



## İshalli Buzağlarda Prokalsitonin ve Sitokin Düzeyleri\*

Oğuzhan ASLANDOĞAN<sup>1</sup> Vehbi GÜNEŞ<sup>2</sup>✉

<sup>1</sup> Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Kayseri/Türkiye

<sup>2</sup> Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri/Türkiye

◆ Geliş Tarihi/Received: 13.06.2024

◆ Kabul Tarihi/Accepted: 19.07.2024

◆ Yayın Tarihi/Published: 31.12.2024

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

Aslandoğan O, Güneş V. İshalli Buzağlarda Prokalsitonin ve Sitokin Düzeyleri. Bozok Vet Sci (2024) 5, (2):35-42.

**Özet:** Bu çalışmada, ishalli buzağların örneklerinde serum prokalsitonin (PCT) ve seçilmiş proinflatuar sitokin (TNF- $\alpha$ , IL-6) düzeyleri ile hastalığın şiddeti arasındaki ilişkilerin tanımlanması amaçlandı. Bu amaçla 1-30 günlük yaşta farklı ırklardan (holstein, simental, jersey) 45 adet ishalli buzağı ve 15 adet 1-30 günlük sağlıklı buzağı (Grup 1) çalışmaya dahil edildi. Hasta grubu ishalli buzağlar 3 gruba ayrıldı. Grup 2: hafif (n=15), Grup 3: şiddetli (n=15), Grup 4: ise komatöz (n=15) hasta gruplarını oluşturdu. Buzağların vena jugularis'lerinden tam kan sayımı, kan gazı analizleri ve ELISA analizleri için uygun kan örnekleri alındı. TNF- $\alpha$ , IL-6 ve PCT analizleri ticari ELISA kitlerinin uygulama prosedürlerine göre yapıldı. Hafif ( $456.54 \pm 115.35$  ng/ml), şiddetli ( $473.19 \pm 120.50$  ng/ml) ve komatöz ( $459.51 \pm 99.14$  ng/ml) ishalli buzağların ortalama PCT konsantrasyonları, sağlıklı buzağlardan ( $315.70 \pm 83.90$  ng/ml) elde edilen değerlerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ( $p \leq 0.01$ ). Sonuç olarak serum PCT düzeylerinin enfeksiyöz buzağı ishallerinde güvenilir bir yangısel biyobelirteç olduğu, hastalığın takibi ve şiddetinin belirlenmesinde kullanılabileceği değerlendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Diyare, Kan, Prokalsitonin, Buzağı, Teşhis

## Procalcitonin and Cytokine Levels in Calves with Diarrhoe

**Abstract:** This study aimed to define the relationships between procalcitonin (PCT) and selected proinflammatory cytokine (TNF- $\alpha$ , IL-6) levels in the serum of calves with diarrhea and the severity of the disease. For this purpose, 45 diarrheal calves of different breeds (Holstein, Simmental, Jersey) aged 1-30 days and 15 healthy calves (Group 1) aged 1-30 days were included in the study. Diarrheic calves used in the study were divided into 3 groups. Group 2: Mild (n=15), Group 3: Severe (n=15), and Group 4: Comatose (n=15) patient groups. Blood samples suitable for complete blood count, blood gas analysis and ELISA analysis were taken from the jugular vein of the calves. TNF- $\alpha$ , IL-6 and PCT analyzes were performed in accordance with the application procedure of commercial ELISA kits. The mean PCT concentrations of calves with mild ( $456.54 \pm 115.35$  ng/ml), severe ( $473.19 \pm 120.50$  ng/ml) and comatose ( $459.51 \pm 99.14$  ng/ml) diarrhea were statistically higher than the values obtained from healthy calves ( $315.70 \pm 83.90$  ng/ml). As a result, it was evaluated that serum PCT levels are a reliable inflammatory biomarker in infectious calf diarrhea and can be used in monitoring and determining the severity of the disease.

**Keywords:** Diarrhea, Blood, Procalcitonin, Calf, Diagnosis

### 1. Giriş

Yenidoğan buzağların immun savunma sistemi doğum anında yeterince gelişmediği için enfeksiyonlara karşı spesifik bir immun cevap veremez. O nedenle buzağların immun sistemleri tamamen gelişinceye kadar anadan gelen immunglobulinlerle (Ig) sağlanan pasif bağışıklık gereklidir (1,2). Yeterli maternal bağışıklığın sağlanmadığı ve pasif transfer yetmezliği (PTY) gelişen buzağlarda yeni doğan ölümlerine ve sonraki süreçte gelişim yetersizliklerine rastlanır. Özellikle Escherichia coli gibi bakteriyel, viral (sığır rotavirüs [BRV], sığır koronavirüs [BCoV]) ya da paraziter (Cryptosporidium spp.) enteritislere bağlı sepsisemilerde mortalite oranı oldukça yüksektir (3,4). İshaller süt emen buzağlarda morbidite ve mortalitenin en yaygın nedenidir (5,6). Neonatal buzağların sepsis olgularında veya şüpheli sindirim sistemi enfeksiyonlarında

sistemik yangısal cevap oluşur (2). Son yıllarda neonatal buzağı ishallerinde sistemik yangısal cevabın teşhisi ve prognozunda umut vadeden biyobelirteçler arasında Presepsin, TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-6 ve Prokalsitonin (PCT) yer almaktadır (7,8).

