

Neonatal Buzağı İshallerinin İmmunokromotografik Test Kitleri İle Hızlı Etiyolojik Teşhisi

Nuri ALTUĞ¹ Nazmi YÜKSEK² Cumali ÖZKAN² İhsan KELEŞ³ Yıldırım BAŞBUĞAN²
Zahid Tevfik AĞAOĞLU² Abdullah KAYA² Yakup AKGÜL²

¹ Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Kırıkkale, Türkiye

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Van, Türkiye

³ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, Kayseri, Türkiye

Geliş tarihi: 19.07.2013

Kabul Tarihi: 24.09.2013

ÖZET

Bu çalışmada, ishalin en önemli etiyolojik etkenlerinin hızlı bir immunokromotografik metotla teşhisi amaçlandı. Çalışmada, 51 ishalleri buzağı kullanıldı. İshalleri buzağılardan rektal uyarımla steril dışkı örnekleri alındı ve immunokromotografik hızlı diagnostik test kitleri ile enteropatojen teşhisi yapıldı. Ayrıca parazitolojik muayeneleri yapıldı ve etiyolojik teşhis sonuçlarına göre tedavi uygulandı. Buzağların %64.7'sinde bir veya daha fazla enteropatojen tespit edildi. Tek veya miks olarak en çok *E. coli* K99 (%27.45) ve *rotavirus* (%27.45) saptandı. *Coronavirus* sadece bir buzağıda (%1.96) belirlendi. Buzağların %7.84'ünde miks etiyoloji (%3.92 *E.coli* K99 + *Rotavirus*, %1.96 *E.coli* K99 + *E.coli* CSA31A, %1.96 *Rotavirus* + *Cryptosporidium*) tespit edildi. İshalleri buzağların %11.76'sında ise sadece paraziter enteropatojenler (*Eimeria* %5.88, *Cryptosporidium* %3.92, *Ascarid* %1.96) belirlendi. Sonuç olarak; buzağı ishallerindeki en önemli etiyolojik faktörlerin belirlenmesinde hızlı immunokromotografik test kitlerinin rahatlıkla kullanılabileceği, belirlenen enteropatojenlere karşı gerekli profilaktik ve yönetimsel önlemlerin acilen alınması gerektiği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler

Buzağı, İshal, Enteropatojen, Hızlı diagnostik test, Teşhis

Rapid Etiological Diagnosis of Neonatal Calf Diarrhoea with Immunochromatographic Test Kits

SUMMARY

In the present study, the most important etiologic agents of diarrhoea were diagnosed using an immunochromatographic method. In this study, 51 calves with diarrhoea were used as material. Fecal samples were obtained from the calves with diarrhoea using rectal stimuli and etiologic diagnosis was made using a quick immunochromatographic test kit. Furthermore, parasitological examination of the feces was made then treatment was applied according to diagnosis. One or more than one enteropathogen was diagnosed in 64.7% calves. The most common culprit were *E. coli* K99 (27.45%) and *rotavirus* (27.45%) infection(s) as alone or mix. *Coronavirus* determined only in one calf (1.96%). Mix etiology (3.92% *E.coli* K99 + *Rotavirus*, 1.96% *E.coli* K99 + *E.coli* CSA 31A, 1.96% *Rotavirus* + *Cryptosporidium*) was determined at 7.84%. In diarrhoeic calves, 11.76% of them had only parasiter enteropathogens (*Eimeria* 5.88%, *Cryptosporidium* 3.92%, *Ascarid* 1.96%). As a result; quick immunochromatographic test kits can be used to determine enteropathogens causing calf diarrhoea. Prophylactic and administrative precautions have to be taken against determined enteropathogens.

Key Words

Calf, Diarrhoea, Enteropathogen, Rapid diagnostic test, Diagnosis

GİRİŞ

Buzağı ishalleri enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz nedenlere bağlı olarak şekillenen çok sayıda ve sulu dışkılama ile karakterize olgulardır. İshal yeni doğan buzağılarda doğumu takip eden 2-10 gün içinde, en sık olarak da neonatal dönemde görülmektedir (Hall ve ark. 1992; Radostits ve ark. 2006). Neonatal buzağı ishallerinin, sığır yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından biri olduğu, yüksek morbidite ve mortalite ile seyrettiği ve önemli ekonomik kayıplara neden olduğu bildirilmektedir (Khan ve Khan 1991; Hall ve ark. 1992; Radostits ve ark. 2006; Lorenz ve ark. 2011a). Bu durumun; etiyolojik faktörlerin çok karmaşık olması nedeniyle etkili bir tedavi yapılmasının zorluğu ve sıvı-elektrolit tedavisinin yeterli, düzenli veya doğru yapılmamasından kaynaklandığı

belirtilmektedir (Khan ve Khan 1991; Bartels ve ark. 2010; Lorenz ve ark. 2011a).

Enfeksiyöz etkenler içerisinde bakteriler, virüsler ve parazitler rol oynarlar. Bu enfeksiyöz etkenler tek başlarına ve/veya miks enfeksiyonlar şeklinde buzağılarda ishale neden olurlar (Khan ve Khan 1991; Hall ve ark. 1992; Radostits ve ark. 2006). Yapılan çalışmalarda (Khan ve Khan 1991; Boynukara ve ark. 2000; Ragsdale, 2004) buzağı ishallerine en yaygın olarak bakteriyel etkenlerden *E. coli*'nin, viral etkenlerden *rota* ve *coronavirus*'ların, paraziter etkenlerden ise *Cryptosporidium*, *Toxocara* ve *Eimeria*'ların yol açtığı saptanmıştır. Fakat yaşamın ilk dört haftasında genellikle *E. coli*, *Cryptosporidium*, *Rota* ve *Coronavirus*'ların neden olduğu ishaller rastlanıldığı bildirilmektedir (Khan ve Khan 1991; De La Fuente ve ark.

