



Botulismuslu İneklerde Serum Total Sialik Asit Konsantrasyonunun ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

İsmail AYTEKİN^{1a}✉

1. Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir, TÜRKİYE.
ORCID: 0000-0001-6794-5453^a

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
02.03.2020	07.06.2020	27.10.2020

Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:
Aytekin İ: Botulismuslu İneklerde Serum Total Sialik Asit Konsantrasyonunun ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 15(2): 151-155, 2020. DOI: 10.17094/ataunivbd.697470

Öz: Bu araştırmada botulismuslu sığırlarda serum total sialik asit, total protein, albumin, globülin, AST, LDH, ALP, BUN, Ca, P ve Mg düzeyleri araştırıldı. Çalışmanın materyalini dilde ve çenede tonus kaybı, çiğneme güçlüğü, yutma güçlüğü, pupillar ve anal refleksde azalma, sallantılı yürüyüş, topallık, başını yere koyma, ön ve arka bacaklarda paraliz, başını göğüs üzerine dayama belirtileri gösteren botulismus teşhisi konulmuş üç ile yedi yaşları arasında 8 Holstein inek ve 6 kontrol sığır oluşturdu. Hasta ve kontrol grubu ineklerde serum total sialik asit, total protein, albumin, globülin, AST, ALP, LDH, BUN, Ca, P, Mg düzeyleri otoanalizör ve nefelometre ile belirlendi. Hayvanların yedikleri silaj ve kan serumlarında yapılan fare inokulasyon testi sonucu *Clostridium botulinum* tip D ve C toksini belirlendi. Botulismuslu hayvanlarda ALP, LDH, total protein, albümin, globülin, BUN, Ca, P ve Mg düzeyleri kontrol grubuyla istatistiksel olarak benzer çıkarken, botulismuslu ineklerde total sialik asit ve AST seviyelerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttığı tespit edildi. Sonuç olarak, botulismuslu hayvanlarda total sialik asit ve AST enzim düzeylerinin araştırılması botulismusun laboratuvar bulgularına yararlı olabileceği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: Botulismus, Serum biyokimyası, Sığır, Total sialik asit.

Evaluation of Serum Total Sialic Acid Levels and Some Biochemical Parameters in Cows with Botulism

Abstract: In this study were investigated serum TSA, total protein, albumin, globulin, BUN, AST, ALP, LDH, Ca, P, Mg in cattle with botulism. This study material consisted of 6 cattle control and 8 Holstein cow at aged between 3 and 7, diagnosed with botulismus symptoms loss of tonus in the tongue and chin, difficulty swallow and chew, shake walking, lameness, reduction in pupils and anal reflex, paralysis in the front and back legs, rest on the chest, lay head down. In this study serum concentration was measured using a nefelometer and autoanalyzer, TSA, total protein, albümin, globülin, BUN, AST, ALP, LDH, Ca, P, Mg in healthy cattle and cattle with botulism. Mouse inoculation test maked in silage and the blood serum of the animals with botilismus, *Clostridium botulinum* type D and type C toxin were determined. Serum ALP, LDH, albumin, globülin, total protein, Ca, P, Mg did not differ statistically significant between two groups that total sialic acid and AST concentration increased statistic in botulism cows compared with healthy cows. Consequently, total sialic acid and enzyme researched may prove beneficial laboratory findings in animals with botulism.

Keywords: Botulism, Cattle, Serum biochemistry, Total sialic acid.

✉ İsmail Aytekin

Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir, TÜRKİYE.
e-posta: aytekin0331@gmail.com

GİRİŞ

Botulismus, nörotoksin üreten *Clostridium botulinium* tarafından oluşturulan bir hastalıktır (1-5). Botulismus toksini içeren gıdalar, kadavralar tarafından kontamine edilen yemler ve içme suyunun alınması, silajda botulismus toksinlerinin oluşması, ölen tavuklarda toksinlerin üremesi ve bunların yenilmesi, depolama ve silaj tekniklerine dikkat edilmemesi, botulismus toksinlerinin oluşmasına neden olabilir (3-8). Ruminantlarda özellikle Tip C ve D toksinlerinin yenilmesiyle botulismus oluşmaktadır (6,9-11).