Prokalsitonin, 116 amino asitten oluşan bir peptit olup, kalsiyum homeostazından sorumlu olan kalsitonin hormonunun öncüsüdür. Tiroid bezinin dışında, sepsis durumlarının yanı sıra, akciğer ve bağırsaklardan da dolaşıma salınabilir. Sağlıklı bireylerde çok düşük düzeylerde bulunurken, bakteriyel hastalıklarda TNF- $\alpha$ , IL-6 ve IL-8 sonrası artışı PCT'nin hızlıca yükseldiği, özellikle sepsis de, normal serum düzeylerine göre yüz kata kadar artabileceği bildirilmiştir (9). Prokalsitonin'in seviyesi özellikle bakteriyel kaynaklı proinflatuar bir uyarana yanıt olarak yükselişe geçer. Viral enfeksiyonlarda ve

✉: [vgunes@erciyes.edu.tr](mailto:vgunes@erciyes.edu.tr)

\*Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi tarafından desteklenen TYL-2021-11113 kodlu projeden özetlenmiştir.

enfeksiyöz olmayan enflamatuvarlarda önemli bir artış göstermediği de bildirilmektedir. Yangının başlamasıyla birlikte PCT esasen iki alternatif mekanizma tarafından üretilir; birinci yol mikroorganizmalardan gelen lipopolisakarit (LPS) veya diğer toksik metabolitler tarafından indüklenen direkt yoldur. Diğeri IL-6, TNF- $\alpha$ , vb. gibi çeşitli inflamatuvar mediatörler tarafından indüklenen dolaylı yoldur (10,11).

Ciddi enfeksiyonlar ve sistemik cevapla birlikte insanlarda PCT seviyesi 100 ng/ml'ye kadar yükselebilmektedir. Veteriner Hekimliği alanında PCT düzeyleri köpeklerde (12-14), atlarda (15,16), koyunlarda (17), keçilerde (18) ve sığırlarda (19-21) çeşitli hastalık durumlarında araştırılmıştır. Sağlıklı ve septik buzağılar ile neonatal sepsisli buzağılarda, tedavi öncesi yüksek PCT düzeylerinin tedaviye bağlı olarak önemli oranda azaldığı ve kontrol grubu değerlerine ulaştığı tespit edilmiştir (22,23). Bununla birlikte sepsis dışında özellikle viral, bakteriyel ve paraziter kökenli buzağı ishallerinde hastalığın şiddetine bağlı olarak farklı derecelerdeki yaygın buzağı enfeksiyonlarında proinflamatuvar sitokinlerle birlikte bu parametrenin analiz edildiğine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Prokalsitonin'in analitik özellikleri hakkındaki bilgiler tartışmalıdır. Bazı çalışmalarda yenidoğanlarda sepsis tanısı için PCT'nin C reaktif protein (CRP) 'den daha güvenilir olduğu belirtilmekle birlikte; enfeksiyöz buzağı ishallerinde hastalığın şiddetine göre prokalsitonin düzeylerini araştırın çalışmalara halen ihtiyaç vardır. Bu çalışmada ülkemizde yaygın seyreden buzağı ishallerinde hastalığın şiddetini ve yangısal süreçleri takip edebilmek için serum PCT ve sitokin düzeylerinin buzağılardaki önemini araştırılması amaçlanmaktadır.

## 2. Materyal ve Metot

Bu araştırma, Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 13.01.2016 tarih ve 16/010 nolu kararına ilişkin alınan etik kurul onayı ile gerçekleştirildi.

### 2.1. Hayvan Materyali

Araştırma Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim-Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Büyük Hayvan Kliniği, buzağı ünitesine teşhis ve tedavi amacıyla getirilen 45 ishelli ve farklı bir çiftlikten alınan onay ile tamamen sağlıklı 15 adet buzağı üzerinde yürütüldü. Farklı yaşlarda (1-35 günlük) ve farklı ırklardan, toplam 45 adet [Simental (n=15), Holstein (n=15), Montofon (n=5), Jersey (n=10)] ishelli buzağı (25 erkek, 20 dişi) ve 15 adet (9 erkek, 6 dişi) 1-35 günlük sağlıklı buzağı [Simental (n=5), Holstein (n=5), Jersey (n=5)] çalışmaya dahil edildi (Grup 1). Çalışmaya dahil edilen ishelli buzağılar; vücut sıcaklığı, nabız frekansı, solunum sayısı ve genel durum değerlendirmesini içeren tam bir fiziksel muayeneye tabi tutuldu. Elde edilen klinik bulgular ve dehidrasyon derecesine göre buzağılar her grupta 15 buzağı

olacak şekilde hafif (Grup 2), akut/şiddetli (Grup 3) ve komatöz (Grup 4) olarak üç gruba ayrıldı.

Emme eğilimi, buzağının davranışı (ayakta durma yeteneği), vücut ısısı, kalp atış hızı gibi klinik belirtiler ile Asit-Baz dengesi endeksleri, dehidrasyon derecesi ve asidozun ciddiyetine göre sınıflandırma yapıldı. Bu sınıflandırma yapılırken önceki benzer çalışmalarda da kullanılan invazif olmayan beş noktalı sıralı ölçek klinik değerlendirme puanlama tablosu temel alındı (24,25).

### 2.2. Kan Örneklerinin Toplanması ve Muhafaza Edilmesi

Çalışmaya dahil edilen buzağıların juguler ven'lerinden 5 ml kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüje edildi. Serum ve plazma örnekleri 500  $\mu$ l'lik alikotlar halinde -20 $\pm$ 2.0  $^{\circ}$ C'de muhafaza edildi.

### 2.3. İshalin Etiyolojik Tanısı

Çalışmaya dahil edilen tüm buzağılardan ticari buzağı ishal kitleri kullanılarak ishale yol açan etiyolojik ajanlar testlerin pozitiflik durumuna göre belirlendi. Sağlıklılarda ise bu testler negatif olarak tespit edildi.

