



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VETERİNER) ANABİLİM DALI

PARATÜBERKÜLOZLU SIĞIRLARDA AKUT FAZ PROTEİNLERİ DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Utku DURAN

Samsun
Temmuz - 2016



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOKİMYA (VETERİNER) ANABİLİM DALI

PARATÜBERKÜLOZLU SIĞIRLARDA AKUT FAZ PROTEİNLERİ DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Utku DURAN

Danışman
Prof.Dr. Sena ÇENESİZ

Samsun
Temmuz-2016

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Utku DURAN tarafından Prof.Dr. Sena ÇENESİZ danışmanlığında hazırlanan “Paratüberkülozlu Sığırlarda Akut Faz Proteinleri Düzeyinin Belirlenmesi” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından /..... /..... tarihinde yapılan sınav ile Biyokimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

..... / /.....

Doç. Dr. Aydın HİM
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana ışık tutan çok değerli hocam Veteriner Biyokimya Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi; Prof. Dr. Sena ÇENESİZ hocam başta olmak üzere, Eğitimim süresince yardım ve desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. Ali ERTEKİN, Prof. Dr. Gül Fatma YARIM, Doç. Dr. Cevat NİSBET ve Doç. Dr. Gülay ÇİFTÇİ'ye çok teşekkür ederim.

Ayrıca yüksek lisans eğitimimi almamı ve bu yolda yılmadan devam etmemi teşvik eden Fizyoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Metin ÇENESİZ ve Histoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Şerife TÜTÜNCÜ hocalarımıza, Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü sağlık personeli Veteriner Hekim sayın Yunus Kılıçoğlu'na teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez PYO. VET. 1904.13.005 nolu proje ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler (BAP) birimi tarafından desteklenmiştir.

Bu meşakkatli yola çıkmam da bana cesaret veren ve her zaman yanımda olarak desteğini asla esirgemeyen sevgili eşim Sevtap DURAN ve canım oğlum Umut Ege DURAN'a teşekkür ederim.

ÖZET

PARATÜBERKÜLOZLU SIĞIRLARDA AKUT FAZ PROTEİNLERİ DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

Amaç: Paratüberküloz, sığırlarda vücut ağırlığında azalma, süt üretiminde düşme, gebelik oranında azalma gibi birçok neden ile ekonomik kayıplar meydana getirmektedir. Bu hastalığın teşhisi hem ekonomik hem de halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. Ancak bu hastalığın teşhisinde kesin bir yöntem bulunmamaktadır. Bu çalışmada, serolojik olarak tespit edilen paratüberkülozlu sığırlarda akut faz proteinlerinden, serum haptoglobulin (Hp), serum amiloid A (SAA), seruloplazmin (Cp), C reaktif protein (CRP), albümin ve total protein (Tp) düzeylerindeki değişikliklerin tespiti amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Çalışmada 30 adet paratüberküloz pozitif sığır test grubunu ve 30 adet sağlıklı sığır kontrol grubunu oluşturdu. Paratüberküloz serolojik teşhis için ELISA (IDEXX Paratuberculosis Screening ab test) kullanıldı. Gruplardan alınan kanların serumlarında akut faz proteinlerinden SAA, Hp, CRP, Cp, albümin ve Tp düzeylerine bakıldı.

Bulgular: Yapılan analizler sonucunda SAA ($p<0.001$), Hp ($p<0.001$), CRP ($p<0.01$) ve Cp ($p<0.001$) düzeylerinde paratüberkülozlu sığırlarda sağlıklı sığırlara göre artış gözlemlendi. Albumin ($p<0.001$) ve Tp ($p<0.001$) düzeylerinde ise sağlıklı sığırlara göre azalma tespit edildi.

Sonuç: Paratüberkülozlu sığırlarda akut faz proteinlerinden SAA, Hp, CRP ve Cp serum düzeyinde artma, serum albümin ve total protein düzeyinde azalma görüldü. Sonuçlar akut faz proteinlerinin ölçülmesi sığır sağlığının değerlendirilmesi konusunda yararlı olabileceğini düşündürdü.

Anahtar Kelimeler: Akut faz protein; *Mycobacterium paratuberculosis*; paratüberküloz; sığır

Utku DURAN, Yüksek Lisans Tezi

Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Temmuz-2016

ABSTRACT
DETERMINATION OF ACUTE PHASE PROTEIN LEVELS IN CATTLE
WITH PARATUBERCULOSIS

Aim: Paratuberculosis leads to economic losses due to loses body weight, decrease in milk yield and fertility problems. Diagnosis of this disease is of great importance for both economic and public health. However, there is a definite method for the diagnosis of this disease. In this study, serologically in tagged paratuberculosis in cattle detection of acute phase proteins from serum haptoglobin (Hp) , Serum amyloid-A (SAA), ceruloplasmin (Cp), C-reactive protein (CRP), albümin (alb) and total protein (TP) is intended to identify changes in the level.

Material and Method: In study, 30 paratuberculosis positive cattle formed test group and 30 healthy cattle formed control group. Serologically diagnosis for paratuberculosis used ELISA (IDEXX Paratuberculosis screening ab test). SAA, Hp, CRP, Cp, albumin and Tp of acute phase proteins level were measured for each blood sample for all of groups.

Results: All analysis of results showed that SAA ($p<0.001$), Hp ($p<0.001$), CRP ($p<0.01$) ve Cp ($p<0.001$) level was higher in cattle with paratuberculosis than in healthy cattle. The significant decrease in the levels of total protein and albümin in cattle with paratuberculosis ($p<0.001$).

Conclusion: While in cattle with paratuberculosis an increase in the levels of acute phase proteins such as serum SAA, Hp, CRP and Cp was showed, albümin and total protein levels decreased. It was considered that the measurement of acute phase proteins was useful in the evaluation of health in cows.

Keywords: Acute phase protein; bovine; *Mycobacterium paratuberculosis*; paratuberculosis

Utku DURAN, Master Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, July - 2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

AGP	: Alfa 1 Asit Glikoprotein
APP	: Akut faz proteini
BJD	: Bovine Johne's Disease
Cp	: Seruloplazmin
CRP	: C Reaktif Protein
Hp	: Haptoglobin
LBP	: Lipopolisakkarid bağlayıcı protein
MAP	: <i>Mycobacterium avium spp. paratuberculosis</i>
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAA	: Serum Amiloid A
Tp	: Total Protein

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Sığırlarda Paratüberküloz	2
2.1.1. Etiyoloji	2
2.1.2. Epidemiyoloji	2
2.1.3. Bulaşma Yolları ve Klinik Bulgular	3
2.1.4. Halk Sağlığı Açısından Önemi	4
2.1.5. Diagnostik Testler.....	5
2.1.6. Kültür veya Mikrobiyolojik Olarak Organizmanın Tespiti.....	5
2.1.7. Serolojik Testler	6
2.1.8. İmmunite Testleri	7
2.2. Akut Faz Proteinleri	7
2.2.1. Akut Faz proteinlerinin Klinik Önemi	7
2.2.2. Sığırlarda Önemli Akut Faz Proteinleri.....	8
2.3. Pozitif Akut Faz Proteinleri	9
2.3.1. Haptoglobin	9
2.3.2. Serum Amyloid – A	9
2.3.3. Seruloplazmin	9
2.3.4. Fibrinojen	10
2.3.5. C-Reaktif Protein	10
2.3.6. Alfa 1 Asit Glikoprotein (AGP)	10
2.4. Negatif Akut Faz Proteinleri	11

2.4.1. Albümin	11
3. MATERYAL VE METOT	12
3.1. Hayvan Materyali	12
3.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler	12
3.3. Sığırlarda Paratüberküloz Teşhisi.....	12
3.4 Akut Faz Proteinlerinin Analizi.....	13
3.4.1. Serum Amiloid-A Miktarının Belirlenmesi	13
3.4.2. Serum Haptoglobin Miktarının Belirlenmesi	14
3.4.4. Serum Seruloplazmin Miktarının Belirlenmesi	15
3.4.5 Serum Total Protein ve Albümin Miktarlarının Belirlenmesi	16
3.5. İstatistikî Hesaplamalar.....	16
4. BULGULAR	17
5. TARTIŞMA	21
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	25
KAYNAKLAR	26
ÖZGEÇMİŞ.....	32