1998; Langoni ve ark. 2004; Lorenz ve ark. 2011a). Ayrıca, barınak şartlarının elverişli olmaması, toplu yetiştirme yapılan barınakların-kullanılan araçların temizlik ve dezenfeksiyonunun iyi yapılmaması, yeni doğan buzağılara kolostromun zamanında yeterince ya da hiç verilmemesi ve doğum sonrası göbek kordonu dezenfeksiyonunun yapılmaması gibi pek çok faktörün ishal oluşumunda etkili olduğu ifade edilmektedir (Khan ve Khan 1991; Radostits ve ark. 2006; Lorenz ve ark. 2011a; Lorenz ve ark. 2011b).

İshal oluşumu ile birlikte kısa sürede şekillenen sıvı kaybına bağlı olarak gelişen hipovolemi sonucu böbrek yetmezliği, elektrolit kaybına (bikarbonat) ve/veya yer değişimlerine (Na⁺, K⁺, H⁺) bağlı olarak gelişen metabolik asidozis ve hiperkalemi sonucu oluşan kalp blokajına bağlı olarak ölümler gözlenebilir (Hall ve ark. 1992; Radostits ve ark. 2006). Bu durumun önlenmesinde etiyolojik teşhisin kısa sürede yapılarak tedavinin yönlendirilmesi büyük önem arz etmektedir. Etiyolojik teşhis amacıyla genellikle *E.coli* için bakteriyolojik ekimler, *rota* ve *corona virus*'lar için poliakrilamid jel elektroforez, floresan antikor ve ELİSA teknikleri, *cryptosporidium* için boyama teknikleri kullanılmaktadır (Khan ve Khan 1991; Hall ve ark. 1992; Ragsdale, 2004; Radostits ve ark. 2006). Ancak son yıllarda bunlara ilave olarak özellikle ishal oluşumunda en fazla rol oynadığı bilinen bu etkenlerin dışkıdan hızlı etiyolojik teşhisine olanak sağlayan immunokromotografik test kitlerinin yüksek bir duyarlılıkla, kolayca ve laboratuvar ortamı gerekmeksizin saha şartlarında uygulanabileceği ifade edilmektedir (Thorns ve ark. 1992; De La Fuente ve ark. 1998; Reschova ve ark. 2001; Al-Yousif ve ark. 2002; Muccio ve ark. 2004; Trotz-Williams ve ark. 2005; Klein ve ark. 2009). Buzağı dışkılarında immunokromotografik testlerin *Coronavirus*, *Rotavirus*, *E. coli* K99 ve *Cryptosporidium parvum* için %86.7-100 oranında spesiflik (Thorns ve ark. 1992; Reschova ve ark. 2001; Al-Yousif ve ark. 2002; Muccio ve ark. 2004; Trotz-Williams ve ark. 2005; Klein ve ark. 2009), duyarlılığının ise *Coronavirus* için %60-94.9 (Klein ve ark. 2009; Reschova ve ark. 2001; Thorns ve ark. 1992), *E. coli* K99 için %93 (Thorns ve ark. 1992) *Rotavirus* için %70-100 (Thorns ve ark. 1992; Al-Yousif ve ark. 2002; Klein ve ark. 2009) ve *Cryptosporidium parvum* için %75-100 (Thorns ve ark. 1992; De La Fuente ve ark. 1998; Muccio ve ark. 2004; Trotz-Williams ve ark. 2005; Klein ve ark. 2009) gibi yüksek derecelerde olduğu bildirilmiştir. Bu kitlerin kullanımı ile akut ishalleri buzağılarda etiyolojik faktörlerinin en kısa sürede belirlenerek etken spesifik tedavilerin yapılması tavsiye edilmektedir (Luginbühl ve ark. 2005; Trotz-Williams ve ark. 2005; Klein ve ark. 2009).

Ancak, yapılan literatür taramalarında ülkemizde ishalleri buzağılarda dışkıdan hızlı etiyolojik teşhise olanak sağlayan lateral immunokromotografik test kitleri kullanılarak yapılan herhangi bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu araştırma ile; ülkemizde ishallerin oluşumundaki en önemli etiyolojik etkenlerin immunokromotografik hızlı diagnostik test kitleri ile hızlı etiyolojik teşhisi, bu kitlerin klinik kullanılabilirliğinin ortaya konulması, etiyolojik teşhis sonuçlarına göre etken spesifik tedavilerin yapılması ve veteriner hekimlerimize yön verilmesi amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Bu araştırma; Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniğine ishal şikâyeti ile getirilen veya yöreden temin edilen ishalleri buzağılar üzerinde yürütüldü. Hayvan materyalini 2-30 günlük

yaşlarda ve farklı ırklarda (20 simental, 16 montefon, 6 holstein, 6 melez ve 3 yerli) 51 adet ishalleri buzağı oluşturdu. Buzağılar bazı patojenlerin (*E. coli* K99) patofizyolojisi göz önünde bulundurularak 0-4 gün, 5-14 gün ve 15 gün ve üzeri yaş aralığında gruplandırıldı (Izzo ve ark. 2011). İshalleri buzağıların anamnezi alındı, klinik muayeneleri yapıldı ve veriler kaydedildi. Daha sonra rektal uyarımla steril dışkı kaplarına dışkı örnekleri alındı.