### 2.4. Tam Kan Sayımı Analizleri

Tüm buzağıların juguler ven'lerinden tekniğine uygun olarak vakumlu EDTA'lı kan toplama tüplerine 4 ml kan örnekleri toplandı. Alınan kan örnekleri homojenizatör ile 3 dk süreyle homojenize edildikten sonra tam kan sayım cihazı (Veterinary hematology analyzer, Boule Medical AB, Spanga, Sweden) ile analizleri yapıldı.

### 2.5. Kan Gazı Analizleri

Kan gazları analizi için lityum heparin içeren enjektörlere vena jugularis'ten 1 ml kan örnekleri alındı ve kan gazı analiz cihazı ile (Radiometer, ABL80 Flex, Brønshøj, Denmark) ölçümleri yapıldı.

### 2.6. ELISA Analizleri

Alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda PCT (Bovine PCT ELISA Kiti, SunRed, katalog no; 201-04-0183), IL-6 (Bovine IL-6 ELISA Kiti, SunRed, katalog no; 201-04-0008), ve TNF- $\alpha$  (Bovine TNF- $\alpha$  ELISA Kiti, SunRed, katalog no; 201-04-0007) düzeyleri ticari test kiti kullanılarak test prosedürüne göre analiz edildi. Sonuçlar Biotek ELx800 ELISA cihazında 450 nm'de okundu.

### 2.7. İstatistiksel Analizler

Veriler IBM-SPSS for Windows Release 25.0 Programı (SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) kullanılarak analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı histogram, Q-Q grafikleri ve Shapiro-Wilk testi kullanılarak gerçekleştirildi. Normal dağılım gösteren veriler ortalama ve standart sapma (SD) olarak gösterildi. Normal dağılıma sahip olmayan veriler ise medyan (25. ve 75. yüzdelikler) olacak

şekilde ifade edildi. Normal dağılım gösteren veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile analiz edildi. Normal dağılım göstermeyen veriler Kruskal-Wallis testi ile analize tabi tutuldu. P değerinin <0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. Bulgular

#### 3.1. Fiziksel Muayene Bulguları

Hafif şiddetli hasta grubu (Grup 2); ayakta, emme eğilimini koruyan, hafif düzeyli dehidrasyon derecesi ile hafif düzeyli asidoza sahip buzağılardan oluştu. Orta derecede ishalleri buzağılar genellikle zayıf emme eğilimi gösteren ve sternal pozisyondaki, hafif- orta derecede dehidrasyon ve asidoza sahip buzağılardı (Grup 3). Şiddetli olgular ise ishal ile birlikte emme refleksi olmayan, yan yatar pozisyondaki, hipotermi, taşikardi, bilinç kaybıyla birlikte orta ila şiddetli dehidrasyon, şiddetli asidozis olan buzağılardan oluştu (Grup 4). Komatöz ishalleri buzağıların vücut sıcaklığı (°C) değeri ( $36.67 \pm 1.81$ ) sağlıklı ( $38.58 \pm 0.31$ ) hafif ( $38.85 \pm 0.60$ ) ve şiddetli ( $38.11 \pm 1.23$ ) ishalleri buzağılardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (Sırasıyla;  $P=0.002$ ,  $P<0.001$ ,  $P=0.009$ ). Komatöz ishalleri buzağıların solunum sayısı ortalaması (28.0 (24.0-32.0)), sağlıklı buzağıların ortalamasından (44.0 (44.0-47.0)) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu ( $P=0.026$ ). Diğer gruplar arasında solunum sayısı değişkeni açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görülmedi ( $P>0.05$ ). Gruplar arasında nabız sayısı değişkeni açısından ishalleri buzağı gruplarında sağlıklılara göre sayısal yüksek ortalama değerler dışında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görülmedi ( $P>0.05$ ).

#### 3.2. Buzağı ishalleri teşhis kiti sonuçları

Çalışmaya dahil edilen ishalleri buzağıların hızlı tanı kitleri ile yapılan analiz sonucunda; %15.6'sında (7/45) sığır coronavirus (BCoV), %17.8'inde (8/45) sığır rotavirus (BRV), %33'ünde (15/45) ETEC K99+, %33.3'ünde (15/45) Cryptosporidium spp. tespit edildi.

#### 3.3. Tam Kan Sayımı Bulguları

Komatöz ishalleri buzağıların (Grup 4) ortalama WBC değeri sağlıklı, hafif ve şiddetli ishalleri buzağılardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Sırasıyla;  $P=0.012$ ,  $P=0.002$ ,  $P=0.002$ ). Diğer gruplar arasında WBC değişkeni açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görülmedi ( $P>0.05$ ). Komatöz ishalleri buzağıların ortalama monosit ve granülosit düzeyi hafif ve şiddetli ishalleri buzağılardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (Sırasıyla;  $P=0.013$ ,  $P=0.001$ ). Komatöz ishalleri buzağıların ortalama lenfosit ve monosit değerleri hafif ve şiddetli ishalleri buzağılardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (Sırasıyla;  $P=0.034$ ,  $P=0.027$ ).

Komatöz ishalleri buzağıların ortalama RBC, hematokrit ve hemoglobin değerleri hafif ishalleri buzağılardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ( $P=0.020$ ).

#### 3.4. Kan Gazları Analiz Bulguları

Ortalama pH, pCO<sub>2</sub> (mmHg), pO<sub>2</sub> (mmHg), K<sup>+</sup> (mmol/L), Cl<sup>-</sup>(mmol/L), Laktat (mmol/L), HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mmol/L), Base Excess (BE), Anyonik Gap, (mmol/L) değerleri arasında gruplar arasında istatistiksel farklılıklar belirlendi. Sağlıklı ve ishalleri buzağılarda ölçülen kan gazı parametreleri ve istatistiksel farklılıkları aşağıdaki tabloda sunuldu (Tablo 1).

