

# BOTULİSMUSLU İNEKLERDE SERUM KOLİNESTERAZ VE AMİLOİD A SEVİYELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF SERUM CHOLINESTERASE AND AMYLOID A LEVELS IN COWS WITH BOTULISM

İsmail Aytekin , Feyyaz Kaya

Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir

## Yazışma Adresi:

İsmail Aytekin

Balıkesir Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı 1000 Balıkesir / Türkiye

E posta : aytekin0331@gmail.com

Kabul Tarihi: 19 Haziran.2017

doi : [10.5505/bsbd.2017.74046](https://doi.org/10.5505/bsbd.2017.74046)

Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi

ISSN: 2146-9601

e-ISSN: 2147-2238

[bsbd@balikesir.edu.tr](mailto:bsbd@balikesir.edu.tr)

[www.bau-sbdergisi.com](http://www.bau-sbdergisi.com)

## ÖZET

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Bu çalışmada botulismuslu ve sağlıklı ineklerde serum kolinesteraz, amiloid A, albumin, total protein, total bilirubin, üre, GGT ve SDH araştırıldı.

**YÖNTEM ve GEREÇLER:** Çalışma ve kontrol grubunagebe ve kuru dönemde iki ile beş yaşları arasında değişen 10 adet botulismuslu ve 6 adet sağlıklı holştayn inek oluşturdu. Parametrelerin serum düzeyleri Nefelometre BNII ve otoanalizör kullanılarak ölçüldü. Botulismuslu hayvanların kan serumlarından ve silajdan fare inokulasyon testi yapıldı.

**BULGULAR:** Botulismuslu ineklerin kan serumlarında ve silajda *Clostridium botulinum* tip C ve tip D toksini tespit edildi. Serum, kolinesteraz, amiloid A, albumin, total protein, total bilirubin ve SDH botulismuslu ve sağlıklı ineklerde önemli bir değişiklik göstermezken botulismuslu ineklerde üre ve GGT düşük çıktı.

**TARTIŞMA ve SONUÇ:** Botulismuslu ineklerde kolinesteraz ve formlarının araştırılması botulismusun fizyopatolojisine ve prognozuna faydalı olabileceği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Botulismus, inek, kolinesteraz, serum amiloid A, toksin

## SUMMARY

**INTRODUCTION:** The aim of this study was to determine serum cholinesterase, amyloid A, albumin, total protein, total bilirubin, urea, GGT and SDH in cows with or without botulism.

**METHODS:** The study included 10 holstein cows aged two to five years as the botulism group and control group consisting of 6 healthy cows. Serum concentration of all the parameters were measured using an autoanalyzer and Nefelometre equipment BNII. Mice inoculation test was performed in silage and blood that cows with botulism.

**RESULTS:** *Clostridium botulinum* type C and D toxins were determined in silage and blood that cows with botulism. Serum cholinesterase, amyloid A, albumin, total protein, total bilirubin and SDH did not differ significantly between two groups. Serum showed that in the botulism group urea and GGT were lower than in the control group.

**DISCUSSION AND CONCLUSION:** Serum cholinesterase and forms researched that may prove beneficial physiopathology and prognosis of botulism.

**Keywords:** Botulism, cow, cholinesterase, serum amyloid A, toxin

## GİRİŞ

Botulismus çevrede oluşmuş nörotoksinlerin oral yolla alındıktan sonra kan yoluyla kolinerjik sinir uçlarına taşındığı ve burada presinaptik terminallere bağlanarak, nöromusküler kavşaklarda asetilkolin salgılanmasını engeller, böylece uyarıcı impulslar efferent sinir ucu ile kas arasında bloke edilerek zayıflığı gelişmesine sebep olur ve hastalıkda nöromuskuler bağlantı noktasında asetilkolin salınımını bloke eder<sup>1,2,3</sup>.