1. GİRİŞ

Mycobacterium avium spp. paratuberculosis (MAP) çoğu ülkede sığırlarda gastrointestinal sistemde kronik granülomatoz enfeksiyon olan Johne hastalığına sebep olmaktadır (Hermon-Taylor, 2001; Kennedy ve ark., 2001). MAP birçok hayvan türünde hastalığa neden olmasına rağmen hastalığın mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (Schleig ve ark., 2005). Paratüberkülozun sığırlarda teşhisi kesin bir şekilde yapılamamaktadır. En çok kullanılan yöntem ELISA yöntemidir. Ancak bu yöntemde dezavantajları mevcuttur. Bunun için teşhisin doğruluğunu arttıracak alternatif yöntemler aranmaktadır. Akut faz proteinleri, cerrahi travma, stres, inflamasyon, enfeksiyon ve bakteriyel artışa karşı sınırlayıcı etki gösteren ve hemostasisi sağlayan kan proteinlerinin bir grubudur. Serum akut faz protein miktarlarında artış veya azalma birçok hastalıkta görülmektedir (Murata ve ark., 2004). Bu değişimlerin paratüberküloz hastalığında da var olup olmadığı varsa değişimin hangi yönde olduğunun bilinmesi hastalığın diagnozu ve kontrolünde de etkili olacaktır. Sığırların kanında da bu akut faz proteinlerinin miktarının değişmesi beklenmektedir. Paratüberkülozlu sığırlarda akut faz proteinlerindeki değişimlerin bilinmesi bu hastalığın diagnozunda ve kontrolünde yararlı olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sığırlarda Paratüberküloz

2.1.1. Etiyoloji

Hastalığın etkeni *Mycobacterium avium* spp. *Paratuberculosis*'tir (MAP); gram (+), sporsuz, aerobik, kuvvetli asido-rezistans özelliğindedir (Batmaz, 2016). MAP rutubetli ortamları sever ve dış ortamda uzun süreler yaşayabilir. Etken, suni gübre olarak kullanılan sıvılaştırılmış sığır atıklarından olduğu gibi, su ve dışkıda 250 gün ya da daha fazla süreyle izole edilebilir (Songer ve Post, 2005). -14 °C'de en az bir yıl canlı kalabilmektedir (Baumgartner ve Khol, 2006). MAP'ın bazı şuşları özellikle bazı konakçıları enfekte etmektedir. Fragment uzunluğunu ile ayrılabilen iki ana tipi vardır. Bunlar tip II ve C şuşlarıdır ve sığırlarda, keçilerde, develerde ve hem ruminant hem de ruminant olmayan vahşi hayvanlarda bulunur. S şuşu genellikle koyunları ve diğer küçük ruminantları enfekte ettiği görülmesine rağmen kırmızı geyik gibi diğer türleri de enfekte edebilir (Harris ve Barletta, 2001).

Üretimde azalma ve hayvanları erkenden sürüden çıkarma nedeniyle, süt sığırı endüstrisinde dünya çapında büyük ekonomik etki yaratan hastalık, enteritin şiddetli bir formudur (Songer ve Post, 2005). Paratüberkülozis sütçü sığır yetiştiriciliğinin en yaygın ve maliyetli hastalıklardan bir tanesidir. Et ve et ürünleri sanayisini de etkiler. Klinik paratüberkülozun nihai sonucu ölüm olmasına rağmen subklinik paratüberkülozlu sığırlarda üretiminde düşme, fertilité, mastitis ve diğer hastalıklara karşı hassasiyette artış görülür. Ekonomik kayıplar düşmüş süt üretimi, kesim kalitesinde düşme, veteriner tedavi masraflarında artış, hastalık kontrol programlarının masrafında artıştan kaynaklanır (Baumgartner ve Khol, 2006).

2.1.2. Epidemiyoloji

Paratüberküloz dünya genelinde yaygın olarak bulunmakla birlikte sadece Avustralya'nın bazı eyaletlerinde hastalıktan arı olan bölgeler olduğu kanıtlanmıştır. Hastalığa ayrıca sığırların Johne hastalığı veya BJD de denmektedir. (Collins ve Manning, 2005). Paratüberküloz yayılımı özellikle fekal-oral yolla meydana gelir. Klinik olarak etkilenmiş hayvanlar çok fazla miktarda organizmayı dışkı ile atarlar ve ciddi şekilde çevreyi kontamine ederler. Genç hayvanlar, yem, inek memesi ve çevreden fekal kontaminasyona maruz kalırlar. Fekal-oral yol kontaminasyonun en

fazla meydana geldiği yöntem olmasına rağmen diğer metodlar bazı durumlarda da önemli olabilmektedir. MAP'ın süt ve semen yoluyla atılması bulaşmanın önemli yollarındandır. Ayrıca, fetusun intrauterin enfeksiyonu da meydana gelebilmektedir. Enfekte ineklerin klinik bulguları gösterdiği veya ilerlemiş paratüberküloz durumlarında bu yollar ile bulaşmanın meydana geldiği görülmektedir (Lambeth ve ark., 2004). Araştırmacılar, sığırlarda paratüberküloz kaynağı için olası risk faktörlerini araştırmışlardır. Risk faktörleri, sürünün hacmi, sığırların yer değiştirmesi ve sürüye dışarıdan gelen ineklerin sayısı ve paratüberkülozun klinik bulgularının önceden görülme sıklığıdır (Hirst ve ark., 2004).

Etken koyun ve keçileri de enfekte eder. Klinik olarak genellikle 2-6 yaşında görülür. Enfeksiyon kaynağı dışının kontamine ettiği yem ve sular, enfekte olanların sütleri ve kontamine çevredir. Sığırlar klinik belirti göstermeden önce 15-18 ay kadar dışkıları ile etkeni saçabilirler. (Batmaz, 2016).

Türkiye'de Makav ve Gökçe (2013)'nin yaptığı çalışmalarda subklinik paratüberküloz Kars ili çevresinde %3,5 civarında bulunmuştur. Burdur'da bu oran %6,2 olarak bulunmuştur (Öztürk ve ark., 2010). Bu oranlara bakıldığında sığırlarda subklinik paratüberkülozun oranının yüksek olduğu görülmektedir.

2.1.3. Bulaşma Yolları ve Klinik Bulgular

Hasta hayvanların dışkıları ile bulaşık yem ve suyu, sağlıklı hayvanların tüketmesi hastalığın yayılmasındaki en önemli faktördür. Hasta hayvanlar klinik bulgu göstermeden dışkıları ile hastalık etkenini saçabilir ve bu süre hastalığın uzun inkübasyon periyodu sebebiyle 15 -18 ay kadar sürebilir. Klinik bulgu göstermeyen hayvanlarda; bakım - besleme hataları, gebelik ve yüksek süt verimi gibi stres faktörleri ve ayrıca uzun süreli uygulanan kortikoterapi sonucunda hastalığın klinik formu oluşabilir (Whipple ve ark., 1992). Hastalık etkeni dondurulmaya ve antimikrobiyalere karşı son derece dirençli olan etken enfekte boğaların semenlerinden de izole edilmiştir. Son yıllarda intrauterin bulaşmanın da söz konusu olabileceği üzerinde durulmaktadır (Smith, 2001).

Hastalığı 4 dönem olarak incelemek mümkündür;

Sessiz dönem:

Bu dönem 2-10 yıl gibi uzun bir süre devam edebilir. Hasta hayvanlar genellikle buzağıyken enfekte olmuşlardır. Hastalık etkeni jejunum ve ileum

mukozasında yavaşça proliferer olur ve oradan bölgesel lenf yumrularına dağılır. Etken sindirim kanalındaki dokuların postmortem mikroskopik incelenmesinde görülmeyebilir. Bu dönemde hastalığın tespiti dışkı kültüründe dahi zordur ancak yine de yalnızca doku kültürlerinde etken tespit edilebilir. (Whipple ve ark., 1992).

Sub-klinik hastalık dönemi:

Kilo kaybı ve ishal bu evrede görülmez ancak T hücrelerinin M.ptb antijen cevabı ve gamma interferon seviyesinin yükselmesine bağlı olarak immün yanıtta değişimler oluşmaktadır (Stricklands ve ark., 2005). Subklinik evredeki bazı hastaların dışkı kültürü pozitif olarak bulunabilir. Hastalar dışkıları ile enfeksiyonu çevreye yayarak tüm sürünün enfekte olmasına neden olabilirler. Bu dönem enfekte hayvanın immün durumuna ve etkenin yoğunluğuna bağlı olarak birkaç yıl sürebilir (Whipple ve ark., 1992).

Klinik Form:

Klinik bulgular bu dönemde şekillenir ve bu evredeki enfekte hayvanlarda iştah normal olmasına rağmen şiddetli kilo kaybı ve ishal görülür. Kalp ve solunum frekansları normal sınırla içerisinde olup intermitent ishal genellikle birkaç hafta devam eder. Bu evredeki birçok hastanın dışkı kültürü, serum ELISA ve AGID testleri pozitifdir (Whipple ve ark., 1992).