Alınan dışkı örneklerine öncelikle dışkıdan etiyolojik teşhise olanak sağlayan Speed® V DIAR 5 (BVT® Diagnostica Veterinaria, Fransa) testi uygulanarak *E. coli* K99, *E. coli* CSA31A, *Rota* ve *Coronavirus*'lar ile *Cryptosporidium parvum* türü protozoonların tespiti yapıldı. Bu kit patojene ait antijenleri strip membranı üzerinde hızlı bir immunokromotografik metotla belirler. Her strip belirleyeceği patojene spesifik bir monoklonal antikor tabakası içerir. Üretici firma tarafından laboratuvar test metotları ile (ELİSA, Aglutinasyon ve Serotiplendirme, Ziehl-Nelsen Boyama, Bakteriolojik Kültür) patojenler için kitin duyarlılık ve spesifikliği; *E. coli* K99 %95 ve %94, *E. coli* CSA31A %85.7 ve %93, *Rotavirus* %92.8 ve %100, *Coronavirus* %92.6 ve %100, *Cryptosporidium parvum* %94.7 ve %95 olarak bildirilmiştir. Ayrıca dışkı parazitolojik muayenelere (nativ, sedimentasyon, flotasyon) tabi tutularak diğer parazitolojik etkenler (*Eimeria spp*, *Toxocara*) açısından değerlendirildi. Böylece ishalleri buzağıların etiyolojik teşhisi tamamlanarak etkenlerin ishal oluşumundaki prevalansı belirlendi, teşhise göre gerekli tedavileri yapıldı.

BULGULAR

Dışkı Etiyolojik Teşhis Bulguları

İshalleri buzağılarda enteropatojen sayıları ve oranları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. İshalleri buzağılarda enteropatojen sayıları ve oranları

Table 1. The numbers and rates of enteropathogens in diarrhoeic calves

Enteropatojen	Sayı (n=51)	Oran (%)
Pozitif	33	64.7
<i>E. coli</i> K99	11	21.56
<i>E. coli</i> K99 + <i>E. coli</i> CSA31A	1	1.96
<i>E. coli</i> K99 + <i>Rotavirus</i>	2	3.92
<i>Rotavirus</i>	11	21.56
<i>Rotavirus</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>	1	1.96
<i>Coronavirus</i>	1	1.96
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2	3.92
<i>Eimeria spp.</i>	3	5.88
<i>Toxocara vitulorum</i>	1	1.96
Negatif	18	35.3

Dışkı muayenesi sonuçlarına göre neonatal ishalleri buzağıların % 64.7'sinde (33/51) bir veya daha fazla enteropatojen tespit edildi. Enteropatojenlerin dağılımları ise; %21.56 *E. coli* K99 (11/51), %1.96 *E. coli* K99 + *E. coli* CSA31A (1/51), %3.92 *E. coli* K99 + *Rotavirus* (2/51), %21.56 *Rotavirus* (11/51), %1.96 *Rotavirus* + *Cryptosporidium parvum* (1/51), %1.96 *Coronavirus* (1/51), %3.92 *Cryptosporidium parvum* (2/51), *Eimeria spp.* %5.88 (3/51) ve %1.96 *Toxocara vitulorum* (1/51) olarak belirlendi. Buzağıların %7.84'inde (4/51) mikst etiyoloji tespit edildi. İshalleri buzağılarda en çok *E. coli* K99 %27.45

(14/51) ve *rotavirus* %27.45 (14/51) saptandı. İshalli buzağuların %11.76'sında (6/51) sadece paraziter enteropatojenler tespit edildi (Tablo 1).

Enteropatojen pozitif buzağuların yaş aralığı; 11'i (%33.33) 0-4, 18'i (%54.54) 5-14 ve 4'ü (%12.12) 15 veya daha üzeri gün olarak belirlendi. Enteropatojen negatif buzağuların yaş aralığı; 6'sı (%33.33) 0-4, 2'si (%11.11) 5-14 ve 10'u (%55.55) 15 veya daha üzeri olarak saptandı. *E. coli* ile enfekte 14 buzağıdan 1'i hariç (10 gün) diğerleri 5 gün ve daha küçük yaşta olduğu, rotavirusla enfekte 14 buzağının 3'ü hariç (2'si 4 günlük, 1'i 15 günlük) diğerleri 5-10 günlük yaşlarda olduğu saptandı. Paraziter etkenlerin ise 10 günden önce tespit edilmediği (*Cryptosporidium*

parvum 10-12 günlük, *Toxocara vitilorum* 10 gün, *Eimeria spp.* 20-30 gün) belirlendi (Tablo 2).

İshalli buzağularda kliniğe başvuru öncesi antibiyotik kullanım oranı enteropatojen pozitiflerde %42.42 (14/33) ve negatiflerde ise %72.22 (13/18) olarak saptandı. Enteropatojen negatif buzağuların 5'inde (5/18, %27.78) ise antibiyotik kullanılmadığı saptandı. Antibiyotik kullanım oranı *E. coli* (+) buzağularda (n=14) %3.03 olarak (1/33) belirlenirken, *rotavirus* (+) buzağularda (n=14) %24.24 olarak (8/33) ve paraziter etkenlerin pozitif olduğu buzağularda (n=7) ise %18.18 olarak (6/33) belirlendi (Tablo 2). Ayrıca anamnezde ishallerin buzağuların hiçbirinin annesine koruyucu amaçla aşı uygulanmadığı öğrenildi.

Tablo 2. İshalli buzağularda enteropatojenlerin görüldüğü yaş aralıkları ve antibiyotik kullanım durumunun sayısı ve oranları

Table 2. Enteropathogens in diarrhoeic calves in the age ranges, and numbers and rates of antibiotic usage status in diarrhoeic calves