Etkilenen sığırlarda, azalmış iştah, dilde gevşeklik, dilin dışarı çıkması, kuyruk tonusunda azalma, ataksi, topallık, sallantılı

yürüyüş, ön ve arka bacaklarda paraliz, bazılarında başını göğüs üzerine dayayarak yerde yatma ve ölüm gözlenir<sup>4,5,6,7</sup>.

Kolinesteraz memelilerde iki farklı formda bulunur; bunlar asetilkolinesteraz ve psödokolinesterazdır<sup>8-12</sup>. Asetilkolinesteraz, eritrositlerde, akciğerlerde, dalakta, sinir uçlarında ve beynin gri maddesinde bulunur. En önemli fizyolojik rolü, sinir uçlarından salınarak sinaps içinde nöral impulsun iletimini sağlayan asetilkolin hidrolizidir<sup>8-11</sup>. Asetilkolinesteraz karaciğerde üretilir ve karaciğer dejenerasyonlarında kandaki seviyesi azalır<sup>10</sup>. Psödokolinesteraz, karaciğer, pankreas, kalp ve beynin

beyaz maddesinde bulunur ve çoğunlukla karaciğerde sentezlenir, fizyolojisi yeteri kadar bilinmemektedir<sup>12</sup>.

Serum amiloid A'nın, enfeksiyon, yangı, doku yaralanması, karaciğer yağlanması, abomasum deplasmanları, zehirlenmeler, paraziter ve solunum sistemi hastalıklarında yükseldiğini bildirmişlerdir<sup>4,13-19</sup>.

Bu çalışmada botulismuslu ve sağlıklı ineklerde serum amiloid A, kolinesteraz, albumin, total protein, total bilirubin, üre, GGT ve SDH seviyelerinin araştırılması amaçlandı.

### GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada yaşları iki ile altı arasında değişen on adet botulismuslu, altı adet sağlıklı holştein ırkı inek kullanıldı. Her iki grupta birer adet gebe inek vardı. Bütün sığırlar kan örneği alınmadan önce klinik olarak muayene edildi ve daha sonra kan örnekleri alındı. Bu kan örnekleri 5000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Serum GGT, SDH, albumin, total protein, total bilirubin ve kolinesteraz seviyeleri ticari kitlerle Cobas 8000 (Roche, Almanya) biyokimya otoanalizörü kullanılarak ölçüldü. Serum amiloid A seviyeleri Nefelometre BNII (Siemens, Almanya) kullanılarak ölçüldü. Toksin izolasyonu için kan serumu, rumen içeriği ve silaj numuneleri Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsüne gönderildi.

İstatistik Windows SPSS 20 programı kullanılarak yapıldı.

### BULGULAR

#### Klinik Bulgular

Botulismuslu grupta anoreksi, iştahsızlık, topallık, dilde tonus kaybı, dilin dışarı çıkması, kuyruk tonusunda azalma, sallantılı yürüyüş, topallık, yatalaklık, ön ve arka bacaklarda paraliz, bazılarında başını göğüs üzerine dayayarak yerde yatma ve ölüm gözlemlendi.



**Resim.** Botulismuslu inekler

### Biyokimyasal Bulgular

Botulismuslu grupta serum amiloid A, kolinesteraz, albumin, total protein, total bilirubin ve SDH normal çıkarken ( $P>0.05$ ), üre ve GGT ( $p<0.05$ ) kontrol grubuna göre düşük çıktı.

**Tablo.** Botulismuslu ve sağlıklı ineklerde kolinesteraz, serum amiloid A ve biyokimyasal parametreler

Parametreler	Sağlıklı inekler (n=6)	Botulismuslu inekler (n=10)	P Values
Kolinesteraz/ChE (U/L)	156,66±31,17	128,20±21,14	P>0.05
Serum Amiloid A (SAA) (µg/ml)	4,50±0,90	5,10±1,22	P>0.05
Total Protein (g/dL)	7,91± 0,22	8,60±0,39	P>0.05
Albumin (g/dL)	3,76±0,61	3,46±0,17	P>0.05
Total Bilirubin (mg/dL)	0,21±0,07	0,12± 0,00	P>0.05
Üre (mg/dL)	61,33±1,42	38,30±2,62	P<0.05
SDH (ng/ml)	12,03±1,73	6,72± 1,67	P>0.05
GGT (U/L)	54,83±4,82	17,10±2,34	P<0.05

### Fare İnokulasyon Testi

Botulismuslu hayvanların kan serumlarından ve silajdan fare inokulasyon testi yapılarak *Clostridium botulinum* tip C ve tip D toksini tespit edildi.