İlerlemiş Klinik Form:

İlerlemiş safhadaki hastalar güçsüz ve aşırı zayıflamış durumdadırlar ve bu hayvanlarda genellikle şiddetli ishal görülür. Bu dönemde çene altı ödem görülmesi karakteristiktir. Hayvanlar ikinci dönemden dördüncü döneme haftalar içinde geçebilirler. Bu dönemde hayvanın durumu hızla kötüleşir ve hipoproteinemi şekillenir. Ölüm şiddetli dehidrasyon ve kaşeksinin sonucu olarak meydana gelir. Belirtilen patolojik değişimle hastalığa karakteristiktir ancak tanı amaçlı kullanılamaz (Blood ve ark., 2000).

2.1.4. Halk Sağlığı Açısından Önemi

MAP sığırlarda paratuberküloza, diğer adıyla Johne hastalığına sebep olan ve insanlardaki Crohn hastalığı ile ilişkilendirilen bir patojendir (Riis ve ark. 2005; Pickup ve ark. 2005). Crohn hastalığı, gastrointestinal sistemin tümünü etkileyebilen granülomatoz enterokolitis olarak da bilinen kronik iltihabi bir hastalıktır. Semptomları iştahsızlık, kusma, ishal ve karın ağrısıdır (Arslan, 1996; Selby, 2000). Son yıllarda

hastalığın insidensinde ciddi artışlar görülmüştür (Harris ve Lammerding, 2001). MAP günlük sütlerde, içme suyu, çeşitli gıda kaynakları ve karkasta izole edilmiştir. Bu nedenle insanların da MAP' a kolaylıkla maruz kalabileceği bildirilmiştir (Beumer ve ark 2010, Meadus ve ark. 2008).

2.1.5. Diagnostik Testler

Paratüberkülozun teşhisinde kesin bir metod bulunmamaktadır. En basit yöntem dışkıdan alınan örnekler Ziehl-Neelsen tekniği ile boyanması şeklindedir. Kesin teşhisi mikroorganizmanın izolasyonu ile olmaktadır. İnkübasyon süresinin çok uzun olması (3 ay kadar) subklinik enfeksiyonların teşhisindeki başarısızlığından dolayı kültür metodu sınırlı kalmaktadır. PCR yüksek hassasiyete ve özgüllüğe sahiptir. Bu testlerin dışında agar gel immübdiffüzyon, ELISA, komplement fiksasyon test gibi serolojik testlerden ve avian tüberkülin gibi diğer testlerden yararlanılmaktadır. Ancak bu serolojik ve immünolojik testlerin çoğu, yanlış negatif ve pozitif sonuçlar verdiği için, bu testlerin tanı amaçlı kullanımı sınırlıdır (Eskizmirliler, 2011).

2.1.6. Kültür veya Mikrobiyolojik Olarak Organizmanın Tespiti

Bakteriyolojik inceleme: Günümüzde kullanılan en gerçekçi tanı metodu dışkı kültürüdür. Hastalığın görüldüğü sürülerde, klinik bulguların görüldüğü veya görülmeyip etkeni taşıyan hayvanların tespiti açısından değerli bir metottur. Testin spesifitesi ve duyarlılığı %100' dür (Muskends ve ark., 2003).

Ziehl-Nielsen ile boyanmış dışkı frotilerinin incelenmesi: Dışkı kültürü metoduna ciddi bir alternatif oluşturmaktadır. Asit-fast mikroorganizmaların oluşturduğu kümelenmelerin bir saat içerisinde görüntülenmesi sağlanabilmektedir. Buna karşın mikroskopik incelemenin hassasiyeti ve spesifitesine daima şüphe ile yaklaşmaktadır. MAP' in dışkıda bulunan diğer asit-fast mikroorganizmalarından ayırt edilebilmesi oldukça güç olabilmektedir. Bu nedenle birkaç farklı frotilerin hazırlanıp incelenmesi doğru teşhis açısından büyük önem taşımaktadır (Muskends ve ark., 2003).

Genetik Prob: MAP' in polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile aranmasında IS900' ün çoğaltılmasına dayalı yöntem hızlı sonuçlar almaya izin verir bu sayede dışkı örneklerine alternatif oluşturur (Juste ve ark., 2005).

Süt Kültürü: Hastalığın 2. döneminde olan sub-klinik hayvanların sütlerinden organizmanın kültürü elde edilebilir (Paolichii ve ark., 2003). Süt hastalığının yayılmasında önemli bir kaynaktır (Blood ve ark., 2000).

Biyopsi: Organ kültürleri orta jejunum, üst ileum, orta ileum, düşük ileum ve kolondan hazırlanmaktadır. Bu metot spesifitesi oldukça yüksek bir metottur. Enfekte hayvanların erken teşhisi bu yöntemin avantajı iken, gerekli olan cerrahi müdahale yöntemin dezavantajıdır (Schleig ve ark., 2005).

2.1.7. Serolojik Testler

Komplement Fiksasyon Testi (CFT): Hayvan nakilleri sırasında birçok ülke CFT testinin negatif olmasını istemektedir. Sığırlarda hastalığın teşhisinde en çok kullanılan metot günümüze kadar CFT idi. Birçok ülke hayvan nakilleri sırasında CFT testlerinin negatif olmasını aramaktadır. Klinik hastalıkta CFT' nin tanısallık hassasiyeti % 90, spesifitesi % 70 olarak belirlenmiştir (Benedictus ve Kalis, 2003).

Agar Gel Immunodiffusion (AGID): Hastada klinik formun görüldüğü 3. dönemde hastalığın teşhisi için uygun bir test olarak görülmektedir. Hastalığın 2. döneminde sub-klinik formda ise testin hassasiyeti dışkı kültürünün hassasiyetine göre ancak üçte biri kadardır. Sonuçlar 48 saat içerisinde alınabilir, hızlı ve düşük maliyetlidir (Botcherr ve Gangl, 2004).

Enzyme-linked Immunosorbent assays (ELISA): Hastalığın 2. döneminde sub-klinik enfekte hayvanların tespiti açısından diğer testlerle kıyaslandığında en güvenilir serolojik test ELISA olarak görülmektedir. Toplam test süresi iki saate kadar indirgenmiştir (Stricklands ve ark., 2005). CFT ve ELISA karşılaştırılmış hastalığın sub-klinik döneminde CFT % 57, ELISA % 60'ını tespit edebilmiştir. (Jubb ve ark., 2004). ELISA klinik vakaların % 88' ini doğru tespit ederken, CFT % 83'ünü tespit edebilmiştir. ELISA günümüzde MAP'a karşı oluşan spesifik antikorların tespiti ile paratüberkülozun teşhisinde kullanılan en yaygın yöntemdir. Genellikle kan örneklerinde kullanılmakla birlikte, sütte de teşhis amaçlı kullanılabilir. ELISA ile örnek analizleri hızlı ve kolay bir şekilde yapılabilir (Turancivelek, 2016).

2.1.8. İmmunite Testleri

Hastalığın dönemlerine ve şiddetine göre enfekte hayvanlarda humoral ve hücreyel düzeyde farklı yanıtlar gelişmektedir. MAP ekstraktları intradermal olarak enjekte edilen hayvanlarda gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonlarına neden olmaktadır. Erken immuno-diagnostik testler bununla sınırlıdır. Deri ve intravenöz johne's testlerinin, düşük spesifite ve duyarlılıkları sebebiyle günümüzde kullanılması tavsiye edilmemektedir (Blood ve ark., 2000).

2.2. Akut Faz Proteinleri

Akut faz reaksiyonu ya pozitif ya da negatif akut faz proteinleri olarak gruplandırılmış 200' den fazla protein değişimi ile sonuçlanabilir. Neredeyse tüm hayvan türlerinde, albümin majör negatif akut faz proteini olarak tanımlanır. Akut faz reaksiyonu boyunca kandaki düzeyi düşer. Pozitif akut faz proteinleri ise akut faz reaksiyonu boyunca kandaki düzeyi artır. Serum Amiloid-A, Haptoglobin, C-reaktif protein ve α 1-asit glikoprotein majör akut faz proteinlerindedir (Cray ve ark., 2009).

2.2.1. Akut Faz proteinlerinin Klinik Önemi

Akut faz proteinleri; yangılarda sistemik reaksiyonların korunması, birkaç patojenin opsiyonizasyonunu, potansiyel toksik yüzeylerin toplanması ve yangının değişik etaplarının regülasyonunda büyük rol oynarlar. Akut faz yanıt sırasında akut faz proteinlerinin serum konsantrasyonu düzeyi dramatik olarak değişmektedir (Petersen ve ark., 2004). Bu proteinlerin hastalık sırasında yangı öncesi kan serum konsantrasyonları % 25' den daha fazla değişebilir (Eckersall ve Bell, 2010).

