dietary zinc and exhibits nuclear localization. *The Journal of Nutrition*, 143(12), 1882–1888. <https://doi.org/10.3945/jn.113.184457>

Martins, R. P., Collado-Romero, M., Martínez-Gomáriz, M., Carvajal, A., Gil, C., Lucena, C., ... Garrido, J. J. (2012). Proteomic analysis of porcine mesenteric lymph-nodes after Salmonella typhimurium infection. *Journal of Proteomics*, 75(14), 4457–4470. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.03.045>

Masuno, K., Yanai, T., Hirata, A., Yonemaru, K., Sakai, H., Satoh, M., ... Nakai, Y. (2006). Morphological and immunohistochemical features of *Cryptosporidium andersoni* in cattle. *Veterinary Pathology*, 43(2), 202–207. <https://doi.org/10.1354/vp.43-2-202>

Mather I. H. (2000). A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane. *Journal of Dairy Science*, 83(2), 203–247. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74870-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74870-3)

Matsuura, Y., Matsubayashi, M., Nukata, S., Shibahara, T., Ayukawa, O., Kondo, Y., ... Sasai, K. (2017). Report of fatal mixed infection with *Cryptosporidium parvum* and *Giardia intestinalis* in neonatal calves. *Acta Parasitologica*, 62(1), 214–220. <https://doi.org/10.1515/ap-2017-0026>

McAllister, T. A., Olson, M. E., Fletch, A., Wetzstein, M., & Entz, T. (2005). Prevalence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in beef cows in southern Ontario and in beef calves in southern British Columbia. *Canadian Veterinary Journal*, 46(1), 47–55. <https://doi.org/10.4141/cjas66-008>

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., & Collins, M. (2004). Managing the production, storage, and delivery of colostrum. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 20(3), 593–603. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2004.06.005>

McLauchlin, J., Amar, C., Pedraza-Díaz, S., & Nichols, G. L. (2000). Molecular epidemiological analysis of *Cryptosporidium* spp. in the United Kingdom: Results of genotyping *Cryptosporidium* spp. in 1,705 fecal samples from humans and 105 fecal samples from livestock animals. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(11), 3984–3990. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.11.3984-3990.2000>

Medema, G. J., Ketelaars, H. A. M., & Hoogenboezem, W. (2001). *Cryptosporidium* and *Giardia*: occurrence in sewage, manure and surface water. *Report RIWA*, Amsterdam, The Netherlands, 172.

Meganck, V., Hoflack, G., & Opsomer, G. (2014). Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56(1), 75. <https://doi.org/10.1186/s13028-014-0075-x>

Meganck, V., Hoflack, G., Piepers, S., & Opsomer, G. (2015). Evaluation of a protocol to reduce the incidence of neonatal calf diarrhoea on dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 118(1), 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.11.007>

Meisel, J. L., Perera, D. R., Meligro, C., & Rubin, C. E. (1976). Overwhelming Watery Diarrhea Associated with a *Cryptosporidium* in an Immunosuppressed Patient. *Gastroenterology*, 70(6), 1156–1160. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(76\)80331-9](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(76)80331-9)

Menchetti, L., Traina, G., Tomasello, G., Casagrande-Proietti, P., Leonardi, L., Barbato, O., & Breccia, G. (2016). Potential benefits of colostrum in gastrointestinal diseases. *Frontiers in Bioscience*, 8(1), 331–351.

Mero, A., Kähkönen, J., Nykänen, T., Parviainen, T., Jokinen, I., Takala, T., ... Leppäluoto, J. (2002). IGF-I, IgA, and IgG responses to bovine colostrum supplementation during training. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 93(2), 732–739. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00002.2002>

Merry, R. J., Mawdsley, J. L., Brooks, A. E., & Davies, D. R. (1997). Viability of *Cryptosporidium parvum* during ensilage of perennial ryegrass. *Journal of Applied Microbiology*, 82(1), 115–120. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1997.tb03305.x>

Michalek, K., Dratwa-Chalupnik, A., Jaszczuk, M. (2015). Analysis of apolipoprotein A-IV expression and the levels of blood plasma lipid fractions of calves during the first week of life before and after the administration of milk replacer supplemented with lactose. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39(4), 423–428. <https://doi.org/10.3906/vet-1502-25>

Mistik, R. (2000). Aminoglikozid Antibiyotikler ve Günde Tek Doz Kullanımları. *Klinik Dergisi*, 13(2), 43–45.

Millard, P. S., Gensheimer, K. F., Addiss, D. G., Sosin, D. M., Beckett, G. A., Houck Jankoski, A., & Hudson, A. (1994). An Outbreak of Cryptosporidiosis From Fresh-Pressed Apple Cider. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 272(20), 1592–1596. <https://doi.org/10.1001/jama.1994.03520200048034>

Miller, B. A., Brewer, A., Nanni, P., Lim, J. J., Callanan, J. J., Grossmann, J., ... Chapwanya, A. (2019). Characterization of circulating plasma proteins in dairy cows with cytological endometritis. *Journal of Proteomics*, 205, 103421. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103421>

Moore, D. A., Atwill, E. R., Kirk, J. H., Brahmabhatt, D., Alonso, L. H., Hou, L., ... 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>

Morrill, K. M., Marston, S. P., Whitehouse, N. L., Van Amburgh, M. E., Schwab, C. G., Haines, D. M., & Erickson, P. S. (2010). Anionic salts in the prepartum diet and addition of sodium bicarbonate to colostrum replacer, and their effects on immunoglobulin G absorption in the neonate. *Journal of Dairy science*, 93(5), 2067–2075. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2622>

Muller, L. D., & Ellinger, D. K. (1981). Colostral immunoglobulin concentrations among breeds of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 64(8), 1727–1730. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82754-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82754-3)

Murakoshi, F., Takeuchi, M., Inomata, A., Horimoto, T., Ito, M., Suzuki, Y., & Kato, K. (2014). Administration of lasalocid-NA is preventive against cryptosporidiosis of newborn calves. *Veterinary Record*, 175(14), 353. <https://doi.org/10.1136/vr.102508>

Murata, H., Shimada, N., & Yoshioka, M. (2004). Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Veterinary Journal* (London, England : 1997), 168(1), 28–40. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9)

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)

Naciri, M., Mancassola, R., Reperant, J. M., Canivez, O., Quinque, B., & Yvore, P. (1994). Treatment of experimental ovine cryptosporidiosis with ovine or bovine hyperimmune colostrum. *Veterinary Parasitology*, 53(3-4), 173-190.

Nakamura, K., Miyasho, T., Nomura, S., Yokota, H., & Nakade, T. (2012). Proteome analysis of cerebrospinal fluid in healthy beagles and canine encephalitis. *Journal of Veterinary Medical Science*, 74(6), 751-756. doi: 10.1292/jvms.11-0474.

Nielsen, H., Clemmensen, I., & Kharazmi, A. (1993). Tetranectin: a novel secretory protein from human monocytes. *Scandinavian Journal of Immunology*, 37 1, 39-42 .