**Tablo 1.** Sağlıklı ve ishallerli buzağılarda ölçülen ortalama kan gazı parametrelerinin karşılaştırılması.

	Gruplar				P değeri
	Grup 1 (Sağlıklı) (n=15)	Grup 2 (Hafif) (n=15)	Grup 3 (Şiddetli) (n=15)	Grup 4 (Komatöz) (n=15)	
<b>pH</b>	7.40 ± 0.06 A	7.37 ± 0.10 A	7.27 ± 0.13 B	7.10 ± 0.15 B	<0.001
<b>pCO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	37.10 ± 9.78 A	38.83 ± 5.69 AB	40.34 ± 11.04 AB	42.79 ± 13.68 B	0.048
<b>pO<sub>2</sub> (mmHg)</b>	49.50 ± 7.91 A	38.33 ± 5.94 AB	35.0 ± 8.78 B	33.73 ± 11.42 B	0.045
<b>Na<sup>+</sup> (mmol/L)</b>	137.40 ± 3.57	133.87 ± 7.55	132.27 ± 8.90	141.60 ± 14.60	0.063
<b>K<sup>+</sup> (mmol/L)</b>	4.73 ± 0.49 A	5.36 ± 1.14 AB	5.68 ± 1.54 B	6.10 ± 1.54 B	0.047
<b>Ca<sup>++</sup> (mmol/L)</b>	1.24 ± 0.10	1.22 ± 0.10	1.23 ± 0.11	1.31 ± 0.18	0.265
<b>Cl<sup>-</sup> (mmol/L)</b>	96.70 ± 4.37 A	94.27 ± 8.28 AB	88.73 ± 6.03 B	70.67 ± 10.82 B	0.020
<b>Lactat (mmol/L)</b>	2.45 ± 3.13	3.02 ± 2.69	3.82 ± 2.68	3.08 ± 2.46	0.714
<b>HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mmol/L)</b>	26.02 ± 1.82 A	25.51 ± 5.34 AB	22.14 ± 6.95 BC	15.10 ± 5.23 C	<0.001
<b>Base Excess (BE)</b>	3.23 ± 1.74 A	-0.50 ± 6.37 A	-4.01 ± 7.79 B	-15.39 ± 8.33 B	<0.001
<b>Anyonik Gap (mmol/L)</b>	13.14 ± 2.92 A	16.21 ± 9.84 AB	21.38 ± 4.98 BC	28.83 ± 5.69 D	<0.001

### 3.5. Prokalsitonin, Interlökin-6 (IL-6) ve Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) ELISA Bulguları

Gerçekleştirilen ELISA analizleri sonucunda PCT, IL-6 ve TNF- $\alpha$  ortalama konsantrasyonları Tablo 2’de gösterildi. Ayrıca her bir parametredeki değışimler grafiklerle ifade edildi (Şekil 1, 2 ve 3).

Hafif ishallerli buzağıların (Grup 2) ortalama PCT konsantrasyonu sağlıklı buzağılardan (Grup 1) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P=0.011). Şiddetli ishallerli buzağıların (Grup 3) ortalama PCT konsantrasyonu sağlıklı buzağılardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P=0.004). Komatöz ishallerli buzağıların (Grup 4) ortalama PCT konsantrasyonu sağlıklı buzağılardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu

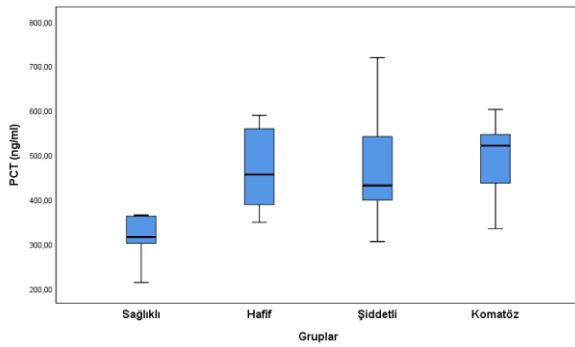
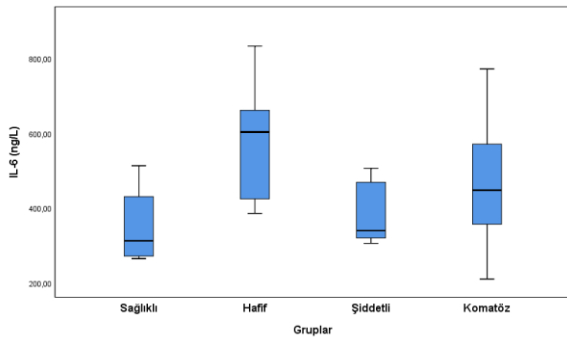
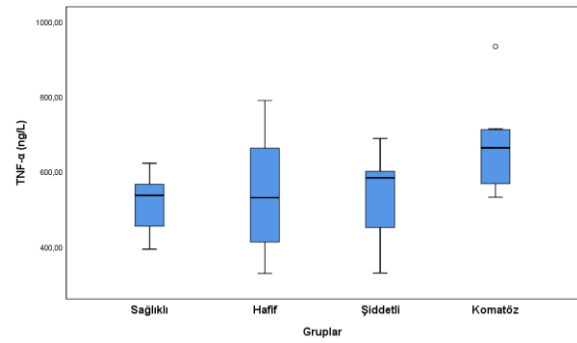
(P=0.007) (Tablo 2). Diğer gruplar arasında PCT değışkeni açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görölmedi (P>0.05).

Grup 2’de ortalama IL-6 (ng/L) konsantrasyonu Grup 1 ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P=0.038). Diğer gruplar arasında IL-6 (ng/L) değışkeni açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görölmedi (P>0.05).

Grup 4’deki ortalama TNF- $\alpha$  (ng/L) konsantrasyonu Grup 1 ortalamasından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P=0.014). Diğer gruplar arasında TNF- $\alpha$  (ng/L) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir fark görölmedi (P>0.05).