Sialik asit, pirüvattan ve mannozaminden meydana gelen amino şeker yapısında olup mukoproteinler, glikoproteinler ve polisakkaridlerin yapısında, hayvan dokularında ve bakterilerde çok miktarda bulunur (12). Sialik asit membranlarda reseptör görevi ve hücrel uyarının ayarlanmasında rol oynar, patojen ve konak ilişkilerinde birbirini tanımada önemli görevleri vardır (13). Sialik asit akut faz proteinlerin çoğunun terminal ucunda olması nedeniyle akut faz reaksiyonunun önemli bir belirtisidir (14). Kanseler, metabolizma hastalıkları, bakteriyel, viral ve paraziter hastalıklarda total sialik asit seviyeleri önemli oranda artar (14-16).

Bu çalışmada botulismuslu ineklerde serum total sialik asit, AST, ALP, LDH, total protein, albümin, globülin, BUN, Ca, P ve Mg seviyeleri araştırıldı.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışmanın materyalini Balıkesir'in Edremit ilçesinde 200 başlık bir işletmede çıkan 40 adet botulismus belirtilerini gösteren ve yaklaşık 5-10 gün içerisinde tamamı ölmüş, klinik ve mikrobiyolojik olarak botulismus teşhisi konulan 8 hasta ve 6 sağlıklı olmak üzere, toplam 14 adet üç ile yedi yaş aralığında Holstein ırkı inekler oluşturdu. Botulismuslu ve sağlıklı gruplara gebe olmayan inekler alındı. Çalışmaya katılan bütün ineklerin kan örneği alınmadan önce klinik muayeneleri yapıldı. Daha

sonra kanları alınarak, 10 dakika 5000 devirde santrifüj edildikten sonra serumları çıkartılarak -80 °C muhafaza edildi.

Serum AST, ALP, LDH, total protein, albumin, globülin, BUN, ticari kitlerle Cobas 8000 (Roche, Almanya) otoanalizör ile Ca, P ve Mg düzeyleri Nefelometre BNII de (Siemens, Almanya) belirlendi.

Serum total sialik asit analizleri Sydow (17) metoduna göre 0.2 mL serum üzerine 1.5 mL perklorik asit eklenerek 100 °C'de 5 dk kaynatıldıktan sonra soğutulur ve 2500 devirde dört dakika santrifüj edilir. Süpernatant kısımdan 1 mL başka tüplere konularak üzerine 0.2 mL erlich ayırıcı katılır ve 100 °C'de 15 dk kaynatılır. Soğutulan tüpler üzerine 1 mL distile su katılarak 525 nm'de optik dansiteleri spektrofotometrik (Shimadzu, UV-1601) ölçümü yapıldı.

Toksin izolasyonu için kan, kan serumu, silaj ve yem numuneleri Edremit İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'nün 55214B49/34 sayılı yazısı ile Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'ne gönderildi.

Fare inokulasyon testinde şüpheli yem, ölen hayvanlardan alınan kan, kan serumu, bağırsak ve rumen içeriği, intraperitoneal enjekte edilir. Botulismus hastalığının klinik bulgularının 1-4 gün içinde olması testin pozitif olduğunu gösterir. Alınan örneklerin inoküle edildiği hayvanlardan spesifik antitoksinin verildiği hayvanın yaşamaya devam etmesine rağmen diğer hayvanlarda klinik bulguların devam etmesi tanıyı doğrular ve toxin tipinin belirlenmesine yardımcı olur.

Araştırma ÇOMÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2019/09-01 sayılı etik kurulunun onayı ile yapıldı.

İstatistiksel Analiz

İstatistik analizler Windows SPSS 20 programı kullanılarak, t testi ile yapıldı. P<0.05 istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

BULGULAR

Klinik Bulgular

Botulismuslu ineklerde iştahsızlık, rumen hareketlerinde azalma, dilde ve çenede tonus kaybı, çiğneme güçlüğü, dil ve yutak kaslarının felci, yutma güçlüğü, dilin dışarı çıkması, kuyruk tonusunda azalma, pupillar ve anal refleksde azalma, başın öne eğik tutulması, sallantılı yürüyüş, topallık, ön ve arka bacaklarda paraliz, başını yere koyma, başını göğüs üzerine dayama, paralize bağlı yatalaklık ve ölüm gözlemlendi (Tablo 1). Botulismus olan altı inek bir gün içerisinde ölümlerine diğer iki inek ikinci gün ölmüştür. Ölen hayvanlara tedavi yapılmadı.