Nime, F. A., Burek, J. D., Page, D. L., Holscher, M. A., & Yardley, J. H. (1976). Acute Enterocolitis in a Human Being Infected with the Protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*, 70(4), 592–598. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(76\)80503-3](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(76)80503-3)

Nissen, A., Andersen, P. H., Bendixen, E., Ingvarsen, K. L., & Røntved, C. M. (2017). Colostrum and milk protein rankings and ratios of importance to neonatal calf health using a proteomics approach. *Journal of Dairy Science*, 100(4), 2711–2728. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11722>

Nissen, A., Bendixen, E., Ingvarsen, K. L., & Røntved, C. M. (2012). In-depth analysis of low abundant proteins in bovine colostrum using different fractionation techniques. *Proteomics*, 12(18), 2866–2878. <https://doi.org/10.1002/pmic.201200231>

Nord, J., Ma, P., DiJohn, D., Tzipori, S., & Tacket, C. O. (1990). Treatment with bovine hyperimmune colostrum of cryptosporidial diarrhea in AIDS patients. *AIDS (London, England)*, 4(6), 581–584. <https://doi.org/10.1097/00002030-199006000-00015>

Nydam, D. V., Wade, S. E., Schaaf, S. L., & Mohammed, H. O. (2001). Number of *Cryptosporidium parvum* oocysts or *Giardia* cysts shed by dairy calves after natural infection. *American Journal of Veterinary Research*, 62(10), 1612–1615. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.1612>

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>

Obrist, P., Spizzo, G., Ensinger, C., Fong, D., Brunhuber, T., Schäfer, G., ... Christiansen, M. (2004). Aberrant tetranectin expression in human breast carcinomas as a predictor of survival. *Journal of Clinical Pathology*, 57(4), 417–421. <https://doi.org/10.1136/jcp.2003.010058>

O’Farrell, P. H. (1975). High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *The Journal of Biological Chemistry*, 250(10), 4007–4021.

O’Hara, S. P., Small, A. J., Chen, X. M., & LaRusso, N. F. (2008). Host cell actin remodeling in response to *Cryptosporidium*. *Sub-Cellular Biochemistry*, 47, 92–100. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-78267-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-0-387-78267-6_7)

Ohashi, W., Hara, T., Takagishi, T., Hase, K., & Fukada, T. (2019). Maintenance of Intestinal Epithelial Homeostasis by Zinc Transporters. *Digestive Diseases and Sciences*, 64(9), 2404–2415. <https://doi.org/10.1007/s10620-019-05561-2>

Okhuysen, P. C., Chappell, C. L., Crabb, J. H., Sterling, C. R., & DuPont, H. L. (1999). Virulence of Three Distinct *Cryptosporidium parvum* Isolates for Healthy Adults. *The Journal of Infectious Diseases*, 180(4), 1275–1281. <https://doi.org/10.1086/315033>

Ollivett, T. L., Nydam, D. V., Bowman, D. D., Zambriski, J. A., Bellosa, M. L., Linden, T. C., & Divers, T. J. (2009). Effect of nitazoxanide on cryptosporidiosis in experimentally infected neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 92(4), 1643–1648. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1474>

Olson, M. E., Goh, J., Phillips, M., Guselle, N., & McAllister T. A. (1999). *Giardia* Cyst and *Cryptosporidium* Oocyst Survival in Water, Soil, and Cattle Feces.

*Journal of Environmental Quality*, 28, 1991-1996.  
<https://doi.org/10.2134/jeq1999.00472425002800060040x>

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>

Oma, V. S., Tråvén, M., Alenius, S., Myrnel, M., & Stokstad, M. (2016). Bovine coronavirus in naturally and experimentally exposed calves; viral shedding and the potential for transmission. *Virology Journal*, 13, 100. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0555-x>

Oruc, H. H., Cangul, I. T., Cengiz, M., & Yilmaz, R. (2011). Acute lasalocid poisoning in calves associated with off-label use. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 34(2), 187–189. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2010.01240.x>

Ozcan, S., Yildirim, V., Kaya, L., Albrecht, D., Becher, D., Hecker, M., & Ozcengiz, G. (2007). Phanerochaete chrysosporium soluble proteome as a prelude for the analysis of heavy metal stress response. *Proteomics*, 7(8), 1249–1260. <https://doi.org/10.1002/pmic.200600526>

Özlem, M. B., Eren, H., & Kaya, O. (1997). Aydın yöresi buzağlarında Cryptosporidium’ların varlığının araştırılması. *Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 22 (36), 15-22.

Öztürkoğlu-Budak, Ş., & Dönmez, S . (2012). Gıda Biliminde Yeni Omik Teknolojileri. *Gıda*, 37 (3), 173-179. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/issue/6929/9253>

Pal, A., Pal, A., Sharma, A., & Bhattacharya, T.K. (2019). Mutations in CD14 gene causes mastitis in different breeds of buffalo as confirmed by in silico studies and experimental validation. *Research Square*, <https://doi.org/10.21203/rs.2.10779/v1>

Pancieria, R. J., Thomassen, R. W., & Garner, F. M. (1971). Cryptosporidial Infection in a Calf. *Veterinary Pathology*, 8(5–6), 479–484. <https://doi.org/10.1177/0300985871008005-00610>

Panousis, N., Karatzias, C., Charalampidis, S., Diakou, A., Papadopoulos, I., & Giadinis, N. (2007). Prevalence of Cryptosporidium infection in dairy farms with a history of calves’ diarrhea (No. IKEEART-2015-4451). *Aristotle University of Thessaloniki*.

Park, J., Park, J., Jeong, J., Cho, K. H., Choi, I., & Kim, J. (2015). Identification of tetranectin as adipogenic serum protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 460(3), 583–588. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.03.073>

Parreño, V., Marcoppido, G., Vega, C., Garaicoechea, L., Rodriguez, D., Saif, L., & Fernández, F. (2010). Milk supplemented with immune colostrum: protection against rotavirus diarrhea and modulatory effect on the systemic and mucosal antibody responses in calves experimentally challenged with bovine rotavirus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 136(1-2), 12–27.



<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2010.01.003>

Pekcan, M., Fidancı, U.R., Özkul B.Y., & Özbeyaz, C. (2013). Estimation of passive immunity in newborn calves with routine clinical chemistry measurements. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 60(2), 85 - 88.

Pereira, M. D., Atwill, E. R., & Jones, T. (1999). Comparison of sensitivity of immunofluorescent microscopy to that of a combination of immunofluorescent microscopy and immunomagnetic separation for detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in adult bovine feces. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 3236–3239. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.7.3236-3239.1999>

Perryman, L. E., Kapil, S. J., Jones, M. L., & Hunt, E. L. (1999). Protection of calves against cryptosporidiosis with immune bovine colostrum induced by a *Cryptosporidium parvum* recombinant protein. *Vaccine*, 17(17), 2142–2149. [https://doi.org/10.1016/s0264-410x\(98\)00477-0](https://doi.org/10.1016/s0264-410x(98)00477-0)

Petricoin, E. F., Ardekani, A. M., Hitt, B. A., Levine, P. J., Fusaro, V. A., Steinberg, S. M., ... Liotta, L. A. (2002). Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet (London, England)*, 359(9306), 572–577. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)07746-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)07746-2)

Piñeiro, M., Andrés, M., Iturralde, M., Carmona, S., Hirvonen, J., Pyörälä, S., ... Alava, M. A. (2004). ITIH4 (inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain 4) is a new acute-phase protein isolated from cattle during experimental infection. *Infection and Immunity*, 72(7), 3777–3782. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.7.3777-3782.2004>

Piras, C., Guo, Y., Soggiu, A., Chanrot, M., Greco, V., Urbani, A., ... Humblot, P. (2017). Changes in protein expression profiles in bovine endometrial epithelial cells exposed to *E. coli* LPS challenge. *Molecular bioSystems*, 13(2), 392–405. <https://doi.org/10.1039/c6mb00723f>

Playford, R. J., MacDonald, C. E., Calnan, D. P., Floyd, D. N., Podas, T., Johnson, W., ... Marchbank, T. (2001). Co-administration of the health food supplement, bovine colostrum, reduces the acute non-steroidal anti-inflammatory drug-induced increase in intestinal permeability. *Clinical Science (London, England : 1979)*, 100(6), 627–633.