Akut faz proteinleri; teşhis, prognozun belirlenmesi, tedaviye yanıtın takibi ve bunların yanında genel sağlık durumunun takibi amacıyla kullanılabilirler. Bu biyobelirteçler yangı sırasında yüksek seviyede sensitivite gösterirler ancak türlere özgüllüğü ve bazı türlerde yoksunluğu vardır. Türler arasında değişiklik göstermek şartıyla verdiği yanıtı göre majör, moderatör ve minör olarak adlandırılmaktadır (Eckersall ve Bell, 2010).

Akut faz proteinleri hepatositler ve periferel dokularda üretilir ve konsantrasyonu artıyorsa pozitif, düşüyorsa negatif olarak sınıflandırılabilir (Petersen ve ark., 2004).

Sığırlarda akut faz proteinlerinin ölçümü yakın geçmişte hızla artmıştır. Serum Amyloid – A, Haptoglobin, α 1 asit glikoprotein ve lipopolisakkarit bağlayıcı protein (LPS)' nin ölçümünün üç ana alanda kullanılması hedeflenmiştir. Bunlar; ilk olarak, enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıkların çalışmalarında araştırmacılar tarafından akut faz proteinlerinin raporlanması, ikinci olarak akut faz proteinlerinin yanıtının sığırlardaki özelliklerinin belirlenmesidir. Üçüncü ve son olarak enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıkların araştırılması ve raporlanması için akut faz proteinleri kullanılmıştır. Genellikle doğal bağışıklık sisteminin stimülasyonunun izlenmesi sırasında ve bazı vakaların deneysel tedavilerinde doğal bağışıklık sistemi ve akut faz yanıt aktive olmaz. Bu durum muhtemelen sığır akut faz proteinleri etkileşimi gibi gelecekte de genişleyecektir, hastalıkların erken teşhisinde ve homeostasisin oluşmasında kullanılabilir (Ceciliani ve ark., 2012).

Türlere göre Major ve Moderatör olan akut faz proteinleri aşağıdaki gibidir;

Tablo 1. Türlere göre Major ve Moderatör olan akut faz proteinleri (Cray ve ark., 2009).

Tür	Major AFP	Moderatör AFP
Kedi	SAA	AGP, Hp
Köpek	CRP, SAA	Hp, AGP
At	SAA	Hp
SİĞİR	Hp, SAA	AGP
Domuz	CRP, SAA	Hp

2.2.2. Sığırlarda Önemli Akut Faz Proteinleri

Akut faz reaksiyonu boyunca 200' ün üzerinde proteinin kandaki düzeyi değişim göstermektedir. Bu proteinlerden sığırlar için en önemlileri SAA, Hp, CRP, CP, Albümin' dir. Bunlardan albümin negatif akut faz proteini (Gruys ve ark., 2005; Cray ve ark., 2009).

2.3. Pozitif Akut Faz Proteinleri

2.3.1. Haptoglobin

Sağlıklı sığırların serumunda çok düşük miktarda bulunmaktadır. En önemli görevi kandaki serbest hemoglobinin demir ile bağlanmasını sağlayıp demir kaybını azaltmaktadır (Ceron ve ark., 2005). Serumda bulunan seviyesi sınırlıdır ancak meme bezlerinde patolojik durumlar oluşması, yangı ve *E. Coli* enfeksiyonları durumunda artış gözlenmiştir. (Hiss ve ark., 2004). Sığırlarda albümin ile polimerleşmiş olarak plazmada bulunurlar (Eckersall ve ark., 1990).

2.3.2. Serum Amyloid – A

Serum Amyloid – A veteriner sahada Hp kadar geniş uygulama alanı bulamamıştır. Bu durum muhtemelen SAA seviyesinin ölçümünün zorluğundan kaynaklanmış olabilir (Murata ve ark., 2004). Mastitisli ineklerde ve koyunlarda sütteki artışı tespit edilebilir. Bu amaçla meme kaynaklı Serum Amyloid – A3 ölçümleri yapılmaktadır (Akerstedt ve ark., 2007). Sığırlar üzerinde yapılan çeşitli araştırmalar, stresin de akut faz protein konsantrasyonu üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (Lomborg ve ark., 2008). Akut faz proteinlerinin hastalık haricindeki durumlarda da artış gösterebilir.

2.3.3. Seruloplazmin

Diğer akut faz proteinlerine göre veteriner kullanımda daha yaygın olarak teşhis amaçlı kullanılır. Karaciğerde sentezlenir ancak karaciğer dışındaki alanlarda da bulunur. Seruloplazminin en büyük kaynağı akciğerlerdeki hava yollarının epitel hücreleridir. Seruloplazmin endotel hücrelere bağlanarak nötrofillerin sayısında azalma sağlayıp, extraselluler peroksit toplayıcısı olarak antiinflamatuvar etki gösterebilir (Murata ve ark., 2004).

Buzağılarda salmonella enfeksiyonunun 4. gününde seruloplazmin düzeyi en yüksek seviyesine ulaşmaktadır. Seruloplazmin diğer akut faz proteinlerine göre daha az yaygın olarak teşhiste kullanılmaktadır. Fakat bazı araştırmalarda, bu ferrokسيدazin sığırlarda enfeksiyonun bir belirteci olarak değerlendirilmiştir. Buzağılarda Salmonellosis enfeksiyonunda Cp düzeyinin ilk üç gün arttığı ve dördüncü günde en yüksek seviyesine ulaştığı belirtilmektedir (Murata ve ark., 2004).

2.3.4. Fibrinojen

Akut faz proteinleri içerisinde cerrahi travmalara bağlı oluşan yangının, bakteriyel enfeksiyonların varlığını belirlemek amacıyla kullanılan en güvenilir Fibrinojendir. (Murata ve ark., 2004). Kronik hastalıklarda yüksek seyreder ancak akut doku travmalarında 3-4 gün içerisinde pik yapar ve sonra düşer. Enfeksiyöz, inflamatuvar, travmatik ve neoplastik olgularda artar. Seviyesinin artmasıyla hastalığın prognozu arasında direkt bir ilişki yoktur ancak serum fibrinojen konsantrasyonu 1000 mg/dl üzerine çıkması prognozun kötü olduğunu gösterir. Sığırlarda serumdaki konsantrasyonu 800 mg/dl üzerindeki artışlar inflamatuvar hastalıkların varlığını gösterir (Turgut, 2000).

Homeostazis, fibrin oluşumu için substrat sağlayıcı, doku onarıcı, pıhtı oluşturucu ve C3 komplement oluşturucu görevleri vardır. Doku onarıcı görevi yangı bölgesine yangısal kökenli hücrelerin göçü için ara yüzey sağlama amaçlıdır (Sevgisunar ve ark., 2014).

2.3.5. C-Reaktif Protein

C-reaktif protein insanlarında içerisinde olduğu birçok türde bulunur. Sağlıklı canlıdan alınan serumda bulunmamasına rağmen bir akut faz reaksiyonunun başlamasından sonra hızlı bir şekilde miktarı artarken CRP akut faz cevabın diagnostik belirteci olarak tanımlanır. Ancak, sığırın yanı sıra diğer ruminantlarda normal serumda olmasına rağmen bir akut faz reaktanı olarak ortaya çıkmamaktadır (Eckersall ve Conner, 1998).

İn vivo ve invitro yapılan çalışmalarda, CRP' nin canlıda patojen ve hasarlı hücrelere bağlanabildiği ve kandaki humoral ve hücrel efektör sistemleri etkileyerek, yabancı hücrelerin yok edilmesinin başlatılmasında rolü olduğu gösterilmiştir. CRP' nin fibronektin ve kromatine bağlanarak doku nekrozunda hasarlı kromatini yok ettiği bildirilmiştir. Enflamasyon sırasında CRP' nin karaciğerde sentezi artmaktadır ve enflamasyonlu bölgelerdeki hasarlı dokularda daha yoğun bulunmaktadır (Ay ve ark., 1998).