Enteropatojen	Sayı	Yaş Aralığı (Gün) (n=51)			Antibiyotik Kullanımı (%)
		0-4 (%)	5-14 (%)	≥15 (%)	
Pozitif	33	11 (33.33)	18 (54.54)	4 (12.12)	14(42.42)
<i>E. coli</i> K99	11	8 (24.24)	3 (9.09)	-	1 (3.03)
<i>E. coli</i> K99 + <i>E. coli</i> CSA31A	1	1 (3.03)	-	-	-
<i>E. coli</i> K99 + <i>Rotavirus</i>	2	-	2 (6.06)	-	-
<i>Rotavirus</i>	11	2 (6.06)	8 (24.24)	1 (3.03)	7 (21.21)
<i>Rotavirus</i> + <i>Cryptosporidium parvum</i>	1	-	1 (3.03)	-	1 (3.03)
<i>Coronavirus</i>	1	-	1 (3.03)	-	-
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2	-	2 (6.06)	-	2 (6.06)
<i>Eimeria spp.</i>	3	-	-	3 (9.09)	3(9.09)
<i>Toxocara vitilorum</i>	1	-	1 (3.03)	-	-
Negatif	18	6 (33.33)	2 (11.11)	10 (55.55)	13 (72.22)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Ülkemiz hayvancılık sektöründe, büyük ekonomik kayıplara neden olan buzağı ishalleri oldukça karmaşık bir etiyojiye sahiptir. Buzağı ishalleri enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz birçok faktöre bağlı olarak oluşabilir (Khan ve Khan 1991; Radostits ve ark. 2006; Lorenz ve ark. 2011a). Ancak neonatal dönemde özellikle enfeksiyöz orijinli (bakteriyel, viral ve paraziter) ishaller ön plana çıkmaktadır. Enfeksiyöz etkenler içerisinde; özellikle *E. coli*, *Rotavirus* ve *Coronavirus*'lar ile *Cryptosporidium* türü protozoonların önemli bir rolü olduğu belirlenmiştir (Khan ve Khan 1991; De La Fuente ve ark. 1998; Langoni ve ark. 2004; Lorenz ve ark. 2011a). Buzağı ishallerindeki enfeksiyöz etkenlerin teşhisinde birçok yöntem kullanılmakla birlikte son yıllarda dışkıdan hızlı etiyojik teşhise olanak sağlayan immunokromatografik testlerin kolaylıkla uygulanabileceği ifade edilmektedir (Thorns ve ark. 1992; De La Fuente ve ark. 1998; Reschova ve ark. 2001; Al-Yousif ve ark. 2002; Luginbühl ve ark. 2005; Trotz-Williams ve ark. 2005; Klein ve ark. 2009). Üstelik immunokromatografik test kitlerinin standart referans metotlarla (Bakteriyolojik Ekim, Poliakrilamit Jel Elektroferez, Floresan Antikor, ELISA, PCR, Elektron Mikroskopisi, Boyama) karşılaştırıldığı çalışmalarda da bu test kitlerinin yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Thorns ve ark. 1992; Al-Yousif ve

ark. 2002; Muccio ve ark. 2004; Trotz-Williams ve ark. 2005; Klein ve ark. 2009).

Birçok araştırmacı (Thorns ve ark. 1992; De La Fuente ve ark. 1998; Al-Yousif ve ark. 2002; Luginbühl ve ark. 2005; Trotz-Williams ve ark. 2005; Klein ve ark. 2009) dışkıdan enteropatojen tanısında immunokromatografik test kitlerinin hızlı, basit ve kolay uygulanabilen bir metot olduğunu, uzman, uzman ve tam teçhizatlı laboratuvar gerektirmemesi, diğer tekniklere göre ucuz ve hızlı olması ve tedavi stratejilerinin hemen belirlenmesine olanak vermesi, her özel klinikte bulunabilen laboratuvar, büro ve hatta saha şartlarında uygulanabilir olması nedeniyle de pratisyen ve araştırmacılar tarafından daha çok tercih edilebileceğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan immunokromatografik test kitlerinin de kolay uygulama prosedürü ile klinik pratikte rahatlıkla kullanılabileceği saptandı. Böylece, neonatal buzağı ishalleri oluşumundaki en önemli etiyojik faktörler çok kısa bir süreçte (15 dk) belirlendi ve elde edilen sonuçlara göre tedavileri yapıldı.

Buzağı ishallerinde *E. coli*'nin insidensinin çalışmalar arasında önemli farklılıklar gösterdiği ve neonatal buzağı ishallerinde belirlenen *E. coli*'lerin çoğunlukla K99 antijenine sahip olduğu bildirilmektedir (Khan ve Khan 1991). Bu çalışmada ise ishallerin buzağularda tek başına veya miks olarak en çok *E. coli* K99 ve *rotavirus* eşit oranda %27.45 saptandı (Tablo 1). Çalışmada belirlenen *E. coli* K99 oranlarının dünyada (Pohjola ve ark. 1986; De La

Fuente ve ark. 1998; Bendali ve ark. 1999; Naciri ve ark. 1999; Younis ve ark. 2009; Bartels ve ark. 2010; Izzo ve ark. 2011) belirlenen oranlardan (%1.4-17.4) yüksek, yöremizde (Boynukara ve ark. 2000) belirlenen orandan (%75) düşük, ülkemizdeki diğer araştırmalarda (Emre ve ark. 1998; Aydın ve ark. 2001) belirlenen oranlara (sırasıyla %22.58-%32.1) ise benzer bulunmuştur. Bu çalışmada belirlenen *E. coli* K99 oranlarının dünyada belirlenen oranlardan yüksek olması, enteropatojenlere yönelik koruyucu aşılama uygulamasının ülkemizde ve yöremizde henüz yaygın şekilde kullanılmaması, ilave terapötik önlemlerin alınmaması, çalışmamızdaki pozitif buzağuların neredeyse tamamının yaşlarının bir hafta altında olması ve yönetsel faktörlerden kaynaklanmış olabilir. Yöremizde daha önce Boynukara ve ark. (2000) tarafından belirlenen oranlardan düşük belirlenmesi ise araştırmacıların sınırlı sayıda (n=4) ishalleri buzağıda *E. coli* K99 oranını belirlemelerinden dolayı olabilir. Ayrıca, araştırmacıların bildirimlerine (Khan ve Khan 1991; Bendali ve ark. 1999; Aydın ve ark. 2001; Younis ve ark. 2009; Bartels ve ark. 2010; Izzo ve ark. 2011) paralel olarak, bu çalışmada da *E. coli* K99 ile enfekte 14 buzağıdan 13'ünün 5 gün ve daha küçük yaşta olduğu belirlendi (Tablo 2).