### TARTIŞMA

Yemin toprakla karışması, tavuk artıklarının yemle kullanılması, depolama ve silaj tekniklerine dikkat edilmemesi, silajda botulismus toksinlerinin oluşmasına neden olabilir<sup>1,20,21</sup>. Sığırlarda genellikle Tip C, D ve nadir olarak da Tip B toksinlerinin alınmasıyla toksikasyon oluşmaktadır<sup>1,20,21</sup>. Bu çalışmada botulismuslu ineklerin kan serumlarında ve silajda *Clostridium botulinum* tip C ve D toksini tespit edildi.

Botulismusdan etkilenen ineklerde anoreksi, iştahsızlık, azalmış rumen kontraksiyonları, başın öne eğik olarak tutulduğu, kulak ve göz kapaklarında düşme, dil, yanak ve yutak kaslarının felcine bağlı olarak çiğneme ve yutma güçlüğü, bacaklardaki kas felcine bağlı olarak sallantılı yürüyüş, topallık, kuyruk tonusunda azalma, ilerleyen genel paralize bağlı yatalaklık, bazılarında başını göğüs üzerine

dayama, ataksi ve ölüm görülür<sup>4,5,6,7,21</sup>. Araştırmamızda botulismuslu hayvanlarda anoreksi, iştahsızlık, topallık, dilde tonus kaybı, dilin dışarı çıkması, kuyruk tonusunda azalma, sallantılı yürüyüş, topallık, yatalıklık, ön ve arka bacaklarda paraliz, bazılarında başını göğüs üzerine dayayarak yerde yatma ve ölüm gözlemlendi.

Akut faz proteinleri ve oksidanların, enfeksiyon, yangı, doku yaralanması, karaciğer yağlanması, abomasum deplasmanları, paraziter hastalıklar, diabet, zehirlenmeler, neoplastik büyüme veya immünojenik bozukluklar sonucu yükseldiğini bildirmişlerdir<sup>4,13-19</sup>. Bu çalışmada botulismuslu ineklerde serum amiloid A'nın hafif yükseldiği fakat anlamlı çıkmadığı tespit edildi.

Botulismuslu sığırların kan serumlarında yapılan bir çalışmada, BUN, GGT, ALP ve ALT normal sınırlarda çıkarken AST'nin arttığını bildirmişlerdir<sup>5</sup>. Botulismuslu ineklerde sağlıklılara göre AST seviyesinin yükseldiğini tespit etmişlerdir<sup>6,7</sup>. Botulismuslu ineklerde yapılan bir çalışmada, AST enzimi normal sınırlarda çıkarken ALT enzimini düşük bulmuşlardır<sup>4</sup>. Botulismuslu hayvanlarda serum üre ve BUN değerini normal sınırlarda olduğunu bildirmişlerdir<sup>5,6,7</sup>. Yapılan bir çalışmada botulismuslu hayvanlarda albumin, total protein ve total bilirubin değerleri normal sınırlarda çıkmıştır<sup>4</sup>. Bu çalışmada botulismuslu ve sağlıklı ineklerde, serum albumin, total protein, total bilirubin ve SDH önemli bir değişiklik göstermezken, botulismuslu ineklerde üre ve GGT düşük çıktı.