Pohlenz, J., Moon, H. W., Cheville, N. F., & Bemrick, W. J. (1978). Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 172(4), 452–457.

Pritchett, L. C., Gay, C. C., Besser, T. E., & Hancock, D. D. (1991). Management and production factors influencing immunoglobulin G1 concentration in colostrum from Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 74(7), 2336–2341. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78406-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78406-3)

Prosser, C. G., Eichler, S. J., Farr, V. C., & Davis, S. R. (1992). Effect of colostrum intake on alpha-lactalbumin concentrations in serum of calves. *Research in Veterinary Science*, 53(2), 219–222. [https://doi.org/10.1016/0034-5288\(92\)90113-g](https://doi.org/10.1016/0034-5288(92)90113-g)

Quezada-Tristán, T., García-Flor, V. L., Ortiz-Martínez, R., Arredondo-Figueroa, J. L., Medina-Esparza, L. E., Valdivia-Flores, A. G., & Montoya-Navarrete, A. L. (2014). Biochemical parameters in the blood of Holstein calves given immunoglobulin Y-supplemented colostrums. *BMC Veterinary Research*, 10(159), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-10-159>

Quigley, J. D., 3rd, Kost, C. J., & Wolfe, T. M. (2002). Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. *Journal of Dairy Science*, 85(5), 1243–1248. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74188-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74188-X)

Quigley, J. D., Lago, A., Chapman, C., Erickson, P., & Polo, J. (2013). Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 1148–1155. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5823>

Quílez, J., Sánchez-Acedo, C., del Cacho, E., Clavel, A., & Causapé, A. C. (1996). Prevalence of Cryptosporidium and Giardia infections in cattle in Aragón (northeastern Spain). *Veterinary Parasitology*, 66(3-4), 139–146. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(96\)01015-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(96)01015-1)

Quílez, J., Torres, E., Chalmers, R. M., Hadfield, S. J., del Cacho, E., & Sánchez-Acedo, C. (2008). Cryptosporidium genotypes and subtypes in lambs and goat kids in Spain. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(19), 6026–6031. <https://doi.org/10.1128/AEM.00606-08>

Raboisson, D., Delor, F., Cahuzac, E., Gendre, C., Sans, P., & Allaire, G. (2013). Perinatal, neonatal, and rearing period mortality of dairy calves and replacement heifers in France. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2913–2924. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6010>

Radostits, O.M., Gay, C.C., Hindcliff, K., Constable P. (Eds). (2007) *Veterinary Medicine A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*, 10th Edition, Saunders Elsevier, Oxford University Press, New York, pp: 1512-1515.

Rafiei, M., Ghoorchi, T., Toghdory, A., Moazeni, M., & Khalili, M. (2019). Effect of feeding heat-treated and unheated colostrum on immunoglobulin G absorption, health and performance of neonatal Holstein dairy calves. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 41(1), e45533. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v41i1.45533>

Ralston, B. J., Cockwill, C. L., Guselle, N. J., Van Herk, F. H., McAllister, T. A., & Olson, M. E. (2003). Prevalence of Giardia and Cryptosporidium andersoni and their effects on performance in feedlot beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 83(1), 153–159. <https://doi.org/10.4141/A01-001>

Ralston, B., Thompson, R. C. A., Pethick, D., McAllister, T. A., & Olson, M. E. (2010). Cryptosporidium andersoni in Western Australian feedlot cattle. *Australian Veterinary Journal*, 88(11), 458–460. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2010.00631.x>

Ramirez, N. E., Ward, L. A., & Sreevatsan, S. (2004). A review of the biology

and epidemiology of cryptosporidiosis in humans and animals. *Microbes and infection*, 6(8), 773–785. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2004.02.021>

Rathe, M., Müller, K., Sangild, P. T., & Husby, S. (2014). Clinical applications of bovine colostrum therapy: a systematic review. *Nutrition reviews*, 72(4), 237–254. <https://doi.org/10.1111/nure.12089>

Ravary-Plumioën, B. (2009). Resuscitation procedures and life support of the newborn calf. *Revue de Medecine Veterinaire*, 160(8–9), 410–419.

Reinhardt, T. A., Lippolis, J. D., Nonnecke, B. J., & Sacco, R. E. (2012). Bovine milk exosome proteome. *Journal of Proteomics*, 75(5), 1486–1492.

Reneau, J. K. ve Kinsel, M. L. (2001). Record Systems and Herd Monitoring in Production-Oriented Health Management Programmes in Food-Producing Animals. In O. M. Radostitis (Eds.), *Herd Health Food Animal Production Medicine*. pp. 107–120.

Rogers, M. A., Clarke, P., Noble, J., Munro, N. P., Paul, A., Selby, P. J., & Banks, R. E. (2003). Proteomic profiling of urinary proteins in renal cancer by surface enhanced laser desorption ionization and neural-network analysis: identification of key issues affecting potential clinical utility. *Cancer Research*, 63(20), 6971–6983.

Russell, T. D., Palmer, C. A., Orlicky, D. J., Fischer, A., Rudolph, M. C., Neville, M. C., & McManaman, J. L. (2007). Cytoplasmic lipid droplet accumulation in developing mammary epithelial cells: roles of adipophilin and lipid metabolism. *Journal of lipid research*, 48(7), 1463–1475. <https://doi.org/10.1194/jlr.M600474-JLR200>

Ryan, U., Fayer, R., & Xiao, L. (2014). Cryptosporidium species in humans and animals: Current understanding and research needs. *Parasitology*, 141(13), 1667–1685. <https://doi.org/10.1017/S0031182014001085>

Sahal, M., Karaer, Z., Yasa Duru, S., Cizmeci, S., & Tanyel, B. (2005). Cryptosporidien-Infektionen bei neugeborenen Kälbern aus der Umgebung von Ankara: klinische und hämatologische Untersuchungen sowie Ergebnisse der Behandlung mit Lasalocid-Na [Cryptosporidiosis in newborn calves in Ankara region: clinical, haematological findings and treatment with Lasalocid-NA]. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, 112(6), 203–210.

Santana, A. M., Thomas, F. C., Silva, D. G., McCulloch, E., Vidal, A. M. C., Burchmore, R. J. S., ... Eckersall, P. D. (2018). Reference 1D and 2D electrophoresis maps for potential disease related proteins in milk whey from lactating buffaloes and blood serum from buffalo calves (Water buffalo, *Bubalus bubalis*). *Research in Veterinary Science*. 118, 449–465. doi: 10.1016/j.rvsc.2018.04.010.

Santín, M., Trout, J. M., Xiao, L., Zhou, L., Greiner, E., & Fayer, R. (2004). Prevalence and age-related variation of *Cryptosporidium* species and genotypes in dairy calves. *Veterinary Parasitology*, 122(2), 103–117. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.03.020>

Santín, M., Trout, J. M., & Fayer, R. (2008). A longitudinal study of cryptosporidiosis in dairy cattle from birth to 2 years of age. *Veterinary Parasitology*, 155(1-2), 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.04.018>

Santman-Berends, I. M. G. A., Schukken, Y. H., & van Schaik, G. (2019). Quantifying calf mortality on dairy farms: Challenges and solutions. *Journal of Dairy Science*, 102(7), 6404–6417. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16381>

Sarı, B., Aktaş, M.S., Arslan, M.Ö. (2008). The prevalence of *Cryptosporidium* spp. in calves in Erzurum province. *Türkiye parazitoloji dergisi / Türkiye Parazitoloji Derneği = Acta parasitologica Turcica / Turkish Society for Parasitology*. 32. 116-9.