2.3.6. Alfa 1 Asit Glikoprotein (AGP)

Alfa 1 Asit Glikoprotein sağlıklı hayvanların meme bezlerinde sentezlenmektedir (Ceciliani ve ark., 2005; Buitenhuis ve ark., 2011). *S. Aureus*

enfeksiyonu sonrası patolojik koşullar halinde, APP sentezlenmesi farklı modeller gösterebilir (Whelehan ve ark., 2011). Glikan bileşimi akut faz cevap süresince değiştiği bilinmektedir. AGP' nin doğal bir antiinflamatuvar ve immunomodülatör ajan olduğu düşünülmektedir. AGP' ye kapılar permeabilitenin devamlılığı için gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca, AGP plazmada ilaçların bağlandığı önemli bir proteindir. Birçok türde ılımlı bir akut faz cevabı gösterir ve miktarında büyük bir ihtimal ile kronik bir durumun varlığıyla ilişkili olarak değişiklik meydana gelir (Tothova ve ark., 2014). AGP serum konsantrasyonu, enfeksiyöz peritonitisin belirlenmesinde diagnostik bir analit olarak kullanılır (Bence ve ark., 2005).

2.4. Negatif Akut Faz Proteinleri

2.4.1. Albümin

Albümin negatif akut faz proteinlerinden en majör olanıdır ve akut faz reaksiyonu sırasında serum düzeyi düşmektedir. Serumdaki düşüş ya renal veya gastrointestinal değişikliklerden kaynaklı albümin miktarındaki azalmayı ya da hepatik sentezindeki azalmayı gösterir (Cray ve ark., 2009). Albümin gibi negatif akut faz proteinlerinin sentezinin düşmesinin fizyolojik rolü genellikle pozitif akut faz proteinlerini daha etkili üretimi için aminoasitleri korumaktır (Ritchie ve ark., 1999). Dengesiz ya da yetersiz beslenme ve kronik enfeksiyonlarda pozitif akut faz değişkenlerinin cevabı yetersiz kalabilmektedir. Burada negatif akut faz proteinlerine bakılması doğru teşhisi yapmada yardımcı olabilmektedir. Kısmi olarak kan protein profilindeki değişimler açlık ve kas katabolizmasına bağlı değişebilir (Gruys ve ark., 2005). Genel sağlık değerlendirmelerinde total protein ve albümin sıklıkla otomatik kimyasal analiz eden cihazlarda ölçülür. İnsan ve hayvan tıbbında yangısal hastalıkları izlemek için genellikle albümin/globülin oranına bakılır (Cray ve ark., 2009). Serum proteinlerinin yarısını oluşturan albümin olduğu için diğer proteinlerin miktarı normal serum düzeyinde olsa bile albümin miktarındaki düşüş genellikle total protein miktarındaki düşüş ile ilişkilidir. Serum total proteinindeki düşme protein sentezindeki azalmayı veya protein kaybını gösterir (Berthof, 2014).

Bu çalışmada paratüberkülozlu ineklerin serumlarında akut faz proteinlerinden olan haptogloblin, seruloplazmin, serum amiloid-A, C-reaktif protein, albümin ve total protein miktardaki değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hayvan Materyali

Çalışmanın materyalini Samsun Bölgesi sığır işletmelerinden 2013-2014 yıllarında aseptik olarak alınan toplamda 400 adet sığır kanı oluşturmuştur. İşletmelerden alınan kan örnekleri 3000 g. de 10 dakika, +4 °C' de santrifüj edilip çalışma gününe kadar -80 °C' de saklanmıştır. Bu kan örneklerinde ELİSA testi ile 30 adetinde paratüberküloz pozitif sığır bulunmuş ve deneme grubumuzu oluşturmuştur. Sağlıklı ve klinik semptom göstermeyen sığırlardan ise kontrol grubumuzu oluşturmak amacıyla 30 adet serum alınmış ve ELİSA testi ile paratüberküloz negatif olduğu tespit edilmiştir. Çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 'Etik Kurul Yönergesi' uyarınca alınan 2013/25 sayılı etik kurul kararı esasına uygun olarak yürütülmüştür.

3.2. Kullanılan Cihazlar ve Malzemeler

Nüve santrifüj cihazı, Precisa LS 220 SCS hassas terazi, Nüve NS 112 distile su cihazı, derin dondurucu, MSI IKA vorteks, Autolab (AMS Srl) Autoanalyzer, spektrofotometre (Thermo Scientific™ Genesys 10S UV-Vis), ELISA okuyucu (DAS), nichipet EX, Isolab, Nichiryo ve Ependorf otomatik pipetler ve Audict marka otoanalizör kitleri kullanılmıştır.

3.3. Sığırlarda Paratüberküloz Teşhisi

Serum örnekleri paratüberküloz yönünden ticari antikor ELISA kiti (IDEXX *Mycobacterium paratuberculosis* Antibody Test Kit, Montpellier SAS, FRANCE) kullanılarak test edildi. İncelenecek serum örnekleri, pozitif ve negatif kontrol serumları steril U tabanlı bir mikropleyte kit içeriğinde bulunan Dilution Buffer No12 kullanılarak, toplam miktar 100 µl. olacak şekilde 1/20 oranında dilüe edilip oda ısısında mikropleyte shakerda 15 dk. inkübe edildi. Test kitlerinin ısıları oda ısısına ayarlandı. Yıkamalar için kullanılacak olan konsantre sıvılar 1/20 oranında sulandırıldı. Örneklerin ve pozitif-negatif kontrol serumlarının ön inkübasyonunun ardından tüm serumlar, tabanı *Mycobacterium paratuberculosis* antijeni ile kaplanmış 96 gözlü immunopleyt çukurlarına 100 µl. miktarında konuldu. Mikropleytler oda ısısında 45 dakika mikropleyte shakerda inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda mikropleytler

daha önceden dilüe edilen yıkama solusyonu ile 3 kez yıkandı. Anti-ruminanat HRPO konjugati Dilution Buffer No1 içinde 1/100 oranında sulandırılarak serumların bulunduğu mikropleytlerin her çukuruna 100 µl. miktarında eklendi. Mikropleytler oda ısısında tekrar 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda yıkama işlemi tekrarlandı. Mikropleytdeki her bir çukura TMB-substrate solüsyonu 100 µl. eklenip oda ısısında 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 100 µl. stop solusyonu ilave edilerek reaksiyona son verildi. Mikropleyt ELISA okuyucusuna (Mindray MR-96A) yerleştirilip her bir kuyucuğun optik dansitesi 450 nm. de belirlendi. Elde edilen her bir OD değerlerine karşılık gelen yüzde sonuç aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$\text{SONUÇ (\%)} = \frac{\text{OD}_{\text{örnek}} - \text{OD}_{\text{negatif}}}{\text{OD}_{\text{pozitif}} - \text{OD}_{\text{negatif}}}$$

Yukarıdaki formüle göre elde edilen sonuçlardan % 55 ve üzeri pozitif, % 45-55 arası şüpheli, % 45' den küçük olanlar negatif olarak değerlendirildi.

3.4 Akut Faz Proteinlerinin Analizi

SAA, Hp, CRP ticari ELISA test kitleri ile (Tridelta Development Ltd. Ireland, ELISA okuyucu DAS), Cp spektrofotometrik yöntem olan modifiye Ravin Metoduna göre ölçülmüştür (Thermo Scientific™ Genesys 10S UV-Vis.) Serumlarda albümin ve total protein miktarları kolorimetrik bir yöntem ile ticari test kitleri kullanılarak (Audit kit, Autolab AMS Srl, Autoanalyzer, Netherlands) otoanalizörde ölçüldü.

3.4.1. Serum Amiloid-A Miktarının Belirlenmesi

Ticari test kiti (Tridelta Development Ltd. Ireland Cat No: TP-802) kullanılarak serumda SAA miktarı ölçülmüştür.

Prensip: SAA' ya özel bir monoklonal antikor kuyucuklara tutturulmuş vaziyettedir. Bu kuyucuklara bilinen miktarda SAA içeren standartlar ve serum örnekleri eklendiğinde, SAA' lar spesifik monoklonal antikorlara bağlanırlar. Ardından kuyucuklara bir HRP işaretli anti-SAA konjugat antikorlar eklenerek 37 °C' de inkübe edilir. İnkübasyonun sonunda bağlanmayan materyali kaldırmak için kuyucuklar yıkanır. TMB bileşği eklenerek oluşan mavi rengin şiddetine göre SAA miktarı belirlenir.

Yapılışı:

1. antikor tutturulmuş kuyucuklara örnekler ve standartlar eklendi.
 2. Her kuyucuğa 50 µl Anti-SAA/HRP konjugat eklendi.
 3. 1 saat 37 °C' de inkube edildi.
 4. İnkübasyonun ardından yıkama solüsyonu ile bağlanmayan materyali kaldırmak için kuyucuklar yıkandı.
 5. sonrasında 100 µl TMB bileşiği eklendi ve 15 dakika oda ısısında beklendi.
 6. 100 µl durdurma solüsyonu eklenerek 450 nm'de absorbanları okutuldu.
- Hesaplanması: Örneklerdeki SAA miktarı çizdirilen standart eğriye göre hesaplanmıştır.