**Tablo 2.** Sağlıklı ve ishalleri buzağıllarda olcúlen ortalama PCT, IL-6 ve TNF- $\alpha$  konsantrasyonlarının karşılaştırılması.

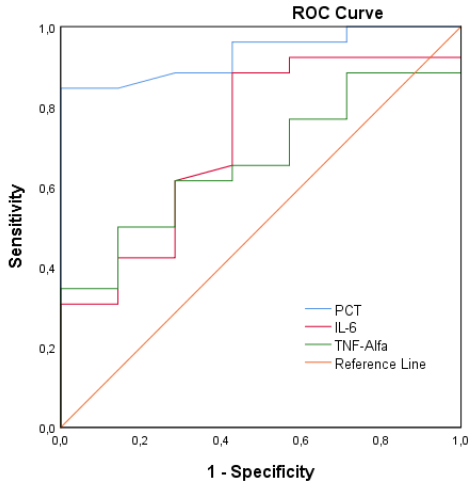
	Gruplar				P Değeri
	Grup 1 (Sağlıklı) (n=15)	Grup 2 (Hafif) (n=15)	Grup 3 (şiddetli) (n=15)	Grup 4 (Komatöz) (n=15)	
<b>PCT (ng/ml)</b>	315.70 $\pm$ 83.90 A	456.54 $\pm$ 115.35 B	473.19 $\pm$ 120.50 B	459.51 $\pm$ 99.14 B	0.002**
<b>IL-6 (ng/L)</b>	385.52 $\pm$ 125.89 A	575.73 $\pm$ 167.44 B	426.62 $\pm$ 175.88 AB	435.65 $\pm$ 165.63 AB	0.049*
<b>TNF-<math>\alpha</math> (ng/L)</b>	489.45 $\pm$ 91.22 A	541.96 $\pm$ 169.23 AB	546.34 $\pm$ 116.21 AB	662.34 $\pm$ 137.33 B	0.018*

**şekil 1.** Sağlıklı ve ishalleri buzağıllarda olcúlen PCT (ng/mL) düzeylerinin grafik ile gösterimi**şekil 2.** Sağlıklı ve ishalleri buzağıllarda olcúlen IL-6 (ng/L) düzeylerinin grafik ile gösterimi.**şekil 3.** Sağlıklı ve ishalleri buzağıllarda olcúlen TNF- $\alpha$  (ng/L) düzeylerinin grafik ile gösterimi.

Prokalsitonin için kesim noktası  $>363.94$  alındığında duyarlılık; %84.6, özgüllük; %14.3, LR; 5.92, AUC; 0.931 olarak hesaplandı. Prokalsitonin, IL-6 ve TNF- $\alpha$  değişkenlerine ait ROC analizi sonuçları Tablo 3'de ve şekil 4'de ifade edildi.

**Tablo 3.** ROC analizi sonucunda PCT, IL-6 ve TNF- $\alpha$  için duyarlılık, özgülük, LR ve AUC değerleri.

Değişkenler	Kriter	Duyarlılık	Özgüllük	LR	AUC
PCT (ng/ml)	>363.94	%84.6	%14.3	5.92	0.931
IL-6 (ng/l)	>477.41	%42.3	%14.3	3.0	0.717
TNF- $\alpha$ (ng/l)	>587.60	%50.0	%14.3	3.5	0.665

**Şekil 4.** PCT, IL-6 ve TNF-alfa değişkenlerine ait ROC analizi sonuçları.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Neonatal buzağı ishali bütün dünyada sığır yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından biridir (26,27). İshalli buzağıların genel durum kategorileri ile prognoz arasında yakın bir ilişki vardır (25,27,28). Mevcut çalışmada, ishalleri buzağıların hastalık tablosunu yansıtan genel klinik görünümünün, vital, hematolojik ve kan gazı analiz bulgularının önceki çalışmalarda ishalleri buzağı için bildirilen sonuçlarla uyumlu olduğu gözlenmiştir. Hasta gruplarında hastalığın şiddeti ile uyumlu biçimde çeşitli derecelerde dehidrasyon, metabolik asidozis ve yüksek anyonik gap değerlerinin ishalleri buzağılardaki değerleri yansıttığı belirlenmiştir (Tablo1). Ayrıca ilgili sonuçların hastalığın şiddeti arttıkça daha önemli olduğu ve sağlıklı grup ile hafif ishalleri gruptan önemli oranda sapmalar gösterdiği de tespit edilmiştir (29).

İnterlökin IL-1 $\beta$ , IL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin birçok patofizyolojik durumda artabileceği gösterilmiştir (30). Bu tez çalışmasında da analiz edilen IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinde hasta gruplarında sağlıklılara göre önemli oranda artışlar belirlendi. Ayrıca hastalığın şiddeti ile orantılı biçimde yapılan değerlendirmede özellikle IL-6 düzeylerinin orta ve komatöz enfeksiyon durumlarında sağlıklı ve hafif enfekte gruba göre sayısal olarak yüksek olduğu, fakat bu farklılığın istatistiksel olmadığı görülmüştür. Ortalama IL-6

düzeylerinin daha çok enfeksiyonun başlangıç dönemlerinde artış göstermesi nedeniyle, çalışma olgularının hastalığın ileri safhalarında olduğu değerlendirildi. Bu çalışmada elde edilen değerlerin Akgül ve ark. (18), tarafında yapılan çalışma ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte yukarıdaki çalışmada özellikle ortalama IL-6 düzeylerinin çalışmamızdan elde edilen ortalama değerden daha yüksek olduğu gözlenmiştir, bu durumun Akgül ve ark.'nın (18), çalışmasında hasta grubunun tamamının daha ağır hastalık tablosu sergileyen septisemili buzağılardan oluşması ile ilişkilendirilmiştir. Kontrol gruplarındaki ortalama değerlerin ise her iki çalışmada birbiri ile benzer olduğu belirlenmiştir.