İnsanlarda karaciğer hastalıklarında serum psödokolinesteraz aktivitesinin azalmış olduğu ve iyileşme sürecinde karaciğer enzimlerinin azalırken ters orantılı olarak psödokolinesteraz arttığı belirlenmiştir<sup>8</sup>. Düşük psödokolinesteraz seviyeleri nedeninin de karaciğer fonksiyonlarının azalması ile ilişkili olduğu belirtilmektedir<sup>8</sup>. Diabetik ketoasidozis vücutta artmış yangısal cevaba ve oksidatif strese neden olduğu belirlenmiş ve diabetik ketoasidozis olan insanların serum psödokolinesteraz seviyeleri anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur<sup>9</sup>. Kırk adet Nubian keçisinde normal psödokolinesteraz seviyeleri belirlenmiş ve daha sonra topikal olarak fenthion uygulandığında psödokolinesteraz seviyelerinde önemli düşüş gözlenmiştir<sup>22</sup>. Botulismuslu ineklerde yapılan bir çalışmada, serum psödokolinesterazın sağlıklı hayvanlara göre azaldığını tespit etmişlerdir<sup>4</sup>. Sığır, deve, keçi ve koyunların plazmalarında ve karaciğerlerinde üç farklı çeşit kolinesteraz aktivitesi ölçülmüş ve sonuçta en yüksek kolinesteraz aktivitesinin keçilerde en düşük aktivitenin ise develerde olduğu belirlenmiştir<sup>11</sup>. Asetilkolinesteraz karaciğerde üretilir ve karaciğer dejenerasyonlarında kandaki seviyesi azalmaktadır<sup>10</sup>. Karaciğerin işlevselliği ve parametrelerin kritik eşik değerleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, kolinesteraz değerini ketozisli ineklerde kontrol

grubuna göre düşük bulmuşlar ve yaptıkları çalışma sonucunda kolinesterazın karaciğer fonksiyonlarını denetleme ve ketozis riskinin tahmininde faydalı olabileceğini bildirmişlerdir<sup>23</sup>. Klinik ketozisli ineklerde asetilkolinesteraz düzeyinin kontrol grubuna göre önemli derecede düşük olduğunu gözlemişlerdir<sup>24</sup>. Bu çalışmada botulismuslu ineklerde kolinesterazın sağlıklı ineklere göre azaldığı fakat anlamlı çıkmadığı tespit edildi.

## SONUÇ

Sonuç olarak botulismuslu ineklerde özellikle kolinesterazın formları olan asetilkolinesteraz ve psödokolinesterazın araştırılması botulismusun fizyopatolojisine ve prognozuna faydalı olabileceği sonucuna varıldı.

## KAYNAKLAR:

- Braun U, Feige K, Schweizer G, Pospischil A. Clinical findings and treatment of 30 cattle with botulism. *The Veterinary Record*, 2005; 156, 438-441.
- Stöber M. In "Auswertung und Umsetzung der Untersuchungsbefunde", Ed., GH Dirksen, D Gründer, M Stöber. Die klinische Untersuchung des Rindes, 3th ed. 1990; 647-662, Verlag Parey, Berlin.
- Burgen ASV, Dickens F, Zatman LJ. Action of botulinum toxin on the neuromuscular junction. *J Physiol*, 1949; 109, 10-24.
- Aytekin İ, Kaya F, Atalay H. Evaluation of serum haptoglobin, ceruloplasmin and pseudocholinesterase levels in cows with Botulism. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2016; 22, 367-371.
- Duru SY, Şahal M, Beşkaya A, Gazyağcı S. Investigation of Botulism Cases in a Cattle Herd in Bolu Province, Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. 2016; 11,3, 332-338.
- Şentürk S, Cihan H. Outbreak of botulism in a dairy herd in Turkey. *Irish Veterinary Journal*. 2007; 60, 481-484.
- Çatık S, Akgül G, Mecitoğlu Z, Şentürk S. Bir Süt Sığır İşletmesinde Botulismus. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2013; 32, 53-56.
- Ogunkeye O, Roluga AI. Serum cholinesterase activity helps to distinguish between liver and non liver disease aberration in liver function tests. *Pathophysiology*. 2006;13, 91-93.
- Omu AE, Al-Azemi MK, Omu FE, Fatinikun T, Abraham S, George S, Mahnazhath N. Butyrylcholinesterase activity in women with diabetes mellitus in pregnancy: Correlation with antioxidant activity. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2010; 30, 122-126.
- Stojević, Z, Piršljina J, Milinković-Tur S, Zdelar-Tuk M, Ljubić B. Clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. *Veterinarski Arhiv*. 2005; 75, 67-73.
- Qarawi AA, Ali BH. Variation in the Normal Activity of Esterases in Plasma and Liver of Camels (*Camelus dromedarius*), Cattle (*Bos indicus*), Sheep (*Ovis aries*) and Goats (*Capra hircus*). *Journal of Veterinary Medicine*, 2003; A 50, 201-203.
- Kaplay SS. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase of developing human brain. *Biology of the Neonate*. 1976; 28, 65-73.
- Aytekin İ, Onmaz AC, Ulucan A, Alp H. Effects of accidental ammonium sulphate poisoning on antioxidant / oxidant status in lambs. *Revue De Medecine Veterinaire*, 2011; 162, 7, 346-351.
- Öztürk AS, Aytekin İ, Özsoy ŞY, Öztürk OH, Altuğ N, Yılmaz N. Effects of caffeic acid phenethyl ester on oxidative stress,