Savioli, L., Smith, H., & Thompson, A. (2006). Giardia and Cryptosporidium join the 'Neglected Diseases Initiative'. *Trends in Parasitology*, 22(5), 203–208. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.02.015>

Schaefer, D. A., Betzer, D. P., Smith, K. D., Millman, Z. G., Michalski, H. C., Menchaca, S. E., ... Riggs, M. W. (2016). Novel bumped kinase inhibitors are safe and effective therapeutics in the calf clinical model for cryptosporidiosis. *Journal of Infectious Diseases*, 214(12), 1856–1864. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw488>

Scott, C. A., Smith, H. V., & Gibbs, H. A. (1994). Excretion of *Cryptosporidium parvum* oocysts by a herd of beef suckler cows. *The Veterinary Record*, 134(7), 172. <https://doi.org/10.1136/vr.134.7.172>

Seth, M., Lamont, E. A., Janagama, H. K., Widdel, A., Vulchanova, L., Stabel, J. R., ... Sreevatsan, S. (2009). Biomarker discovery in subclinical mycobacterial infections of cattle. *PloS one*, 4(5), e5478.

Sevinc, F., Irmak, K., & Sevinc, M. (2003). The prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in the diarrhoeic and non-diarrhoeic calves. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 154(5), 357-362.

Silverlås, C., Bosaeus-Reineck, H., Näslund, K., & Björkman, C. (2013). Is there a need for improved *Cryptosporidium* diagnostics in Swedish calves?. *International Journal for Parasitology*, 43(2), 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2012.10.009>

Silva, B. T., Henklein, A., de Sousa Marques, R., de Oliveira, P. L., Leite, S. B. P., Fontes, S. M., ... Gomes, V. (2016). Vital parameters of Holstein calves from birth to weaning. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(3), 299-304.

Silverlås, C., Björkman, C., & Egenvall, A. (2009b). Systematic review and meta-analyses of the effects of halofuginone against calf cryptosporidiosis. *Preventive Veterinary Medicine*, 91(2-4), 73-84. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.05.003>

Silverlås, C., Emanuelson, U., de Verdier, K., & Björkman, C. (2009a). Prevalence and associated management factors of *Cryptosporidium* shedding in 50 Swedish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 90(3-4), 242–253. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.04.006>

Sklan, D. & Halevy, O. (1985). Digestion and absorption of protein along ovine gastrointestinal tract. *Journal of Dairy Science*, 68(7), 1676-1681. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(85\)81013-4](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(85)81013-4).

Smith G. W. (2009). Treatment of calf diarrhea: oral fluid therapy. *The Veterinary clinics of North America. Food Animal Practice*, 25(1), 55–vi. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.006>

Smith, H. V., Campbell, B. M., Paton, C. A., & Nichols, R. A. (2002). Significance of enhanced morphological detection of *Cryptosporidium* sp. oocysts in water concentrates determined by using 4',6'-diamidino-2-phenylindole and immunofluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(10), 5198–5201. <https://doi.org/10.1128/aem.68.10.5198-5201.2002>

Smith, A., Reacher, M., Smerdon, W., Adak, G. K., Nichols, G., & Chalmers, R. M. (2006). Outbreaks of waterborne infectious intestinal disease in England and Wales, 1992-2003. *Epidemiology and Infection*, 134(6), 1141–1149. <https://doi.org/10.1017/S0950268806006406>

Smith, G. W., & Foster, D. M. (2007). Short communication: Absorption of protein and immunoglobulin g in calves fed a colostrum replacer. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2905–2908. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-682>

Smolenski, G. A., Wieliczko, R. J., Pryor, S. M., Broadhurst, M. K., Wheeler, T. T., & Haigh, B. J. (2011). The abundance of milk cathelicidin proteins during bovine mastitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 143(1-2), 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.06.034>

Solomons N. W. (2002). Modulation of the immune system and the response against pathogens with bovine colostrum concentrates. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56 Suppl 3, S24–S28. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601480>

Sönmez Tamer, G. ve Gülenç, S. (2008). Dışkıda *Cryptosporidium* spp. Antijenlerinin ELISA ile Araştırılması. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 32(3), 198-201.

Steele, A. D., Geyer, A, Gerdes, G. H. (2004). Rotavirus infections In: Coetzer jaw, Tustin R.C (Eds). *Infectious Diseases of Lifestocks*. 2nd ed. Oxford University Press Southern Africa, Capetown pp:1256-1264.

Steele, J., Sponseller, J., Schmidt, D., Cohen, O., & Tzipori, S. (2013). Hyperimmune bovine colostrum for treatment of GI infections: a review and update on *Clostridium difficile*. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 9(7), 1565–1568. <https://doi.org/10.4161/hv.24078>

Stoller, J. K., & Aboussouan, L. S. (2005). Alpha1-antitrypsin deficiency. *Lancet (London, England)*, 365(9478), 2225–2236. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66781-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66781-5)

Strygler, B., Nicar, M. J., Santangelo, W. C., Porter, J. L., & Fordtran, J. S. (1990). Alpha 1-antitrypsin excretion in stool in normal subjects and in patients with

gastrointestinal disorders. *Gastroenterology*, 99(5), 1380–1387. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(90\)91165-3](https://doi.org/10.1016/0016-5085(90)91165-3)

Sun, Y., Wang, C., Sun, X., & Guo, M. (2020). Proteomic analysis of whey proteins in the colostrum and mature milk of Xinong Saanen goats. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1164–1174. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17159>

Szonyi, B., Chang, Y. F., Wade, S. E., & Mohammed, H. O. (2012). Evaluation of factors associated with the risk of infection with *Cryptosporidium parvum* in dairy calves. *American Journal of Veterinary Research*, 73(1), 76–85. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.1.76>

Şener, S. (1990). *Veteriner Klinik Farmakoloji ve Formüller*. Pethask Veteriner Hekimliği Yayınları, İstanbul, s: 286.

Şentürk, S. (2018). Olgu Tartışmalı Buzağuların İç Hastalıkları Genişletilmiş 3. Baskı, Özsan Basımevi, Bursa, s:198-202.

Tacoma, R., Gelsinger, S. L., Lam, Y. W., Scuderi, R. A., Ebenstein, D. B., Heinrichs, A. J., & Greenwood, S. L. (2017). Exploration of the bovine colostrum proteome and effects of heat treatment time on colostrum protein profile. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 9392–9401. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13211>

Taghi-Kilani, R., Sekla, L., & Hayglass, K. T. (1990). The role of humoral immunity in *Cryptosporidium* spp. infection. Studies with B cell-depleted mice. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 145(5), 1571–1576.