Mevcut çalışmada hayatta kalma oranları ortaya konulmamış olsa da ishalleri buzağılarda kontrollere göre yüksek değerlerin elde edilmesi IL-6 düzeylerinin diyagnostik ve prognostik önemini ortaya koydu. Ayrıca buzağı ishallerinde hastalık ilerlemesinin tahmini için yararlı bir tamamlayıcı parametre olduğu bildirimleriyle de uyumluydu (22). Ayrıca ROC analizlerine göre ortalama PCT duyarlılığının IL-6 ve TNF- $\alpha$  için elde edilen değerlerden daha yüksek olması nedeniyle pozitif hastaların belirlenmesinde daha etkili bir parametre olduğu görüldü.

Prokalsitonin gibi AFP araştırmalarında ilişkili sitokin düzeyleri mutlaka analiz edilmelidir. Çünkü yangısal süreçte PCT salınımı hücrel immün yanıtta indirekt olarak; IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinler aracılığı uyarılmaktadır (11).

Sistemik yangısal enfeksiyonu olan buzağılarda PCT düzeylerinin sağlıklılara göre artışı beklenen bir sonuçtur. Bununla birlikte önceki çalışmalarda gerek sağlıklı kontrollerin gerekse ishalleri ve septisemik buzağılardaki sonuçlar ile farklılıklar gösterdiği izlenmiştir. Araştırmacılar arasındaki farklılıklar kullanılan analiz yönteminden kaynaklı olabilir. Yöntemlerin ölçüm aralığı, fonksiyonel duyarlılığı, tespit limitleri kullanılan tekniğe ve tahlile bağlı olarak değişir. Prokalsitoninin ölçüm aralığı, fonksiyonel hassasiyet ve tespit limiti sırasıyla; 0.02-500 ng/ml, 0.05-0.24 ng/ml, 0.019-0,05 ng/ml arasında değişmektedir (31).

Bu çalışmada elde edilen gerek sağlıklı (400 ng/ml) gerekse hasta grubu buzağılardan elde edilen sonuçların önceki

çalışmalardan farklı düzeyde olduğu gözlenmiştir. ELISA sonuçlarını, ELISA kitinde kullanılan antikorların bu tip analizler için hayati önemi olan validasyon ve eşik değeri gibi parametreleri etkileyecektir. Sonuçlar, daha önce atlarda, köpeklerde ve insanlarda bildirildiği gibi buzağılarda septik SIRS sırasında plazma PCT'nin arttığını doğrulayan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur (32-34). Ayrıca, hem sağlıklı buzağılarda hem de septik SIRS'li buzağılarda ortalama plazma PCT konsantrasyonları, atlarda bildirilenlere benzerdi (34), fakat köpeklerden daha yüksek bulundu (14). Ancak bu farklılıklar kullanılan ticari analiz kitlerindeki farklılıklara dayandırılmaktadır. Kontrol grubunda elde edilen sonuçlar, sağlıklı buzağılar için bildirilenlere göre daha yüksekti. Ercan ve ark. (35), septisemik kolibasiloz tanısı konan yenidoğan buzağılarda PCT serum konsantrasyonlarının kolibasillozlu septisemik buzağılarda sağlıklı buzağılara göre dört kat daha yüksekti. Bu çalışma kullanılan farklı bir ELISA kitini kullandığımız çalışmada hasta ve sağlıklılar arasında yaklaşık 2 katı bir farklılık tespit edildi. Araştırmamızı diğer araştırmalardan farklı kılan diğer bir durum da septik/SIRS'li buzağıların kullanılmamasıdır. Bu nedenle akut ishalleri fakat sepsis belirtisi olmayan buzağılarda daha düşük değeri belirlenmesi olasıdır. Kontrol grubuna göre hafif, komatöz ve şiddetli grupta farklılıklar olsa da, hastalığın şiddeti açısından gruplar arasında farklılık görölmedi. Plazma PCT konsantrasyonlarının hayatta kalmayan sepsisli buzağılarda daha yüksek olduğu bilinmektedir. Bu sonuç, insanlarda sepsis, şiddetli sepsis ve septik çok için rapor edildiği gibi, septik SIRS'li buzağılarda olumsuz sonucu tahmin etmede plazma PCT'nin olası bir rolü olduğunu düşündürmektedir (36). Septik buzağıları septik olmayan buzağılardan ayırt etmek için plazma PCT (67.39 pg/mL) için sınır değeri elde edilmiştir. Fakat bu değeri çalışmalar arasında; farklı buzağıların kullanımı, farklı analiz ve yöntemlerinin kullanılması nedeniyle farklıdır. Serum PCT düzeylerinin, IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin rakamsal artışlarına rağmen hastalığın şiddeti ile istatistiksel açıdan uyumlu olmadığı fakat hastalarda daha yüksek seyrettiği bu çalışma ile de belirlenmiştir. Bu sonuçlar klinik muayene ile birlikte PCT ve sitokinlerin ölçümünün, Mannheimia haemolytica ve Histophilus somni ile doğal olarak enfekte olmuş besi danalarının değerlendirilmesi için yararlı bir teşhis ve prognostik araç olabileceğini belirten araştırma ile uyumludur (20).