Bu çalışmada ishalleri buzağularda belirlenen *rotavirus* oranlarının (%27.45), dünyada (Bendali ve ark. 1999; Naciri ve ark. 1999; Garcia ve ark. 2000; Langoni ve ark. 2004; Bartels ve ark. 2010; Izzo ve ark. 2011) %9.6-79.9 ve ülkemizde (Alkan ve ark. 1992; Alkan, 1998; Erdoğan ve ark. 2003; Gülyaz ve ark. 2005; Çabalar ve ark. 2007; Duman ve Aycan 2010) %8.5-47.0 belirlenen aralıklarda olduğu saptandı. Bu çalışmadaki *rotavirus* oranlarının ülkemizdeki Alkan ve ark. (1992)'nin Ankara'da (%26.8), Erdoğan ve ark. (2003)'nin Kars'ta (%26.9) belirledikleri oranlarla büyük benzerlik arz ettiği gözlemlendi. Ancak, yöremizde 2002-2003 yılları arasında Çabalar ve ark. (2007)'nin belirlediği oranlardan (%17.97) yüksek olduğu saptandı. Bu durum, yöremizde geçen zamana rağmen yönetsel, koruyucu ve hijyenik tedbirlerin yeterli olmaması nedeniyle *rotavirus* enfeksiyonunun artarak devam ettiğini göstermektedir.

Rotavirus enfeksiyonunun görüldüğü yaş aralıkları ile ilgili farklı bildirimler söz konusudur (Alkan, 1998; Bendali ve ark. 1999; Garcia ve ark. 2000; Erdoğan ve ark. 2003). Bu çalışmada *rotavirus*'la enfekte 14 buzağının 3'ü hariç (2'si 4 günlük, 1'i 15 günlük) 11 buzağının 5-10 günlük yaşlarda olduğu saptandı (Tablo 2). Diğer enteropatojenlerde de olduğu gibi araştırmacıların gün veya hafta bazında sınıflandırma yapmaları nedeniyle *rotavirus* yaş ilişkisini karşılaştırmak güç olmakla birlikte, bu bulgular bazı araştırmacıların bulguları ile benzerlik (Bendali ve ark. 1999; Erdoğan ve ark. 2003; Duman ve Aycan 2010), diğerlerinin (Alkan, 1998; Garcia ve ark. 2000) bulguları ile ise farklılık arz etmektedir.

Bu çalışmada *E. coli* K99 ve *rotavirus* miiks enfeksiyonu %3.92 olarak belirlendi. Belirlenen oranların Garcia ve ark. (2000) %4.6 ve Younis ve ark. (2009) %5.9 bulgularına paralel olduğu saptandı. Miiks enfeksiyonların belirlenmesi klinisyenlerin vakaya yaklaşımı açısından faydalı olabilir. Çünkü enteropatojenler arasındaki sinerjik etkileşimlerin hastalığın şiddetini arttırabileceği ve klinik etkiyi şiddetlendirebileceği bildirilmektedir (Garcia ve ark. 2000).

Neonatal buzağı ishallerine *coronavirus*'un *rotavirus*'dan daha düşük oranlarda neden olduğu bildirilmektedir (Khan ve Khan 1991; Izzo ve ark. 2011). Türkiye'de ishalleri buzağularda *coronavirus* oranları; Alkan (1998) %18, Erdoğan ve ark. (2003) %1.0 ve Çabalar ve ark. (2007)

%1.12 olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada *coronavirus* en az önemli enfektif etiyolojik etken (%1.96) olarak belirlenmiştir (Tablo 1) ve yapılan çalışmalarda (Pohjola ve ark. 1986; Khan ve Khan 1991; De La Fuente ve ark. 1998; Bendali ve ark. 1999; Naciri ve ark. 1999; Bartels ve ark. 2010; Izzo ve ark. 2011) bildirilen %0-21.6 aralıklarında olduğu saptandı. Ancak, özellikle Kars (Erdoğan ve ark. 2003) ve Van'da (Çabalar ve ark. 2007) daha önce yapılan çalışmalarla aynı paralelde olduğu görüldü. Bartels ve ark. (2010) *coronavirus* tespiti ve geçmişte buzağuların aldığı antimikrobiyel tedavi arasında güçlü bir ilişki belirlediklerini, bu ilişkinin *coronavirus*'un önceden ishalleri olan buzağuların bakteriyel enfeksiyonlara karşı tedavi edildikleri zaman oluşan oportunistik bir enfeksiyon olması ile açıklanabileceğini ifade etmişlerdir. Aksine, bu çalışmada teşhis öncesi ishalleri buzağuların %52.94'ünde (27/51) antibiyotik kullanılmasına rağmen *coronavirus* sadece antibiyotik kullanılmayan bir buzağıda tespit edilmiştir.

Neonatal dönemdeki ishalleri buzağularda *Cryptosporidium* oranları dünyada %3.0-63.0 (Khan ve Khan 1991; De La Fuente ve ark. 1998; Bendali ve ark. 1999; Naciri ve ark. 1999; Langoni ve ark. 2004; Bartels ve ark. 2010), Türkiye'de ise %5.94-37.7 (Arslan ve ark. 2001; Aydın ve ark. 2001; Çitil ve ark. 2004) aralığında belirlenmiştir. Mevcut belirlenen *Cryptosporidium* oranlarının (%5.88), dünyada (Khan ve Khan 1991) ve Türkiye'de (Arslan ve ark. 2001) daha önce yapılan çalışmalardaki alt limitlere benzer olduğu saptanmıştır. Belirlenen oranların Göz ve ark. (2006)'nın Van bölgesi için bildirdikleri oranlardan daha düşük olması, her iki çalışmadaki buzağuların yaş aralığı, populasyon ve metod farklılıklarından kaynaklanmış olabilir. Birçok araştırmacının (Bendali ve ark. 1999; Arslan ve ark. 2001; Izzo ve ark. 2011; Çitil ve ark. 2004) bulguları ile benzer olarak, bu çalışmada *Cryptosporidium* pozitif olgular 2 haftalık yaşta buzağularda belirlendi.