Thapa, B. R. (2005a). Health factors in colostrum. *Indian Journal of Pediatrics*, 72(7), 579–581. <https://doi.org/10.1007/BF02724182>

Thapa, B. R. (2005b). Therapeutic potentials of bovine colostrums. *Indian Journal of Pediatrics*, 72(10), 849–852. <https://doi.org/10.1007/BF02731112>

Thompson, J. C., & Pauli, J. V. (1981). Colostral transfer of gamma glutamyl transpeptidase in calves. *New Zealand Veterinary Journal*, 29(12), 223–226. <https://doi.org/10.1080/00480169.1981.34851>

Thomson, S., Hamilton, C. A., Hope, J. C., Katzer, F., Mabbott, N. A., Morrison, L. J., & Innes, E. A. (2017). Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. *Veterinary Research*, 48(1), 42. <https://doi.org/10.1186/s13567-017-0447-0>

Tobias, P. S., McAdam, K. P., & Ulevitch, R. J. (1982). Interactions of bacterial lipopolysaccharide with acute-phase rabbit serum and isolation of two forms of rabbit serum amyloid A. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md. : 1950), 128(3), 1420–1427.

Topal, O. (2018). *Buzağularda Neonatal Dönem Sağlığını Değerlendirmede İlk Onbeş Günde Önemli Olan Klinik Bulguların Belirlenmesi*. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Erişim adresi: <http://hdl.handle.net/11452/3544>

Topal, O., Batmaz, H., Mecitoğlu, Z., & Uzabacı, E. (2018). Comparison of IgG

and semiquantitative tests for evaluation of passive transfer immunity in calves. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 42(4), 302–309. <https://doi.org/10.3906/vet-1712-43>

Trotz-Williams, L. A., Leslie, K. E., & Peregrine, A. S. (2008). Passive immunity in Ontario dairy calves and investigation of its association with calf management practices. *Journal of Dairy Science*, 91(10), 3840–3849. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0898>

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, H., & Ramsey, H. (1991). Hypoxia in neonatal calves: effect on intestinal transport of immunoglobulins. *Journal of Dairy Science*, 74(6), 1953–1956. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78361-6.

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 Veterinary Internal Medicine*, 10(5), 304–307. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1996.tb02067.x>

Tzipori, S., Rand, W., Griffiths, J., Widmer, G., & Crabb, J. (1994). Evaluation of an animal model system for cryptosporidiosis: Therapeutic efficacy of paromomycin and hyperimmune bovine colostrum-immunoglobulin. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 1(4), 450–463. <https://doi.org/10.1128/cdli.1.4.450-463.1994>

Tzipori, S., Robertson, D., & Chapman, C. (1986). Remission of diarrhoea due to cryptosporidiosis in an immunodeficient child treated with hyperimmune bovine colostrum. *British Medical Journal (Clinical research ed.)*, 293(6557), 1276–1277. <https://doi.org/10.1136/bmj.293.6557.1276>

Uhde, F. L., Kaufmann, T., Sager, H., Albin, S., Zanoni, R., Schelling, E., & Meylan, M. (2008). Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. *The Veterinary Record*, 163(12), 362–366. <https://doi.org/10.1136/vr.163.12.362>

Ulutaş, B., Voyvoda, H., & Özlem, M. B. (2001). Cryptosporidiosis' li buzağılarda spiramisin'in terapötik etkinliği. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 27(2), 477–485.

USDA. Dairy 2007 Part II: Changes in the U.S. Dairy Cattle industry, 1991–2007. Pp. 57–61, USDA-APHIS-VS, CEAH, Fort Collins, 2008. (NAHMS 2007)

Vetterling, J. M., Jervis, H. R., Merrill, T. G., & Sprinz, H. (1971). *Cryptosporidium wrairi* sp. n. from the guinea pig *Cavia porcellus*, with an emendation of the genus. *The Journal of Protozoology*, 18(2), 243–247. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1971.tb03315.x>

Villacorta, I., Peeters, J. E., Vanopdenbosch, E., Ares-Mazas, E., & Theys, H. (1991). Efficacy of halofuginone lactate against *Cryptosporidium parvum* in calves. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 35(2), 283-287.

Vowinkel, T., Mori, M., Krieglstein, C. F., Russell, J., Saijo, F., Bharwani, S., ... Kalogeris, T. J. (2004). Apolipoprotein A-IV inhibits experimental colitis. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(2), 260–269. <https://doi.org/10.1172/JCI21233>

Walker, P. G., Constable, P. D., Morin, D. E., Drackley, J. K., Foreman, J. H., & Thurmon, J. C. (1998). A reliable, practical, and economical protocol for inducing diarrhea and severe dehydration in the neonatal calf. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire*, 62(3), 205–213.

Watarai, S., Tana, & Koiwa, M. (2008). Feeding activated charcoal from bark containing wood vinegar liquid (Nekka-Rich) is effective as treatment for cryptosporidiosis in calves. *Journal of Dairy Science*, 91(4), 1458–1463. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0406>

Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E., & Barrington, G. M. (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 14(6), 569-577. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2000\)014<0569:ptocii>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2000)014<0569:ptocii>2.3.co;2)

Webster, K. A., Smith, H. V., Giles, M., Dawson, L., & Robertson, L. J. (1996). Detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts in faeces: Comparison of conventional coproscopical methods and the polymerase chain reaction. *Veterinary Parasitology*, 61(1–2), 5–13. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00811-X](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00811-X)

Westergaard, U. B., Andersen, M. H., Heegaard, C. W., Fedosov, S. N., & Petersen, T. E. (2003). Tetranection binds hepatocyte growth factor and tissue-type plasminogen activator. *European Journal of Biochemistry*, 270(8), 1850–1854. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1033.2003.03549.x>

Wewer, U. M., Ibaraki, K., Schjørring, P., Durkin, M. E., Young, M. F., & Albrechtsen, R. (1994). A potential role for tetranection in mineralization during osteogenesis. *The Journal of Cell Biology*, 127(6 Pt 1), 1767–1775. <https://doi.org/10.1083/jcb.127.6.1767>

Wewer, U. M., Iba, K., Durkin, M. E., Nielsen, F. C., Loechel, F., Gilpin, B. J., ... Albrechtsen, R. (1998). Tetranection is a novel marker for myogenesis during embryonic development, muscle regeneration, and muscle cell differentiation in vitro. *Developmental Biology*, 200(2), 247–259. <https://doi.org/10.1006/dbio.1998.8962>

Weyl-Feinstein, S., Markovics, A., Eitam, H., Orlov, A., Yishay, M., Agmon, R., ... Shabtay, A. (2014). Short communication: effect of pomegranate-residue supplement on *Cryptosporidium parvum* oocyst shedding in neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, 97(9), 5800–5805. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7136>

Wheeler, C., Vugia, D. J., Thomas, G., Beach, M. J., Carines, S., Maier, T., ... Werner, S. B. (2007). Outbreak of cryptosporidiosis at a California waterpark: Employee and patron roles and the long road towards prevention. *Epidemiology and*



*Infection*, 135(2), 302–310. <https://doi.org/10.1017/S0950268806006777>

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>

Wright, G. L., Jr, Cazares, L. H., Leung, S. M., Nasim, S., Adam, B. L., Yip, T. T., ... & Vlahou, A. (1999). Proteinchip(R) surface enhanced laser desorption/ionization (SELDI) mass spectrometry: a novel protein biochip technology for detection of prostate cancer biomarkers in complex protein mixtures. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 2(5-6), 264–276. <https://doi.org/10.1038/sj.pcan.4500384>

Xiao, L., & Herd, R. P. (1994). Infection patterns of *Cryptosporidium* and *Giardia* in calves. *Veterinary Parasitology*, 55(3), 257-262.