Buzağılarda PCT araştırmaları daha çok sepsis olgularında araştırılmıştır. Bu araştırmada buzağılarda sepsisi tanımlayan ortak konsensusun halen sağlanamaması ve sepsisi kanıtlayacak altın standart uygulama olan kan bakteri-virüs düzeylerinin analizinin yapılamaması nedeniyle sepsis olguları kriterleri dikkate alınmamıştır. Bu nedenle araştırmamızdaki önceki bazı çalışmalardan farklı sonuçların elde edilmesi doğaldır. Farklı sonuçlara rağmen, sunulan araştırma tedaviyle birlikte sepsisli buzağılarda prokalsitonin

konsantrasyonunun azaldığı ve prokalsitonin sepsisli buzağılarda prognostik ve diagnostik olabileceğini belirten araştırma (23) ile bu yönüyle uyumlu bulunmuştur.

Bununla birlikte sunulan çalışmayı kısıtlayan ve önceki çalışmalarda da (2,37) belirtilen; kan kültürü pozitif buzağıların belirlenmemesi, sepsiste net kriterleri belirleyen bir konsensusun olmaması nedeniyle sepsis tablosu olan buzağıların dahil edilememesi, hayatta kalan ve yaşayanlar arasında PCT analizlerinin yapılamaması, ayrıca önceki olası antibiyotik tedavisi, opsonize antikorların varlığı, dolaşımdaki bakteri sayısındaki farklılıklar, nispeten düşük örnek hacmi ve farklı hastalık evresi olası faktörlerdir. Bu faktörlerin mevcut sonuçları etkileme ihtimali söz konusu olabilir.

Sonuçta; buzağılarda serum veya plazma PCT analizlerinden elde edilen değeri üretici firmaların ELISA kitlerinin farklılığına bağlı olarak değerşebileceği, PCT'nin ishalleri hasta buzağıları sağlıklılardan ayırt etmede IL-6 ile birlikte değerlendirilmesi gereken etkili bir biyobelirteç olduğu, Serum PCT düzeyinin doğal ishalleri buzağılardaki hastalığın şiddeti ile doğru orantılı olmadığı, insan tıbbında önerildiği gibi, plazma PCT'nin antibakteriyel tedavi süresini azaltmadaki rolünü araştırmak için daha fazla araştırma yapılmasının gerektiği değerlendirilmiştir.

## Kaynaklar

1. Kim YB: Developmental immunity in the piglet. Birth Defects Orig Artic Seri, 1975; 11: 549-557.
2. Fecteau G, Smith BP, George LW. Septicemia and meningitis in the newborn calf. Vet Clin North Am food Anim Pract. 2009; 25(1): 195-208.
3. Pas ML, Bokma J, Lowie T, Boyen f, Pardon B. Sepsis and survival in critically ill calves: Risk factors and antimicrobial use. J Vet Intern Med. 2023; 37(1): 374-89.
4. Robison JD, Stott GH, De Nise SK. Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. J Dairy Sci, 1988; 71: 1283-1287.
5. Mee JF Newborn dairy calf management. Vet Clin North Am Food Anim Pract, 2008; 24: 1-17.
6. Uetake K. Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. Anim Sci J, 2013; 84(2): 101-105.
7. Altınsoy AM, Altınok V. Neonatal buzağı septisemileri için potansiyel bir biyobelirteç adayı: Presepsin: Geleneksel derleme. Türkiye Klinikleri J Vet Sci. 2024; 15(1): 23-29
8. Guzelbektas H, Sen I, Aydogdu u, Er C, Coşkun A. Investigation of cytokine levels in calves with sepsis. J Hellenic Vet Med Soc. 2022; 73(2): 4113-4118.
9. Assicot M, Gendrel D, Carsin H, Raymond J, Guilbaud J, Bohuon C: High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. Lancet, 1993; 341 (8844): 515-518.
10. Müller B, White JC, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF. Ubiquitous expression of the calcitonin-1 gene in multiple tissues in response to sepsis. J Clin Endocrinol Metab, 2001; 86: 396-404
11. Matur ve ark. (2017). Matur E, Eraslan E, Çöteliöğü Ü. (2017). Biology of Procalcitonin and its Potential Role in Veterinary Medicine. J. Istanbul vet sci. 1(1): 16-27