Biyokimyasal Bulgular

Botulismuslu ineklerde serum ALP, LDH, total protein, albümin, globülin, Ca, P, Mg ve BUN değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark belirlenmezken, total sialik

Tablo 1. Botulismuslu ineklerde klinik bulgular.

Table 1. Clinical findings in cows with botulism.

Klinik Bulgular	Hafif (n)	Orta (n)	Şiddetli (n)
İştahsızlık	1	1	6
Çene tonusu	1	2	5
Yutkunma	1	1	6
Dil gücü	1	3	4
Anal refleks	1	3	4
Kuyruk tonusu	1	2	5
Pupillar ışık refleksi	2	3	3
Rumen motilitesi	1	2	5

asit (TSA) ve AST değerlerinin sağlıklı ineklere göre arttığı tespit edildi (Tablo 2).

Fare İnokulasyon Testi

Hayvanların yedikleri silaj ve kan serumlarında yapılan fare inokulasyon testi sonucunda *Clostridium botulinum* tip D ve C toksini belirlendi.

Tablo 2. Botulismuslu ve sağlıklı ineklerde total sialik asit ile biyokimyasal parametreler.

Table 2. Total sialic acid and biochemical parameters in cows with Botulism and healthy cows.

Parametreler	Sağlıklı İnekler (n=6)	Botulismuslu İnekler (n=8)	P Değeri
TSA (mg/dl)	51.36±2.44	72.76±2.70	P<0.001
ALP (U/L)	61.90±3.62	60.88± 3.84	P>0.05
AST (U/L)	68.21±2.63	79.62± 3.07	P<0.01
LDH (U/L)	1154.53±17.81	1208.95± 16.91	P>0.05
Total Protein (g/dl)	7.38±0.30	7.62±0.28	P>0.05
Albumin (g/dl)	3.13±0.20	3.00± 0.19	P>0.05
Globulin (g/dl)	3.81±0.19	3.82±0.18	P>0.05
BUN (mg/dl)	23.43± 1.51	24.93±1.37	P>0.05
Ca (mg/dl)	10.65± 0.56	10.23±0.38	P>0.05
P (mg/dl)	5.96±0.37	5.80±0.37	P>0.05
Mg (mg/dl)	1.95±0.17	1.98±0.13	P>0.05

TSA: total sialik asit, ALP: alkalen fosfat, AST: aspartat aminotransferaz, LDH: laktat dehidrogenaz, BUN: kan üre nitrojen, Ca: kalsiyum, P: fosfor, Mg: magnezyum.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Botulismus sığırlarda, Türkiye, Avrupa ve Dünya'da sporadik olarak görülen bir hastalıktır (18, 19). Brezilya, Türkiye, İsrail ve Afrikada hayvanların bozulmuş silaj, tavuk gübresi, ölmüş tavuk kadavrasıyla enfekte olmuş meralar ve yemleri alması sonucu Tip C ya da D toksininin neden olduğu

botulismus hastalığının görüldüğünü bildirmişlerdir (20). Botulismus sığırlarda seyrek olarak Tip B, özellikle Tip D ve C toksinlerinin yenilmesiyle oluşur (21). Bu çalışmada ölçülen silajın Ph'sı altı çıkmış, nasıl geldiği bilinmeyen ölmüş tavuk parçalarının silaj, saman balyası ve yemle karıştırılıp hayvanlara verilmesi sonucu sığırlarda botulismus hastalığı

görülmüştür. Hayvanlara yedirilen silajda *C. botulinum* tip D ve C toksini tespit edilmiştir.