3.4.2. Serum Haptoglobin Miktarının Belirlenmesi

Serum haptoglobin miktarı ticari test kiti kullanılarak tespit edildi (Tridelta Phase Haptoglobin Assay, cat. No. TP-801).

Prensip: Serbest hemoglobin peroksidaz aktivitesi gösterir ve düşük pH'da engellenir. Örneklerdeki haptoglobin hemoglobin ile bağlanır ve bağlanan hemoglobinin peroksidaz aktivitesini düşük pH'da sürdürür. Hemoglobinin peroksidaz aktivitesinin korunması direk olarak örnekte haptoglobinin miktarını gösterir.

Yapılışı

1. Örnek ve hazırlanmış standartlar kuyucuklara eklendi.
2. Örnek ve standartlara 100 µl hemoglobin solüsyonu eklendi.
3. Tüm kuyucuklara 140 µl kromojen/substrat solüsyonu eklendi.
4. Beş dakika oda ısısında bekletilerek 630 nm' de okutuldu.

Hesaplanması: Standart kalibrasyon eğrisi çizdirildi. Örnekler bu eğriye göre hesaplandı.

3.4.3. C-Reaktif Protein Miktarının Belirlenmesi

C-Reaktif Proteinin miktarının belirlenmesi amacıyla ticari test kiti kullanılmıştır (Tridelta Development Ltd. Ireland Cat No: TP-80 Con)

Prensip: CRP ticari test kiti solid phase sandwich immunoassay çalışma metodu ile çalışmaktadır. Test kitinin mikropleytleri içindeki CRP antikorları ile dışarıdan eklediğimiz HRP işaretli CRP ve numunelerde bulunan CRP ile yarış halinde

yapışması sonucunda TMB eklenerek oluşturduğu renk yoğunluğunun spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanmaktadır.

Yapılışı:

1. Standart ve numuneler, dublike olarak 100 µl pipetlendi.
2. Pleytin üstü tozlara karşı koruma amacıyla kaplandı ve 37 °C' de 15 dakika süre ile inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonunda plak içeriği döküldü. 4 kez yıkandı ve çırıldı.
4. Tüm kuyucuklara 100 µl konjugat eklendi.
5. Pleytin üstü tozlara karşı koruma amacıyla kaplandı ve 37 °C' de 15 dakika süre ile inkübasyona bırakıldı.
6. İnkübasyon sonunda plak içeriği döküldü. 4 kez yıkandı ve çırıldı.
7. Tüm kuyucuklara 100 µl TMB substrat eklendi.
8. Pleytin üstü tozlara karşı koruma amacıyla kaplandı ve oda sıcaklığında 15 dakika süre ile inkübasyona bırakıldı.
9. 100 µl stop solüsyonu eklenip yavaş hareketler ile karıştırıldı.
10. 450 nm dalga boyunda okundu.

3.4.4. Serum Seruloplazmin Miktarının Belirlenmesi

Serumda seruloplazmin tayini spektrofotometrik olarak değiştirilmiş Ravin metodu ile yapıldı. Seruloplazmin bir enzim olarak renksiz bir madde olan fenilen diamini mavimsi menekşe renkli ürüne oksitler. Serumdaki bu etki deneyde belirli bir zamanda ve deney körüne ise denemenin başında sodyum azid katılarak durduruldu ve spektrofotometrik olarak ölçüldü (Yenson, 1986).

Kullanılan Çözeltiler

1. Asetat tamponu (0,43 M, pH: 5,6): 1,34 ml. glasiyal asetik asit ve 26,44 g. sodyum asetat saf suda çözülüp 1 litreye tamamlandı.
2. Fenilen diamin substrat çözeltisi (7,95 mM): 36 mg. fenilen diamin dihidroklorür, 25 ml asetat tamponunda çözüldü. 0,1 N NaOH ile pH' sı 5,6' ya ayarlandı (Günlük olarak hazırlandı).
3. Sodyum azid çözeltisi (460 mM): 3 g. sodyum azid saf suda çözülerek 100 ml' ye tamamlandı.

Yapılışı: Pipetleme işlemi aşağıdaki Tablo 2' deki gibi yapıldı.

Tablo 2. Seruloplazmin için pipetleme oranları

	Deney	Deney Körü
Fenilen diamin substrat çözeltisi	5 ml	5 ml
Sodyum azid	-	1 ml
Serum	0.1 ml	0.1 ml
Karıştırıldı ve 37 °C' lik etüvde 15 dk bekletildi.		
Sodyum azid	1ml	-
15 dk bekletildi ve 546 nm' de optik dansiteleri distile suya karşı okundu.		

Hesaplanması: Elde edilen optik dansiteler formülde yerine konularak % mg cinsinden sonuçlar elde edildi.

- $\% \text{ mg seruloplazmin} = (\text{Deney} - \text{Deney Körü}) \times 237$

3.4.5 Serum Total Protein ve Albümin Miktarlarının Belirlenmesi

Sıgırlardan alınan serumlarda albümin ve total protein miktarları kolorimetrik bir yöntem ile ticari test kiti kullanılarak (Audict kit, Autolab AMS Srl, Autoanalyzer, Netherlands) otoanalizörde ölçüldü.

3.5. İstatistiksel Hesaplamalar

Serum akut faz proteinlerinin aritmetik ortalaması ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Veriler ortalama \pm standart sapmayı ifade eder. Gruplar arası farklılık t-test ile değerlendirilmiştir. Olasılık (p değeri) $\leq 0,05$ anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 10,0 programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR

Paratüberkülozlu sığırlarda en çok gözlenen bulgular diyare ve kilo kaybıydı. Bizim çalışmamızda da deneme grubumuzu oluşturan hayvanlarda klinik bulgu olarak zaman zaman kaybolan ve tekrar nükseden diyare, kilo kaybı ve verim kaybı bulunmaktaydı. Kontrol grubundakiler ise klinik olarak sağlıklı sığırlardı.

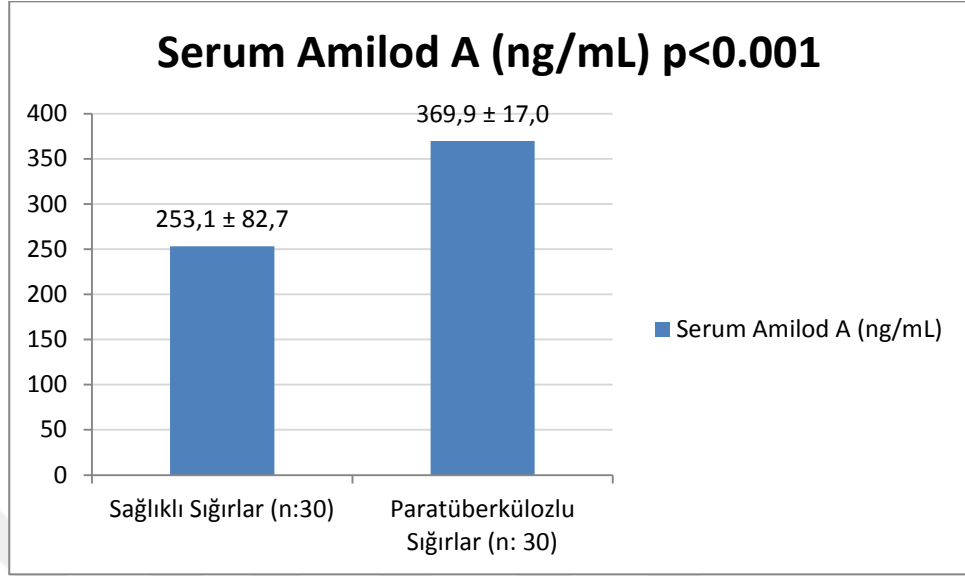
Serum örneklerinden paratüberküloz pozitif çıkan 30 sığırdan alınan kanlar ve paratüberküloz negatif çıkan sığırlardan alınan kanlarda bazı akut faz proteinlerine bakıldı. Sağlıklı ve paratüberkülozlu sığırların serum akut faz proteinlerinin değerleri Tablo 3' de verilmiştir.

Tablo 3. Kontrol ve paratüberkülozlu sığırlarda SAA, haptoglobin, CRP, seruloplazmin, albümin ve total protein değerleri.