Sığırlarda *Eimeria spp.* enfeksiyonu prevalansının oldukça yüksek olmasına rağmen (Daugeschies ve Najdrowski 2005), klinik koksidiozis oranının düşük olduğu (Daugeschies ve Najdrowski 2005; Göz ve ark. 2006; Izzo ve ark. 2011), buzağularda klinik koksidiozisin özellikle 3 hafta-altı ay arasında görüldüğü (Busato ve ark. 1998; Daugeschies ve Najdrowski 2005; Lassen ve ark. 2009) ve ana semptomunun kanlı ishal olduğu (Daugeschies ve Najdrowski 2005; Göz ve ark. 2006) ifade edilmiştir. Mevcut çalışmada ishalleri buzağularda belirlenen *Eimeria spp.* (%5.88) oranları, bazı araştırmacıların (Thorns ve ark. 1992; Busato ve ark. 1998; Al-Yousif ve ark. 2002; Çitil ve ark. 2004; Trotz-Williams ve ark. 2005; Göz ve ark. 2006; Lassen ve ark. 2009) belirledikleri oranlardan (%17.0-63.6) düşük, Aydın ve ark. (2001)'nin belirledikleri oranlara (%5.94) benzer bulunmuştur. Bu çalışmada belirlenen düşük oranlar; çalışmada 3 hafta üzeri buzağı sayısının az olması ve daha ziyade kliniklere klinik bulgulu vakaların getirilmesinden kaynaklanmış olabilir. Çünkü bu çalışmadaki koksidiozis olgularının tamamında kanlı ishal saptandı.

Toxocara vitulorum ruminantların ince bağırsaklarında yaşayan ve özellikle 1-3 aylık buzağularda yaygın olarak görülen bir parazittir (Toparlak, 1989; Goossens ve ark. 2007). Bu çalışmada sadece 10 günlük bir buzağıda (%1.96) *Toxocara vitulorum* yumurtası belirlendi. Bu durum 0- 1 aylık ishalleri buzağularda *T. vitulorum* için dünyada %0-1.0 (Samad ve ark. 2004; Goossens ve ark. 2007) ve Türkiye'de %0-9.9 oranındaki (Aydın ve ark. 2001; Arslan ve ark. 2008) bildirimlere benzer bulundu. Ascaridiozis'in buzağularda en önemli enfeksiyon

kaynağının laktasyon dönemindeki dişiler olduğu, *T. vitulorum* larvalarının buzağılamadan 3-5 gün sonra kolostromda büyük miktarlarda olduğu, olgun ascariidlerin 10 güne kadar buzağuların bağırsaklarında gelişebileceği ve yumurtaların 3 haftaya kadar çıkarılabileceği bildirilmektedir (Radostits ve ark. 2006). En erken enfeksiyon görülme yaşı, dünyada (Agyei 1991) 2 gün ve Türkiye’de ise (Toparlak, 1989) 20 gün olarak bildirilmiştir. Agyei (1991) iki günlük buzağıda yapılan askarid yumurtasının prenatal enfeksiyona işaret ettiğini bildirmiştir. Yaş açısından değerlendirildiğinde bu çalışmada ülkemizde şu ana kadar belirlenen en erken yaş olduğu ve enfeksiyonun prenatal olabileceği kanaatindeyiz.

İshalli buzağularda enteropatojen pozitif olgular %71.6-95.0 ve negatif olgular ise %5.0-28.4 oranlarında bildirilmektedir (Pohjola ve ark. 1986; De La Fuente ve ark. 1998; Aydın ve ark. 2001; Langoni ve ark. 2004; Luginbühl ve ark. 2005; Izzo ve ark. 2011). Bu çalışmada neonatal ishallerin %64.7’sinin (33/51) bir veya iki etkenle enfekte olduğu, %35.3’ünün ise (18/51) incelenen etkenler açısından negatif olduğu tespit edildi (Tablo 1). Araştırmacıların (Pohjola ve ark. 1986; De La Fuente ve ark. 1998; Aydın ve ark. 2001; Langoni ve ark. 2004; Luginbühl ve ark. 2005; Izzo ve ark. 2011) bulguları ile karşılaştırıldığında, bu çalışmada belirlenen enteropatojen pozitif olguların daha düşük, negatif oranlarının ise daha yüksek olduğu saptandı. Bu çalışmadaki, enteropatojen negatif buzağuların %27.78’inde (5/18) antibiyotik kullanılmadığı saptandığından, enteropatojen negatif buzağı oranlarının yüksek olması; nutrisyonel veya yönetim faktörleri, özellikle düşük veya aralıklı patojen yayılımı olan olgularda tespit metodlarının bazı pozitif etkenleri tespit edememiş olması veya diğer araştırılmayan patojenlerle ilgili olabilir (De La Fuente ve ark. 1998). Izzo ve ark. (2011) ise diarede örneklemelerin hastalığın başlangıcında ve antibiyotik kullanılmadan önce yapılmasının efektif ajanların izolasyonu oranını artıracaklarını bildirmişlerdir. Bu çalışmada antibiyotik kullanım oranının enteropatojen negatiflerde (%72.22) pozitiflerden (%42.42) yüksek olduğu, üstelik antibiyotik kullanılan buzağuların %92.85’inde viral veya paraziter etken belirlenirken, sadece bir buzağıda bakteriyel etken (%7.15) belirlendi. Bu durum da mevcut çalışmada negatif oranların yüksek ve pozitif oranların düşük olmasında etkili olabileceği kanısındayız. Bendali ve ark. (1999) diareli buzağuların %84.6’sının yaşamın ilk 15 gününde olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde bu çalışmada da ishallerin %72.55’i (37/51) 15 günden daha küçük yaş aralığında olduğu belirlendi. Ancak, 15 gün ve üzeri yaştaki buzağı oranının negatiflerde (%55.55) pozitiflerden (%12.12) yüksek olduğu belirlendi. Bu durum, negatif oranlardaki yüksekliğin buzağuların yaşı ile de ilgili olabileceğine işaret edebilir. Younis ve ark. (2009) jomla ve ark. (2009) diareli buzağuların aşılanmasının enfeksiyon oranını önemli derecede azalttığını bildirmişlerdir. Ancak, bu çalışmada gebe annelere incelenen enteropatojenlerle ilgili aşılama yapılmadığı bilgisi alınması, negatif oranlarla aşılama arasında bir ilişki olmadığını düşündürmektedir.