Botulismus hastalığı olan ineklerde iştahsızlık, çiğneme güçlüğü, topallık, dil ve yutak kaslarının felci, yutma güçlüğü, kulakta sarkma, göz kapaklarında düşme, kuyruk tonusunda azalma, başın ön tarafa eğik tutulması, sallantılı yürüyüş, başını göğüs üzerine dayama, genel felce bağlı yatalaklık, ataksi ve ölüm görülür (21-28). Bu çalışmada botulismuslu ineklerde iştahsızlık, rumen hareketlerinde azalma, sallantılı yürüyüş, topallık, dilde ve çenede tonus kaybı, çiğneme güçlüğü, dil ve yutak kaslarının felci, yutma güçlüğü, dilin dışarı çıkması, kuyruk tonusunda azalma, başın öne eğik tutulması, pupillar ve anal refleksde azalma, ön ve arka bacaklarda paraliz, başını yere koyma, başını göğüs üzerine dayama, yatalaklık ve ölüm görüldü. Botulismus olan altı inek bir gün içerisinde ölürken diğer iki inek ikinci gün ölmüştür.

Botulismuslu sığırların kan serumlarında yapılan bir çalışmada GGT, ALP ve ALT normal sınırlarda çıkarken AST'nin arttığını (25), AST normal sınırlarda çıkarken ALT'nin azaldığı bildirilmiştir (23). Botulismuslu ineklerde yapılan bir çalışmada AST seviyesinin yükseldiği (27,28) bildirilmiştir. Yapılan araştırmalarda botulismuslu hayvanlarda albumin, total protein, üre, BUN değerlerinin normal düzeyde olduğunu (23,25-28), Ca, P ve Mg değerlerinin normal sınırlarda çıktığını bildirmişlerdir (23,25,26). Bu çalışmada botulismuslu ve sağlıklı ineklerde, ALP, LDH, BUN, albumin, globülin, total protein, Ca, P ve Mg düzeylerinde önemli bir değişiklik görülmezken botulismuslu hayvanlarda AST düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş ancak AST seviyesi sığırlarda normal fizyolojik sınırlar arasında kalmıştır.

Metabolizma hastalıkları, bakteriyel, paraziter ve viral hastalıklarda total sialik asit seviyeleri önemli oranda artar (14-16,29). Karaciğer hastalıkları, kanser, romatoid artrit, lökoz, parazit ve enfeksiyöz hastalıklarda total sialik asit düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir (14-16,29). Sığırlarda yapılan çalışmalarda anaplasmosis ve thaileriosis (29), leptospiroz (14), lökoz (16), enzootik hematüri (15),

gibi hastalıklarda serum total sialik asit seviyesinin arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada botulismuslu ineklerde serum total sialik asit düzeyi sağlıklı ineklere göre artmıştır.

Sonuç olarak, botulismuslu sığırlarda total sialik asit ve AST enzim düzeylerinin araştırılması botulismusun laboratuvar bulgularına yararlı olabileceği kanaatine varıldı.

Çıkar Çatışması

Yazar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

1. Bartlett JC., 1986. Infant botulism in adults. N Engl J Med, 315, 254-255.
2. Böhnelt H., Lube K., 2000. Clostridium botulinum and bio-compost. A contribution to the analysis of potential health hazards caused by bio-waste recycling. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health, 47, 785-795.
3. Ok M., Yıldız R., 2016. Ruminantlarda botulismus. Türkiye Klinikleri J Vet Sci Intern Med-Special Topics, 2, 93-96.
4. Temizel EM., 2019. Ruminantlarda botulismus. Ok M, editör. Ruminantlarda Klostridyal Enfeksiyonlar. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri, p. 29-34.
5. Koç B., Aydın Vural H., Ruminantlarda botulismus. Aydın Vural H, editör. Büyükbaş hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan ilaçlar. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2019. Pp: 20-25.
6. Van der Lugt JJ., De Wet SC., Bastianello SS., Kellerman TS., Van Jaarsveld LP., 1995. Two outbreaks of type C and type D botulism in sheep and goats in south Africa. J S Afr Vet Assoc, 66, 77-82.
7. Böhnelt H., 1999. Botulismus eine vergessene erkrankung. Berl Münch Tierärztl Wochenschr, 112, 139-145.
8. Braun U., Feige K., Schweizer G., Pospischil A., 2005. Clinical findings and treatment of 30 cattle with botulism. Vet Rec, 156, 438-441.
9. Gerlach T., 2007. Botulismus bei einer golden