Parametreler	Sağlıklı Sığırlar (n:30)	Paratüberkülozlu Sığırlar (n: 30)	P değeri
Serum Amilod A (ng/mL)	253,1 ± 82,7	369,9 ± 17,0	p<0.001
Haptoglobin (mg/mL)	0,354 ± 0,177	0,820 ± 0,615	p<0.001
C-Reaktif Protein (µg/ml)	0,1885 ± 0,0571	0,260 ± 0,121	p<0.01
Seruloplazmin (mg/dl)	18,08 ± 5,43	33,7 ± 12,3	p<0.001
Albümin (mg/dl)	3,713 ± 0,407	2,977 ± 0,699	p<0.001
Total protein (mg/dl)	59,3 ± 12,7	26,95 ± 4,73	p<0.001

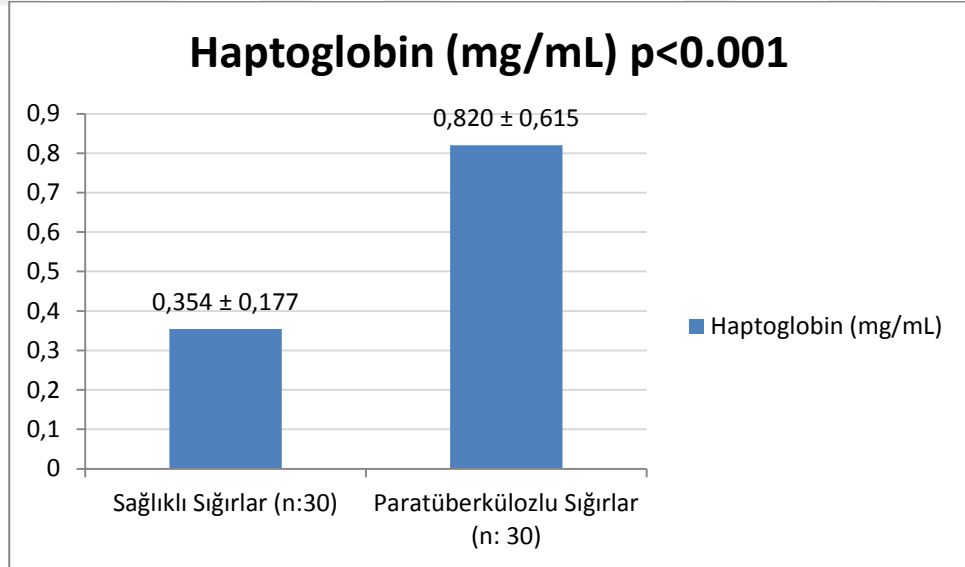
Veriler ortalama ± standart sapmayı ifade eder.

Serum Amiloid A paratüberkülozlu ineklerde ($369,9 \pm 17,0$ ng/mL) sağlıklı ineklere ($253,1 \pm 82,7$ ng/mL) göre yüksek bulundu ($p<0.001$).



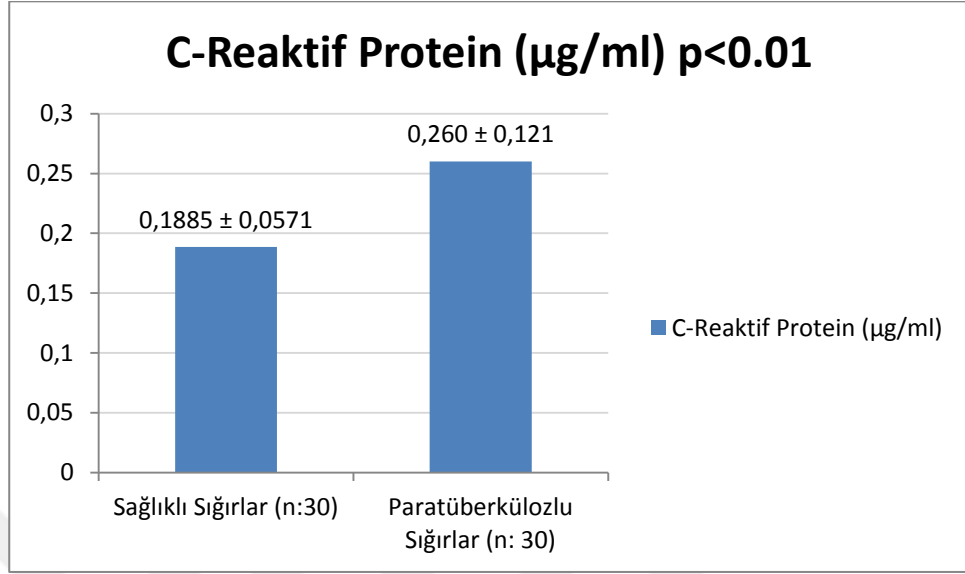
Şekil 1. Sağlıklı ve Paratüberkülozlu hayvanların serumlarında bulunan Serum amiloid-A miktarları

Serum haptoglobinin miktarı paratüberkülozlu sığırlarda ($0,820 \pm 0,615$ mg/mL) sağlıklı ineklere ($0,354 \pm 0,177$ mg/mL) göre 2 katından fazla artış kaydetti ($p<0.001$).



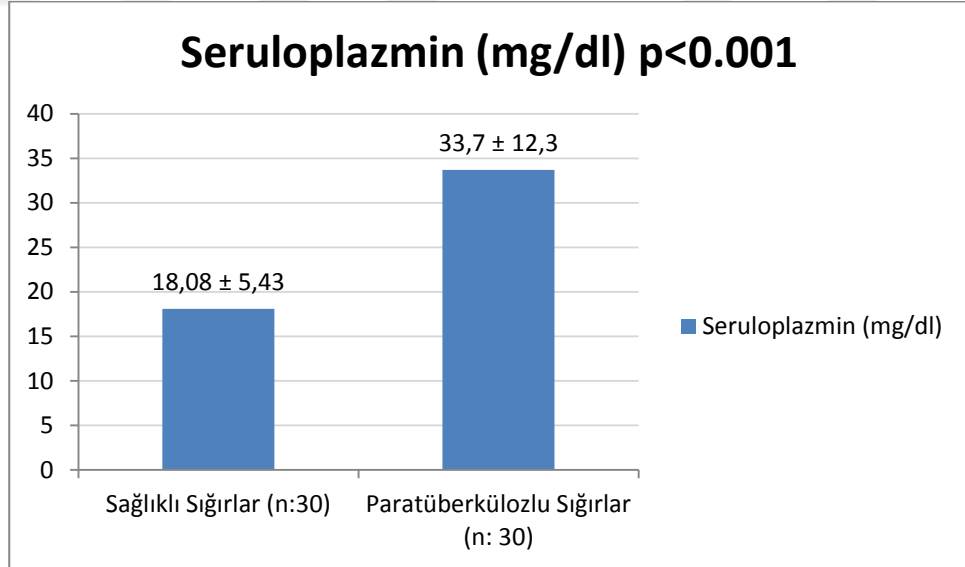
Şekil 2. Sağlıklı ve Paratüberkülozlu hayvanların serumlarında bulunan Haptoglobinin miktarları

C-Reaktif Protein paratüberkülozlu ineklerde ($0,260 \pm 0,121 \mu\text{g/mL}$) sağlıklı ineklere ($0,1885 \pm 0,0571 \mu\text{g/mL}$) göre yüksek bulundu ($p < 0.01$).



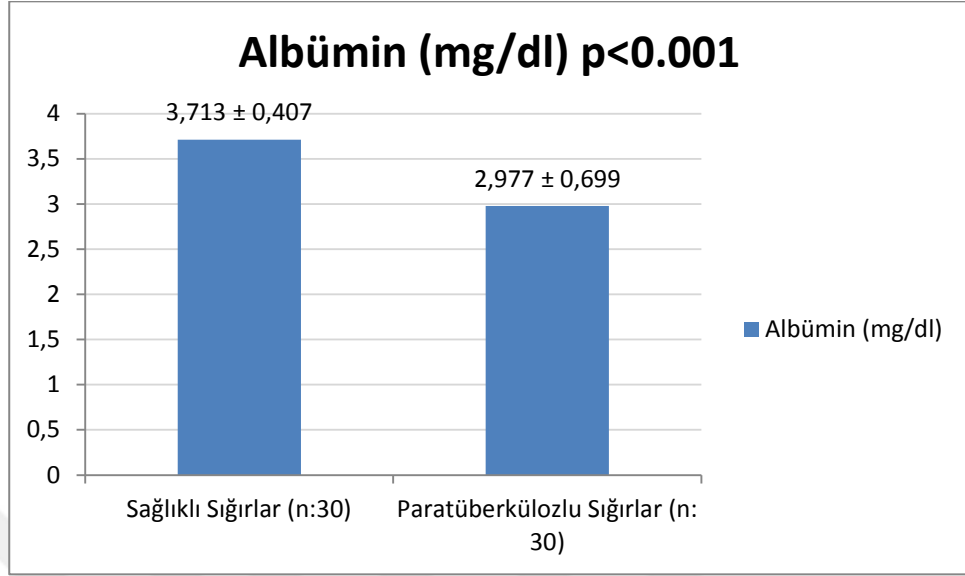
Şekil 3. Sağlıklı ve Paratüberkülozlu hayvanların serumlarında bulunan C-Reaktif Protein miktarları