Bu çalışma ile klinik pratikte neonatal buzağı ishallerindeki en önemli etiyojik faktörlerin belirlenmesinde hızlı immunokromotografik test kitlerinin rahatlıkla kullanılabileceği saptandı. Bununla birlikte, antibiyotik kullanılan olgularda *E. coli*’lerin belirlenememesi nedeniyle bu etkenleri içeren testlerin uygulanmasına gerek olmadığı, *rotavirus*, *coronavirus* ve *criptosporidium*’un teşhisi amacıyla ise ilgili testlerin

yapılması gerektiği kanaatine varıldı. Sonuç olarak, bölgemizde ishallerin etiyojisinde *E. coli* K99 ve *rotavirus*’un en önemli patojenler olduğu, *E. coli* K99’un 0-4 günlük, *rotavirus*’un 5-14 günlük ve paraziter etkenlerin 10 günden büyük buzağularda gözlemlendiği belirlendi. Bu bulgular göz önünde bulundurularak belirlenen enteropatojenlere karşı gerekli profilaktik ve yönetimsel önlemlerin alınması gerektiği kanaatine varıldı.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı 2007-VF-B05 nolu proje ile destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Agyei AD (1991).** Epidemiological observations on helminth infections of calves in southern Ghana. *Trop Anim Health Prod*, 23, 134-140.
- Alkan F (1998).** Buzağı ishallerinde rotavirus ve coronavirusların rolü. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 45, 29-37.
- Alkan F, Pulat H, Yazıcı Z, Burgu İ (1992).** Ters (reverse) pasif hemaglutinasyon (RPHA) testi ile ishallerin buzağuların gaitalarında rotavirusların tespiti. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 39 (1-2), 238-246.
- Al-Yousif Y, Anderson J, Chard-Bergstrom C, Kapil S (2002).** Development, evaluation, and Application of Lateral-Flow immunoassay (immunochromatography) for detection of rotavirus in bovine fecal samples. *Clin Diagn Lab Immunol*, 9 (3), 723-724.
- Arslan MÖ (1997).** Kars yöresi buzağularında *Eimeria* spp. türlerinin yaygınlığı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 3 (2), 141-149.
- Arslan MÖ, Gıcık Y, Erdoğan HM, Sarı B (2001).** Prevalence of *Cryptosporidium* spp. Oocysts in diarrhoeic calves in Kars, Province, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 25, 161-164.
- Arslan MÖ, Sarı B, Taşçı GT, Aktaş MS (2008)** Erzurum yöresinde buzağularda *Toxocara vitulorum* yaygınlığı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 14 (1), 37-40.
- Aydın F, Umur Ş, Gökçe G, Genç O, Güler MA (2001).** Kars yöresindeki ishallerin bakteriyel ve paraziter etkenlerin izolasyonu ve identifikasyonu. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 7(1), 7-14.
- Bartels CJM, Holzhauer M, Jorritsma R, Swart WAJM, Lam TJGM (2010).** Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Prev Vet Med*, 93, 162-169.
- Bendali F, Bichet H, Schelcher F, Sanaa M (1999).** Pattern of diarrhea in newborn beef calves in south-west France. *Vet Res*, 30, 61-74.
- Boynukara B, Solmaz H, Akgül Y, Aksakal A (2000).** Yeni doğan buzağuların dışkılarında *E.coli* ve *E.coli* K99’un varlığı ile neonatal ishallerinin önlenmesinde oral Spektinomisin (Pentahidrat Dihidroklorit)’in etkisi. *Bültendif*, 14, 2-5.
- Busato A, Lentze T, Hofer D, Burnens A, Hentrich B, Gaillard C (1998).** A case control study of potential enteric pathogens for calves, raised in cow-calf herds. *J Vet Med B*, 45, 519-528.
- Çabalar M, Kaya A, Arslan S (2007).** Yeni doğan buzağuların ishal olgularında rotavirus ve coronavirus araştırılması. *Vet Bil Derg*, 23 (3-4), 103-106.
- Çitil M, Arslan MÖ, Güneş V, Erdoğan HM (2004).** Neonatal buzağı ishallerinde *criptosporidium* ve *Eimeria* spp. enfeksiyonlarının rolü. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 10(1), 59-64.
- Daugschies A, Najdrowski M (2005).** Eimeriosis in Cattle: Current understanding. *J Vet Med B*, 52, 417-427.
- De La Fuente R, García A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Luzón M, Cid D, García S, Orden JA, Gómez-Bautista M (1998).** Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. *Prev Vet Med*, 36, 145-152.
- Duman R, Aycan AE (2010).** Prevalence of rotavirus infections in calves with diarrhea in Konya Region. *J Anim Vet Adv*, 9(1), 136-138.
- Emre Z, Alabay B.M, Fidancı H, Düzgün A, Çerçi H (1998).** Prevalence of *Cryptosporidium* spp. infection and its relation to other enteric pathogens (*Escherichia coli* K99 and rotavirus) in cattle in Ankara, Turkey. *Turk J Vet Anim Sci*, 22, 453-457.
- Erdoğan H.M, Ünver A, Güneş V, Çitil M (2003).** Kars yöresindeki neonatal buzağularda rotavirus ve coronavirus yaygınlığı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 9(1), 65-68.
- García A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Orden JA, Cid D, Sanz R, Gómez-Bautista M, De La Fuente R (2000).** Rotavirus and concurrent infections with other major enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 23, 175-183.