15. hystopathology and some biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Turkish Journal of Biochemistry*. 2015; 40,2, 149-156.
16. Aytekin İ, Aksit A, Sait A, Kaya F, Aksit D, Gokmen M. Evaluation of oxidative stress via total antioxidant status, sialic acid, malondialdehyde and RT-PCR findings in sheep affected with bluetongue. *Veterinary Record Open*. 2015;2,1, e000054.
17. Mamak N, Devrim AK, Aksit H, Aytekin İ, Yıldız R. Levels of antioxidant substances, acute phase response and lipid peroxidation in the left and right abomasum displacement in cows. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2013; 16, 4, 731-733.
18. Aytekin İ, Onmaz AC, Ulucan A, Alp H. Effects of accidental ammonium sulphate poisoning on antioxidant / oxidant status in lambs. *Revue De Medecine Veterinaire*, 2011; 162, 7, 346-351.
19. Küçükkurt İ, Ciğerci İH, İnce S, Kozan E, Aytekin İ, Eryavuz A, Fidan AF. The Effects of Babesiosis on Oxidative Stress and DNA Damage in Anatolian Black Goats Naturally Infected with *Babesia ovis*. 2014; *Iranian J Parasitol*, 9, 1, 90-98.
20. İnce S, Küçükkurt İ, Aytekin İ, Bacak E. Short-term effect of deltamethrin treatment on oxidative stress biomarkers in anatolian water buffaloes. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2010; 5, 4, 266-270.
21. Gerlach T. Botulismus bei einer Golden-Retriever- Hündin. *Tierärztliche Praxis*, 2007; 35, 37-40.
22. Van der Lugt JJ, De Wet SC, Bastianello SS, Kellerman TS, Van Jaarsveld LP. Two outbreaks of type C and type D botulism in sheep and goats in South Africa. *The Journal of the South African Veterinary Association*. 1995; 66, 77- 82.
23. Fuentes VO, Fuentes PI. Butyrylcholinesterase Levels in Nubian and Saanen Goats in the Highlands of Mexico: Effect of Organophosphate Fenthion After Topical Application. *Journal of Veterinary and Animal Advances*. 2006;11, 278-881.
24. Sun Y, Wang B, Shu S, Zhang H, Xu, C, Wu, L, Zia C. Critical thresholds of liver functions parameter for prediction in dairy cows using receiver operating characteristic (ROC) analysis. *Veterinary Quarterly*. 2015; 35, 3, 159-164.
25. Simonov M, Vlizlo V. Some Blood Markers Of The Functional State Of Liver In Dairy Cows With Clinical Ketosis. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 2015; 18, 1, 74-82.