- retriever hündin. Tierärztliche Prax, 35, 37-40.
10. Schiefelbein EB., 1986. Lebensmittelbedingte Infektionen und Intoxikationen der Jahre 1960-1983, Erfassung, Auswertung, Validität der WHO, Daten. University of Bonn, PhD dissertation, Germany.
 11. Monaco S., Freddi N., Francavilla E., Meneghetti F., Fenicia L., Franciosa G., 1998. Transient tonic pupils in botulism type. J Neuro Sci, 156, 96-98.
 12. Rosenberg A., Schengrund CL., 1976. Circulating sialyl compounds. In "Biological Roles of Sialic Acid", Rosenberg A., Schengrund S., 275-294, Plenum Publishing Corp, New York.
 13. Schauer R., 1982. Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acids. Adv Carbohydr Chem Biochem, 40, 131-234.
 14. Keleş İ., Ertekin A., Karaca M., Ekin S., Akkan HA., 2000. Sığırların leptospirozisinde serum sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeyleri üzerine araştırma. YYÜ Vet Fak Derg, 11, 121-122.
 15. Singh B., Choudhuri PC., Joshi HC., 1980. Serum mucoprotein and sialic acid in enzootic bovine haematuria. Zntbl Vet Med A, 27, 678-681.
 16. Sydow G., Wittmann W., Bender E., Starick E., 1988. The sialic acid content of the serum of cattle infected with bovine leukosis virus. Arch Exp Vetmed, 42, 194-197.
 17. Sydow G., 1985. A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. Biomed Biochim Acta, 44, 1721-1723.
 18. Kriek NPJ., Odendaal MW., 2004. Botulism. In "Infectious diseases of livestock with special reference to southern Africa Coetzer", Ed., D. Thomson, RC Tustin, 1354-1371, Oxford University Press, Republic of South Africa.
 19. Döbereiner J., Tokarnia CH., Langenegger J., Dutra IS., 1992. Epizootic botulism of cattle in Brazil. Dtsch Tierarztl Wochenschr 99, 188-190.
 20. Grobe-Herrenthey A., 2004. Untersuchungen zu den Einflussfaktoren einer effizienten Bekämpfungsstrategie für Rinderbotulismus in Brasilien. University of Leipzig, PhD dissertation, Leipzig.
 21. Braun U., 2006. Botulism in cattle. Schweiz Arch Tierheilk, 148, 331-339.
 22. Wilson RB., Boley MT., Corwin B., 1995. Presumptive botulism in cattle associated with plastic-packaged hay. J Vet Diagn Invest, 7, 167-169.
 23. Aytekin İ., Kaya F., Atalay H., 2016. Evaluation of serum haptoglobin, ceruloplasmin and pseudocholinesterase levels in cows with botulism. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 22, 367-371.
 24. Trueman KF., Bock RE., Thomas RJ., Taylor JD., Gren PA., Roeger HM., Ketterer PJ., 1992. Suspected botulism in three intensively managed Australian cattle herds. Vet Rec, 130, 398-400.
 25. Aytekin İ., Kaya F., 2017. Evaluation of serum cholinesterase and amyloid A levels in cows with botulism. Balıkesir Health Sci J, 22, 367-371.
 26. Duru SY., Şahal M., Beşkaya A., Gazyağcı S., 2016. Investigation of botulism cases in a cattle herd in Bolu province. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg, 11, 332-338.
 27. Şentürk S., Cihan H., 2007. Outbreak of botulism in a dairy herd in Turkey. Irish Vet J, 6, 481-484.
 28. Çatık S., Akgül G., Mecitoğlu Z., Şentürk S., 2013. Bir süt sığır işletmesinde botulismus. J Res Vet Med, 32, 53-56.
 29. Güzel M., Kontas Askar T., Kaya G., Atakısı E., Avcı GE., 2008. Serum sialic acids, total antioxidant capacity, and adenosine deaminase activity in cattle with theileriosis and anaplasmosis. Bull Vet Inst Pulawy, 52, 227-230.