Xiao, L., Sulaiman, I. M., Ryan, U. M., Zhou, L., Atwill, E. R., Tischler, M. L., ... Lal, A. A. (2002). Host adaptation and host-parasite co-evolution in *Cryptosporidium*: implications for taxonomy and public health. *International Journal for Parasitology*, 32(14), 1773–1785. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(02\)00197-2](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(02)00197-2)

Xiao, L., Fayer, R., Ryan, U., & Upton, S. J. (2004). *Cryptosporidium* Taxonomy: Recent Advances and Implications for Public Health. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(1), 72–97. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.1.72-97.2004>

Xu, X., Gilpin, B., Iba, K., Maier, A., Engvall, E., Albrechtsen, R., & Wewer, U. M. (2001). Tetranectin in slow intra- and extrafusal chicken muscle fibers. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 22(2), 121–132. <https://doi.org/10.1023/a:1010377325382>

Yamada, M., Murakami, K., Wallingford, J. C., & Yuki, Y. (2002). Identification of low-abundance proteins of bovine colostrum and mature milk using two-dimensional electrophoresis followed by microsequencing and mass spectrometry. *Electrophoresis*, 23(7-8), 1153–1160. [https://doi.org/10.1002/1522-2683\(200204\)23:7/8<1153::AID-ELPS1153>3.0.CO;2-Y](https://doi.org/10.1002/1522-2683(200204)23:7/8<1153::AID-ELPS1153>3.0.CO;2-Y)

Yang, Y., Bu, D., Zhao, X., Sun, P., Wang, J., & Zhou, L. (2013). Proteomic analysis of cow, yak, buffalo, goat and camel milk whey proteins: quantitative differential expression patterns. *Journal of Proteome Research*, 12(4), 1660–1667. <https://doi.org/10.1021/pr301001m>

Yang, M., Zou, Y., Wu, Z. H., Li, S. L., & Cao, Z. J. (2015). Colostrum quality affects immune system establishment and intestinal development of neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 7153-7163. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9238>

Yang, M., Cao, X., Wu, R., Liu, B., Ye, W., Yue, X., & Wu, J. (2017). Comparative proteomic exploration of whey proteins in human and bovine colostrum and mature milk using iTRAQ-coupled LC-MS/MS. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68(6), 671–681.

<https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1279129>

Yilmaz, Z., Eralp Inan, O., Kocaturk, M., Baykal, A. T., Hacariz, O., Hatipoglu, I., ... Ulus, I. H. (2016). Changes in serum proteins after endotoxin administration in healthy and choline-treated calves. *BMC Veterinary Research*, 12, 210. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0837-y>

Yılmaz, A., Akkaş, Ö., Güven, E., Aydın, H., & Uslu, H. (2018). Investigation of *Cryptosporidium* spp. in Immunosuppressive and Immunocompetent Cases with Diarrhea by Microscopic, Serological and Molecular Methods. *Middle Black Sea Journal of Health Science*, 4(3), 11–19. <https://doi.org/10.19127/mbsjohs.464833>

Young-Speirs, M., Drouin, D., Cavalcante, P. A., Barkema, H. W., & Cobo, E. R. (2018). Host defense cathelicidins in cattle: types, production, bioactive functions and potential therapeutic and diagnostic applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(6), 813–821. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.02.006>

Yu, Y., Wu, A., Zhang, Z., Yan, G., Zhang, F., Zhang, L., ... Wang, F. (2013). Characterization of the GufA subfamily member SLC39A11/Zip11 as a zinc transporter. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(10), 1697–1708. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.02.010>

Zambriski, J. A., Nydam, D. V., Wilcox, Z. J., Bowman, D. D., Mohammed, H. O., & Liotta, J. L. (2013). *Cryptosporidium parvum*: Determination of ID50 and the dose-response relationship in experimentally challenged dairy calves. *Veterinary Parasitology*, 197(1–2), 104–112. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.022>

Zanker, I. A., Hammon, H. M., & Blum, J. W. (2001). Activities of gamma-glutamyltransferase, alkaline phosphatase and aspartate-aminotransferase in colostrum, milk and blood plasma of calves fed first colostrum at 0-2, 6-7, 12-13 and 24-25 h after birth. *Journal of veterinary medicine. A, Physiology, pathology, clinical medicine*, 48(3), 179–185. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0442.2001.00338.x>

Zhang, L., Boeren, S., Hageman, J. A., van Hooijdonk, T., Vervoort, J., & Hettinga, K. (2015a). Bovine milk proteome in the first 9 days: protein interactions in maturation of the immune and digestive system of the newborn. *PloS one*, 10(2), e0116710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116710>

Zhang, L., Boeren, S., Hageman, J. A., van Hooijdonk, T., Vervoort, J., & Hettinga, K. (2015b). Perspective on calf and mammary gland development through changes in the bovine milk proteome over a complete lactation. *Journal of Dairy Science*, 98(8), 5362–5373.

Zhang, L., Boeren, S., van Hooijdonk, A.C.M., Vervoort, J.M., Hettinga, K.A., (2015c). A proteomic perspective on the changes in milk proteins due to high somatic cell count. *Journal of Dairy Science*. 98:5339–5351. DOI:<https://doi.org/10.3168/jds.2014-9279>

Zhao, S., Sun, H., Yan, W., Xu, D., & Shen, T. (2018). A proteomic study of the pulmonary injury induced by microcystin-LR in mice. *Toxicon*, 150, 304–314.

Zhong, L., Taylor, D., Begg, D. J., & Whittington, R. J. (2011). Biomarker discovery for ovine paratuberculosis (Johne's disease) by proteomic serum profiling. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 34(4), 315–326. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.03.001>

Zintl, A., Keogh, B., Ezzaty-Mirhashemi, M., De Waal, T., Scholz, D., & Mulcahy, G. (2010). Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts in the presence of hydrated lime. *Veterinary Record*, 166(10), 297–301. <https://doi.org/10.1136/vr.c1157>

## 7. SİMGE ve KISALTMALAR

<b>A1AT</b>	Alpha-1-antiproteinase
<b>A1BG</b>	Alpha-1B-glycoprotein
<b>ACTB</b>	Actin cytoplasmic 1
<b>ACTG</b>	Actin cytoplasmic 2
<b>AIDS</b>	Acquired Immune Deficiency Syndrome
<b>ALBU</b>	Albumin
<b>APOA4</b>	Apolipoprotein A-IV
<b>BRSV</b>	Bovine respiratory syncytial virus
<b>BT1A1</b>	Butyrophilin subfamily 1 member A1
<b>C.</b>	Cryptosporidium
<b>Ca</b>	Kalsiyum
<b>CASA2</b>	Alpha-S2-casein
<b>CD14</b>	Monocyte differentiation antigen CD14
<b>CDPKs</b>	Calcium-dependent protein kinases
<b>CH3L1</b>	Chitinase-3-like protein 1
<b>COF1</b>	Cofilin-1
<b>COPE</b>	Coatomer subunit epsilon
<b>CPV</b>	Cryptosporidium parvum virus
<b>CTHL1</b>	Cathelicidin-1
<b>CTHL4</b>	Cathelicidin-4
<b>ELISA</b>	Enzyme linked immunosorbent assay
<b>ETEC</b>	Enterotoksijenik E. coli
<b>GGT</b>	Gamma glutamyl transferase
<b>GLCM1</b>	Glycosylation-dependent cell adhesion molecule 1
<b>HAP</b>	Yüksek moleküler ağırlıklı proteinler