12. Kuzi S, Aroch I, Peleg K, Karnieli O, Klement E, Dank G. Canine procalcitonin messenger RNA expression. *J Vet Diagn Investig*, 2008; 24(5): 629-633.
13. Brkljac ic M, Torti M, Pleadin J, Mrljak V, Smit I, Kis I, Mayer I, Crnogaj M, Matijatko V. The concentrations of inflammatory markers the aminoterminal portion of C-type pronatriuretic peptide and procalcitonin in canine babesiosis caused by *Babesia canis*. *Vet Arh*, 2014; 44(6): 575-589
14. Easley F, Holowaychuk MK, Lashmits EW, Nordone SK, Marr H, Birkenheuer AJ. Serum procalcitonin concentrations in dogs with induced endotoxemia. *J Vet Intern Med*, 2020; 34(2): 653-658.
15. Rieger M, Kochleus C, Teschner D, Rascher D, Barton AK, Geerlof A, Kremmer E, Schmid M, Hartmann A, Gehlen H. A new ELISA for the quantification of equine procalcitonin in plasma as potential inflammation biomarker in horses. *Anal Bioanal Chem*, 2014; 406(22): 5507-5512
16. Teschner D, Rieger M, Koopmann C, Gehlen H. Procalcitonin in horses with an acute colic. *Pferdeheilkunde*, 2015; 31(4): 371-377.
17. Arslan S, Altuğ N, Muz MN, Yüksek N, Başbuğan Y, Orunç Kılıç Ö. Diagnostic and prognostic value of procalcitonin (PCT), C reactive protein (CRP), nitric oxide (NO) levels, and adenosine deaminase (ADA) activity in sheep with natural babesiosis before and after treatment. *Turkish J Vet Anim Sci*, 2018; 42(6): 512- 520.
18. Akgül G, Akgul MB, Ozen D, S Kahya D. Comparison of Serum Procalcitonin, Haptoglobin and C-Reactive Protein Level in Goat with *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Indian J Anim Res*, 2018; 52(12): 1778-1781.
19. Başbuğ O, Yurdakul İ, Yuksel M. Evaluation of Serum Amyloid A and Procalcitonin in Some Inflammatory Diseases of Cattle. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2020; 26(3): 397-402
20. El-Deeb W, Elsohaby I, Fayez M, Mkrtychyan HV, El-Etriby D, ElGioushy M. Use of procalcitonin, neopterin, haptoglobin, serum amyloid A and proinflammatory cytokines in diagnosis and prognosis of bovine respiratory disease in feedlot calves under field conditions. *Acta Trop*, 2020; 204: 105336.
21. El-Deeb W, Fayez M, Alhumam N, Elsohaby I, Quadri SA, Mkrtychyan H. The effect of staphylococcal mastitis including resistant strains on serum procalcitonin, neopterin, acute phase response and stress biomarkers in Holstein dairy cows. *Peer J*, 2021; 9: e11511.
22. Bonelli F, Meucci V, Divers TJ, Boccardo A, Pravettoni D, Meylan M, Belloli AG, Sgorbini M. Plasma procalcitonin concentration in healthy calves and those with septic systemic inflammatory response syndrome. *Vet J*, 2018; 234: 61-65.
23. Akyüz E, Gökce G. Neopterin, procalcitonin, clinical biochemistry, and hematology in calves with neonatal sepsis. *Trop Anim Health Prod*, 2021; 53: 354.
24. Sayers RG, Kennedy A, Krump L, Sayers GP, Kennedy E: An observational study using blood gas analysis to assess neonatal calf diarrhoea and subsequent recovery with a European Commission-compliant oral electrolyte solution. *J Dairy Sci*, 2016; 99 (6): 4647-4655.
25. Keleş İ, Ekinci G, Tüfekçi E, Çitil M, Güneş V, Aslan Ö, Onmaz AC, Karaca Bekdik İ, Varol K, Deniz: Etiological and predisposing factors in calves with neonatal diarrhea: A clinical study in 270 case series. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 2022; 28 (3): 315-326
26. Berber E, Çanakoglu N, Sözdutalmaz İ, Simsek E, Sursal N, Ekinci G, Kökkaya S, Arıkan E, Ambarcıoğlu P, Göksu AG, Keleş İ. Seasonal and Age-Associated Pathogen Distribution in Newborn Calves with Diarrhea Admitted to ICU. *Vet. Sci.* 2021; 8: 128.
27. Ekinci G, Tüfekçi E, Cissé Y, Bekdik İK, Onmaz AC, Aslan Ö, Güneş V, Çitil M, Keleş İ. Chloride and lactate as prognostic indicators of calf diarrhea from eighty-nine cases. *J Vet Sci.* 2024; 25(3): e38.
28. Ekinci G, Tüfekçi E, Onmaz AC, Çitil M, Keleş İ, Güneş V. Erciyes Üniversitesi Hayvan Hastanesi'ne 2019-2021 yılları arasında getirilen neonatal ishalleri buzağılarda majör enteropatojenlerin yaygınlığının araştırılması. *Erciyes Univ Vet Fak Derg*, 2022; 19(2): 113-122.
29. Özkan C, Akgül Y. Neonatal İshalleri Buzağılarda Hematolojik, Biyokimyasal ve Elektrokardiyografik Bulgular. *YYU Vet Fak Derg*, 2004; 15 (1-2): 123-129
30. Kasimanickam RK, Kasimanickam VR, Olsen JR, Jeffress EJ, Moore DA, Kastelic JP. Associations among serum pro-and anti-inflammatory cytokines, metabolic mediators, body condition, and uterine disease in postpartum dairy cows. *Reprod Biol Endocrinol*, 2013; 11(1): 1-3.
31. Davies J. Procalcitonin. *J Clin Pathol.* 2015; 68(9): 675-9.
32. Yılmaz Z, Ilcol YO, Ulus IH. Endotoxin increases plasma leptin and ghrelin levels in dogs. *Crit Care Med*, 2008; 36(3): 828-833.
33. Rieger M, Kochleus C, Teschner D, Rascher D, Barton AK, Geerlof A, Kremmer E, Schmid M, Hartmann A, Gehlen H. A new ELISA for the quantification of equine procalcitonin in plasma as potential inflammation biomarker in horses. *Anal Bioanal Chem*, 2014; 406(22): 5507-5512.
34. Bonelli F, Meucci V, Divers T, Radcli E R, Jose-Cumilleras E, Corazza M, Guidi G, Tognetti R, Castagnetti C, Intorre L, Sgorbini M. Evaluation of plasma procalcitonin concentrations in healthy foals and foals affected by septic systemic inflammatory response syndrome. *J Equine Vet Sci.* 2015a; 35: 645-649.,
35. Ercan N, Tuzcu N, Başbuğ O, Tuzcu M, Alim A. Diagnostic value of serum procalcitonin, neopterin, and gamma interferon in neonatal calves with septicemic colibacillosis. *J Vet Diagn Invest*, 2016; 28(2): 180-183.
36. Huang MY, Chen CY, Chien JH, Wu KH, Chang YJ, Wu KH, Wu HP. Serum Procalcitonin and Procalcitonin Clearance as a Prognostic Biomarker in Patients with Severe Sepsis and Septic Shock. *Biomed Res Int*, 2016; 2016: 1758501.
37. Wilson WD, Madigan JE. Comparison of bacteriologic culture of blood and necropsy specimens for determining the cause of foal septicemia: 47 cases (1978-1987). *J Am Vet Med Assoc*, 1989; 195: 1759-1763.