- Goossens E, Dorny P, Vervaecke H, Roden C, Vercammen F, Vercruyse J (2007).** Toxocara vitulorum in American bison (Bison bison) calves. *Vet Rec*, 160,556-557.
- Göz Y, Altuğ N, Yüksek N, Özkan C (2006).** Parasites Detected in Neonates and Young Calves with Diarrhoea. *Bull Vet Inst Pulawy*, 50, 345-348.
- Gülyaz V, Hasöksüz M, Özkul A (2005).** Türkiye'de yeni doğan ishalleri buzağılarda ilk rotavirus izolasyonu. *Pendik Vet Microbiol Derg*, 35(1-2), 3-6.
- Hall GA, Jones PW, Morgan JH (1992).** Calf diarrhoea, chapter 12. In Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG (Ed): *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle*, 1st ed. *Blackwell Science Ltd. Oxford*.
- Izzo MM, Kirkland PD, Mohler FL, Perkins NR, Gunn AA, House JK (2011).** Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhea. *Aust Vet J*, 89 (5), 167-173.
- Khan A, Khan MZ (1991).** Aetiopathology of neonatal calf mortality. *J Isl Acad Sci*, 4 (2), 159-165.
- Klein D, Kern A, Lapan G, Benetka V, Möstl K, Hassl A, Baumgartner W (2009).** Evaluation of rapid assays for the detection of bovine coronavirus, rotavirus A and Cryptosporidium parvum in faecal samples of calves. *Vet J*, 182, 484-486.
- Langoni H, Linhares AC, De Avila FA, Da Silva AV, Elias AO (2004).** Contribution to the study of diarrhea etiology in neonate dairy calves in São Paulo state, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci*, 41, 313-319.
- Lassen B, Viltrop A, Raaperi K, Jarvis T (2009).** Eimeria spp. and cryptosporidium in Estonian dairy farms in regard to age, species, and diarrhea. *Vet Parasitol*, 166, 212-219.
- Lorenz I, Fagan J, More SJ (2011a).** Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Irish Vet J*, 64 (9), 1-6.
- Lorenz I, Mee JF, Earley B, More SJ (2011b).** Calf health from birth to weaning. I. General aspects of disease prevention. *Irish Vet J*, 64 (10), 1-8.
- Luginbühl A, Reitt K, Metzler A, Kollbrunner M, Corboz L, Deplazes P (2005).** Field study about prevalence and diagnostics of diarrhea causing agents in the new-born calf in a Swiss veterinary practice area. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 147 (6), 245-252.
- Muccio JL, Grooms DL, Mansfield LS, Wise AG, Maes RK (2004).** Evaluation of two rapid assays for detecting Cryptosporidium parvum in calf feces. *J Am Vet Med Assoc*, 225 (7), 1090-1092.
- Naciri M, Lefay MP, Mancassola R, Poirier P, Chermette R (1999).** Role of Cryptosporidium parvum as a pathogen in neonatal diarrhoea complex in suckling and dairy calves in France. *Vet Parasitol*, 85, 245-257.
- Pohjola S, Oksanen H, Neuvonen E, Veijalainen P, Henriksson K (1986).** Certain enteropathogens in calves of Finnish dairy herds with recurrent outbreaks of diarrhea. *Prev Vet Med*, 3(6), 547-558.
- Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD (2006).** *Veterinary Medicine: A Textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses*. 10thed. *Saunders Co, London*.
- Ragsdale J (2004).** Diagnostic samples, tests for calf diarrhea. *Vet Quart*, 7 (1), 6.
- Reschova S, Pokorova D, Nevorankova Z, Franz J (2001).** Monoclonal antibodies to bovine coronavirus and their use in enzymeimmunoanalysis and immunochromatography. *Vet Med Czech*, 46 (5), 125-131.
- Samad MA, Hossain KMM, Islam MA, Saha S (2004).** Concurrent infection of gastrointestinal parasites and bacteria associated with diarrhoea in calves. *Bangl J Vet Med*, 2(1), 49-54.
- Thorns CJ, Bell MM, Chasey D, Chesham J, Roeder PL (1992).** Development of monoclonal antibody ELISA for simultaneous detection of bovine coronavirus, rotavirus serogroup A, and Escherichia coli K99 antigen in feces of calves. *Am J Vet Res*, 53(1), 36-43.
- Toparlak M, Değer S, Yılmaz H (1989).** Van yöresi sığırlarında Toxocara (neascaris) vitulorum enfeksiyonunun yayılışı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 36(2), 404-412.
- Trotz-Williams LA, Martin SW, Martin D, Duffield T, Leslie KE, Nydam DV, Jamieson F, Peregrine AS (2005).** Multiattribute evaluation of two simple tests for the detection of Cryptosporidium parvum in calf faeces. *Vet Parasitol*, 134, 15-23.
- Younis EE, Ahmed AM, El-Khodery SA, Osman SA, El-Naker YFI (2009).** Molecular screening and risk factors of enterotoxigenic Escherichia coli and Salmonella spp. in diarrheic neonatal calves in Egypt. *Res Vet Sci*, 87, 373-379.