<b>HIV</b>	Human immunodeficiency virus
<b>HP20</b>	Protein HP-20 homolog
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	Interferon gamma
<b>Ig</b>	İmmunoglobulin
<b>ITIH4</b>	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4
<b>IU/L</b>	İnternasyonel ünite/litre
<b>K</b>	Potasyum
<b>LALBA</b>	Alpha-lactalbumin
<b>LAP</b>	Düşük moleküler ağırlıklı proteinler
<b>m/z</b>	Kütle/yük
<b>MFGM</b>	Lactadherin
<b>Mg</b>	Magnezyum
<b>mg/dl</b>	Miligram/desilitre
<b>MHC</b>	Major histocompatibility complex
<b>Na</b>	Sodyum
<b>NK</b>	Naturel killer
<b>NUCB1</b>	Nucleobindin-1
<b>PCR</b>	Polimerase chain reaction
<b>PLIN2</b>	Perilipin-2
<b>PTY</b>	Pasif transfer yetmezliği
<b>r</b>	Korelasyon katsayısı
<b>RFLP</b>	Restriction fragment length polymorphism
<b>RID</b>	Radio immuno diffusion
<b>S39AB</b>	Zinc transporter ZIP11
<b>SAA</b>	Serum amyloid A
<b>SFRP1</b>	Secreted frizzled-related protein 1
<b>TETN</b>	Tetranectin
<b>TP</b>	Total protein
<b>U/L</b>	Ünite /litre
<b>UBB</b>	Polyubiquitin-B

## 8. EKLER

### TABLO LİSTESİ

<b>Tablo no</b>	<b>Başlık</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1</b>	Buzağılarda 5’li dışkı skorlama tablosu	63
<b>Tablo 2</b>	Gruplarda 10 gündeki emme refleksleri	69
<b>Tablo 3</b>	Gruplarda 10 gündeki kalp frekansları (/dk)	70
<b>Tablo 4</b>	Buzağıkların günlük dışkı skorları	72
<b>Tablo 5</b>	Gruplarda buzağıkların ishalleri gün süreleri	73
<b>Tablo 6</b>	Buzağıkların dışkılarında ookist sayıları	75
<b>Tablo 7</b>	Grup 2 ile Grup 3’ün dışkıdaki ookist sayılarının MannWhitney U testi ile karşılaştırılması	75
<b>Tablo 8</b>	Grup 1 ile Grup 3’ün dışkıdaki ookist sayılarının MannWhitney U testi ile karşılaştırılması	76
<b>Tablo 9</b>	Üç grupta günler arasında ookist azalma yüzdeleri	77
<b>Tablo 10</b>	Grupların dışkıda ookist saçılan gün sayıları	77
<b>Tablo 11</b>	Buzağıkların serum IgG konsantrasyonları (mg/dl)	78
<b>Tablo 12</b>	Buzağıkların GGT düzeyleri (U/L)	78
<b>Tablo 13</b>	Buzağıkların serum TP konsantrasyonları (g/dl)	79
<b>Tablo 14</b>	Buzağıkların Brix % değerleri	79
<b>Tablo 15</b>	Proteomik analizlerle karşılaştırılan yüksek kaliteli ve düşük kaliteli kolostrum örneklerinin laboratuvar bulguları	81
<b>Tablo 16</b>	Grup 1’deki numunelerde istatistiksel düzeyde farklılık gösteren proteomların accession numaraları, peptid sayıları ve skorları	83
<b>Tablo 17</b>	Grup 1’deki buzağılarda 0. günde, 3. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları	83
<b>Tablo 18</b>	Grup 1’deki buzağılarda 3. günde, 0. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları	84
<b>Tablo 19</b>	Grup 2’deki numunelerde istatistiksel düzeyde farklılık gösteren proteomların accession numaraları, peptid sayıları ve skorları	91

<b>Tablo 20</b>	Grup 2'deki buzaşılarda 0. günde, 3. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları	91
<b>Tablo 21</b>	Grup 2'deki buzaşılarda 3. günde, 0. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları	93
<b>Tablo 22</b>	Grup 3'deki buzaşılarda 0. günde, 3. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları	100
<b>Tablo 23</b>	Grup 3'deki buzaşılarda 3. günde, 0. güne göre daha yüksek miktarlarda tanımlanan tüm proteinler, peptid sayıları ve değişim oranları	101
<b>Tablo 24</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrum numunelerinde istatistiksel düzeyde farklılık gösteren proteomların accession numaraları, peptid sayıları ve skorları	106
<b>Tablo 25</b>	Düşük kaliteli kolostrum örneklerinde daha yüksek oranda bulunan proteinler	106
<b>Tablo 26</b>	Yüksek kaliteli kolostrumda daha yüksek oranda bulunan proteinler	108
<b>Tablo 27</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrum örneklerinde anlamlı düzeyde fazla bulunan proteomlar	109

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil no</b>	<b>Başlık</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1</b>	Omik teknolojiler ve inceledikleri bileşenler	51
<b>Şekil 2</b>	7306 nolu buzaşının dışkı hızlı test sonucu	64
<b>Şekil 3</b>	Dışkı skoru 5 (2033 no.lu buzaşı, Grup III'de 4 no.lu )	70
<b>Şekil 4</b>	Dışkı skoru 4 (2012 no.lu buzaşı, Grup III'de 3 no.lu)	70
<b>Şekil 5</b>	Dışkı skoru 3 (2200 no.lu buzaşı, Grup I'de 9 no.lu)	71
<b>Şekil 6</b>	Dışkı skoru 2 (2006 no.lu buzaşı, GrupII'de 1 no.lu)	71
<b>Şekil 7</b>	Dışkı skoru 1 (2009 no.lu buzaşı, GrupI'de 1 no.lu)	71
<b>Şekil 8</b>	Dışkının Karbol fuksin ile boyanması sonrası 40'lık büyütmede cryptosporidium ookistlerinin görülmesi	74
<b>Şekil 9</b>	Brix % değeri 32,6 olan yüksek kaliteli kolostrum örneği	80
<b>Şekil 10</b>	Bu çalışmada Grup 1'de izole edilen serum proteomlarının Bos	

	taurus protein veri tabanına göre tanımlanması	82
<b>Şekil 11</b>	Grup 1’de Alpha-1-antiproteinase seviyesindeki değişim	85
<b>Şekil 12</b>	Grup 1’de Serum amyloid A protein seviyesindeki değişim	86
<b>Şekil 13</b>	Grup 1’de Actin cytoplasmic 2 seviyesindeki değişim	86
<b>Şekil 14</b>	Grup 1’de Protein HP-20 homolog seviyesindeki değişim	87
<b>Şekil 15</b>	Grup 1’deki anlamlı proteinlerin moleküler fonksiyonları	87
<b>Şekil 16</b>	Grup 1’deki anlamlı proteinlerin biyolojik işlevleri	88
<b>Şekil 17</b>	Grup 1’deki anlamlı proteinlerin sellüler yapılarıdaki dağılımları	88
<b>Şekil 18</b>	Grup 1’deki anlamlı proteinlerin protein yolları	89
<b>Şekil 19</b>	Grup 1’deki anlamlı proteinlerin protein sınıflarındaki dağılımları	89
<b>Şekil 20</b>	Bu çalışmada Grup 2’de izole edilen serum proteomlarının Bos taurus protein veri tabanına göre tanımlanması	90
<b>Şekil 21</b>	Grup 2’de Alpha-1B-glycoprotein seviyesindeki değişim	94
<b>Şekil 22</b>	Grup 2’de Zinc transporter ZIP11 protein seviyesindeki değişim	95
<b>Şekil 23</b>	Grup 2’de Cathelicidin-1 protein seviyesindeki değişim	95
<b>Şekil 24</b>	Grup 2’de Actin-cytoplasmic 1 protein seviyesindeki değişim	96
<b>Şekil 25</b>	Grup 2’de Apolipoprotein A-IV protein seviyesindeki değişim	96
<b>Şekil 26</b>	Grup 2’deki anlamlı proteinlerin moleküler fonksiyonları	97
<b>Şekil 27</b>	Grup 2’deki anlamlı proteinlerin biyolojik işlevleri	97
<b>Şekil 28</b>	Grup 2’deki anlamlı proteinlerin sellüler yapılarıdaki dağılımları	98
<b>Şekil 29</b>	Grup 2’deki anlamlı proteinlerin protein yolları	98
<b>Şekil 30</b>	Grup 2’deki anlamlı proteinlerin protein sınıflarındaki dağılımları	99
<b>Şekil 31</b>	Grup 2’deki anlamlı proteinlerin string analizi bulguları	99
<b>Şekil 32</b>	Bu çalışmada izole edilen kolostrum proteomlarının Bos taurus protein veri tabanına göre tanımlanması	105
<b>Şekil 33</b>	Yüksek kaliteli ve düşük kaliteli kolostrum numunelerinin PCA grafiği	105
<b>Şekil 34</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Glycosylation dependent cell adhesion molecule 1 düzeyindeki değişim	109
<b>Şekil 35</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Cofilin-1 düzeyindeki değişim	110
<b>Şekil 36</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Alpha-S2-casein	



	düzeyindeki değişim	110
<b>Şekil 37</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Alpha-lactalbumin düzeyindeki değişim	111
<b>Şekil 38</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Alpha-1B-glycoprotein düzeyindeki değişim	111
<b>Şekil 39</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Actin_ cytoplasmic 1 düzeyindeki değişim	112
<b>Şekil 40</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Nucleobindin-1 düzeyindeki değişim	112
<b>Şekil 41</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Cathelicidin-4 düzeyindeki değişim	113
<b>Şekil 42</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 düzeyindeki değişim	113
<b>Şekil 43</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Chitinase-3-like protein 1 düzeyindeki değişim	114
<b>Şekil 44</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Monocyte differentiation antigen CD14 düzeyindeki değişim	114
<b>Şekil 45</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Tetranectin düzeyindeki değişim	115
<b>Şekil 46</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Secreted frizled related protein 1 düzeyindeki değişim	115
<b>Şekil 47</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Perilipin-2 düzeyindeki değişim	116
<b>Şekil 48</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Coatomer subunit epsilon düzeyindeki değişim	116
<b>Şekil 49</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Butyrophilin subfamily 1 member A1 düzeyindeki değişim	117
<b>Şekil 50</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Polyubiquitin-B düzeyindeki değişim	117
<b>Şekil 51</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Lactadherin düzeyindeki değişim	118
<b>Şekil 52</b>	Yüksek ve düşük kaliteli kolostrumlarda Albumin düzeyindeki değişim	118
<b>Şekil 53</b>	Kolostrumda anlamlı değişim gösteren proteinlerin moleküler fonksiyon ve dağılımları	119
<b>Şekil 54</b>	Kolostrumda anlamlı değişim gösteren proteinlerin biyolojik fonksiyon ve dağılımları	119
<b>Şekil 55</b>	Kolostrumda anlamlı değişim gösteren proteinlerin selüler	

	yapılardaki dağılımları	120
<b>Şekil 56</b>	Kolostrumda anlamlı değişim gösteren proteinlerin yolak (pathway) analizi	120
<b>Şekil 57</b>	Kolostrumda anlamlı değişim gösteren proteinlerin sınıf analizi	121
<b>Şekil 58</b>	Kolostrumda anlamlı olan protein ve fraksiyonlarının birbirleriyle etkileşimi (protein-protein interaksiyonu)	121

### **GRAFİK LİSTESİ**

<b>Şekil no</b>	<b>Başlık</b>	<b>Sayfa</b>
Grafik 1	Buzağuların günlük dışkı skorları	72
Grafik 2	Buzağuların günlük dışkı skorları (dışkıda ookist sayımının yapıldığı günler)	73
Grafik 3	Üç grupta günler arasında dışkıda ookist sayılarındaki değişim	76

## 9. TEŞEKKÜR

Öncelikle doktora sürecine başladığım günden bugüne kişisel gelişimim ve akademik hayata dair bilgi ve birikimlerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen, çalışmanın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Hasan BATMAZ'a ve tez çalışmasına maddi destek veren Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim. Ayrıca tez izleme komitesinde bulunarak zaman gözetmeksizin özellikle analizlerin yapılmasında ve her aşamada katkı sağlayan değerli hocam Parazitoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Levent AYDIN'a, tez çalışmasının planlanması ve laboratuvar desteğinin sağlanması konusunda katkılarını esirgemeyen saygıdeğer hocam İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Zeki YILMAZ'a, doktora süresi boyunca destekleri ile her daim yanımda ve yardımcı olan çok değerli hocalarım İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ebru YALÇIN, İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. Zafer MECİTOĞLU, Prof. Dr. Sezgin ŞENTÜRK ve Doç. Dr. Meriç KOCATÜRK'e, istatistiksel analizlerde yardımcı olan Prof. Dr. Abdülkadir ORMAN'a, tezin yazım aşamasında destek veren Araş. Gör. Ahmet SARIL ve Dokt. Ogr. Uygur CANATAN'a teşekkür ederim. Yine proteomik analizlerinin yapılmasında ve yorumlanmasında hizmet alımı sağladığımız Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Ahmet Tarık BAYKAL ve Dr. Emel AKGÜL'e, çalışmanın hayvan materyalinin sağlandığı yer Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Sağlığı ve Hayvansal Üretim Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanlarına, çalışmanın her aşamasında bana destek veren, isimlerini tek tek yazamadığım fakültemiz öğrencilerine teşekkürlerimi sunarım. Mesleki kazanımlarımda katkıları olan değerli meslek büyüklerim ve hocalarıma ayrıca İç Hastalıkları Anabilim Dalındaki değerli hocalarım ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim. Son olarak, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyerek bugünlere gelmemde üzerimde çok büyük emeği olan sevgili aileme ve varlığıyla her daim gelecek için umut veren oğlum Mert'e sonsuz teşekkür ederim.

## 10. ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Ahmetli/Manisa'da doğmuştur. İlkokulu 50. Yıl İlk Öğretim Okulunda (Ödemiş/İzmir), ortaokulu Emek İlk Öğretim Okulunda (Bursa), lise öğrenimini ise Yıldırım Beyazıt Süper Lisesinde (Bursa) tamamlayarak 2009 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesinde lisans eğitimine başlamıştır. 2015 yılında lisans eğitimini dönem birincisi olarak tamamlamış ve aynı yıl Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda doktora eğitimine başlamıştır. 2019 yılı Eylül ayında Araştırma Görevlisi kadrosuna atanmış ve halen bu görevini sürdürmektedir.

Doktora eğitimi süresince ulusal ve uluslararası nitelikli kongre ve seminerlere katılmış, sözlü sunumlar gerçekleştirmiştir. 5. Uluslararası Sürü Sağlığı ve Yönetimi Kongresinde ikincilik, 1. Uluslararası Çiftlik Hayvanları Hekimliği Kongresinde ise birincilik elde etmiştir. Bir oğlu vardır.