Seruloplazmin paratüberkülozlu ineklerde ($33,7 \pm 12,3 \text{ mg/dl}$) sağlıklı ineklere ($18,08 \pm 5,43 \text{ mg/dl}$) göre yaklaşık iki katı miktarda yüksek bulundu ($p < 0.001$)



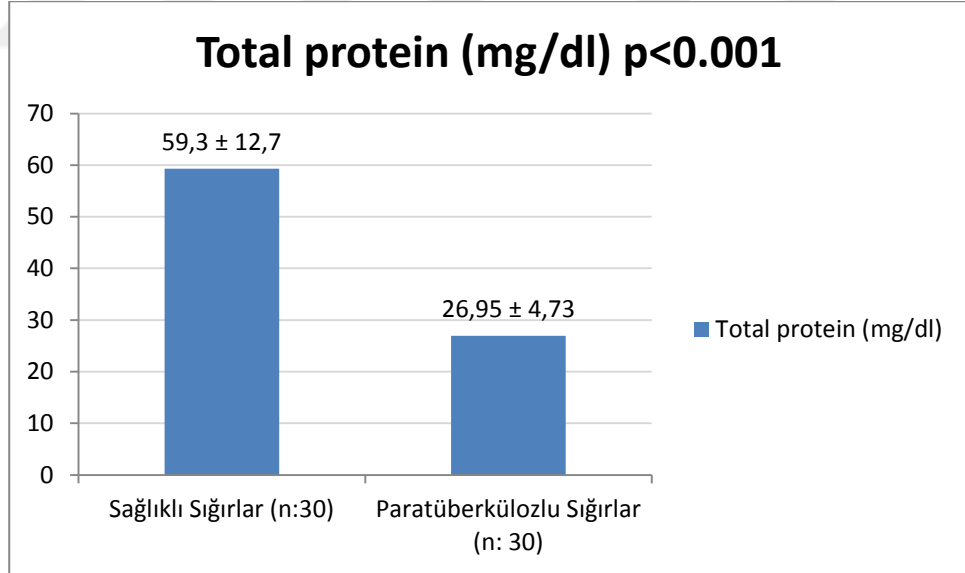
Şekil 4. Sağlıklı ve Paratüberkülozlu hayvanların serumlarında bulunan seruloplazmin miktarları

Albümin miktarı paratüberkülozlu ineklerde ($2,977 \pm 0,699$ mg/dl) sağlıklı ineklere ($3,713 \pm 0,407$ mg/dl) göre düştü ($p < 0.001$).



Şekil 5. Sağlıklı ve Paratüberkülozlu hayvanların serumlarında bulunan Albümin miktarları

Serum total protein miktarları paratüberkülozlu ineklerde ($26,95 \pm 4,73$ mg/dl), sağlıklı ineklere göre ($59,3 \pm 12,7$ mg/dl) daha düşük ölçüldü ($p < 0.001$).



Şekil 6. Sağlıklı ve Paratüberkülozlu hayvanların serumlarında bulunan Total Protein miktarları

5. TARTIŞMA

Paratüberküloz bağırsaklar ile bölgesel lenf düğümlerinde granülamatöz bir yangı ile kendini gösteren kronik enfeksiyöz bir hastalıktır. Tipik bulgu tedavi edilemeyen kronik veya aralıklı diyaredir. Hastalık, ruminantlarda canlı ağırlık kaybı, süt veriminde düşme, yemden yararlanmanın azalması, fertilitede azalma ve mastitis sıklığının artmasından kaynaklı ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Aşırı zayıflama ve genel halsizlik ile hastalık ölüm ile sonuçlanmaktadır. Hastalığın belirtileri sığırlarda görülebilir ancak bazı durumlarda hastalık etkeni mukoza ve lenf düğümlerinde yerleşik kalarak bu hayvanların sürekli taşıyıcı olmasına neden olur. Taşıyıcı hayvanlar semptom göstermezler (Chiodini ve ark., 1984). Paratüberkülozis özellikle sığır, keçi ve koyunların bir hastalığı olmasının yanında vahşi ruminantlarda da hastalık meydana getirmektedir. Sütçü sığır işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Ayrıca, insanlarda Crohn's hastalığının etiolojisinde rol alması yönüyle halk sağlığını tehdit etmektedir (Engstrand, 1995). Paratüberkülozun teşhisi hem ekonomik kayıpların azaltılması hem de halk sağlığı bakımından önemlidir. Subklinik hayvanlar, hastalığın kontrol ve eradikasyonunda en büyük zorluktur. Hastalığın teşhisinde, kesin bir diagnostik metot bulunmasa da, tanıya yardımcı yöntemlerin kullanılması veteriner hekime yardımcı olabilmektedir (Ganheim ve ark., 2007; Mecitoğlu ve Demir, 2012).

Akut faz cevabı, enfeksiyon, doku hasarı, travma, tümöral büyüme veya immünolojik hastalıklar ile hemostazisi sistemik veya lokal olarak bozulan organizmanın önemli bir öncü sistemik reaksiyonudur. SAA, Hp, CRP ve diğer bazı akut faz proteinleri insan ve bazı evcil hayvanlarda sağlığı değerlendirmek için yararlı bulunmuştur. Akut faz proteinlerinin önemi inflamasyon aktivitesinin görüntülenmesi için nonspesififik değişkenler olarak veteriner klinik biyokimyada kullanılmaya başlanmıştır. Akut faz proteinleri mastitisli ineklerden, tropikal tayleriozisli ineklere ve influenzalı atlara kadar farklı durumlarda kullanılmaktadır (Gruys ve ark., 2005). Hayvanların yaşlarına ve fizyolojik durumlarına göre akut faz proteinlerinin değiştiği gözlenmiştir (Orro ve ark., 2008). Hayvan türlerine göre akut faz proteinleri değişiklik göstermektedir. Son zamanlarda yaygın hayvan türlerinde akut faz cevapları araştırılmaya başlanmıştır. Tanı, prognoz, hayvan sağlığının değerlendirilmesi ve laboratuvar hayvanlarının refahının değerlendirilmesinde potansiyel kullanım alanı bulunmaktadır (Ganheim ve ark., 2007; Cray ve ark., 2009).

Etkili bir diyagnoz hastalık kontrol programının başarısı için önemlidir. Bundan dolayı, ek biyokimyasal belirteçler hayvanlarda paratüberkülozun kontrolü için gereklidir (El-Deeb ve ark., 2014). Paratüberkülozlu sığırların serum akut faz protein miktarlarındaki değişimin bilinmesi, sığırlarda paratüberküloz teşhisine yönelik yapılan diagnostik testlere yardımcı olması beklenmektedir.

SAA yüksek yoğunluklu lipoprotein ile ilişkili apolipoprotein ailesindedir. Yangısal reaksiyonlarda farklı seviyelerde eksprese edilir (Tothova ve ark., 2014). Haptoglobin' in asıl fonksiyonu serbest hemoglobine bağlanmak ve onun oksidatif aktivitesini engellemektir. İneklerde çeşitli yangısal hastalıklarda miktarı artmaktadır. SAA ve Hp türlerin çoğunda asıl akut faz proteinlerdir. Sığırlarda haptoglobin normalde çok az miktardadır ve akut faz cevapta miktarı 50-100 kat artabilir. Bu da bu proteini ineklerde en önemli akut faz proteini yapar (Heegaard ve ark., 2000; Alsemgeest ve ark., 1994). Bu çalışmada da serum haptoglobin düzeyi enfektif sığırlarda ($0,820 \pm 0,615$ mg/mL) sağlıklı sığırlara ($0,354 \pm 0,177$ mg/mL) göre yüksek bulundu. Serum SAA miktarı ise paratüberkülozlu sığırlarda ($369,9 \pm 17,0$ ng/ml) sağlıklı sığırlara göre ($253,1 \pm 82,7$ ng/mL) yüksek bulundu. Develer üzerine yapılan bir çalışmada, Haptoglobin ve Serum amiloid A düzeyi paratüberkülozlu develerde sağlıklı develere göre daha yüksek bulunmuştur (El-Deeb ve ark., 2014). İneklerin akut, subakut ve kronik yangısal hastalıklarında plazma SAA ve Hp miktarı önemli miktarda artmıştır (Alsemgeest ve ark., 1994). Keçilerde yapılan diğer çalışmada, miks helmint enfeksiyonlu keçilerde serum SAA ve Hp düzeyleri kontrol gruplarına göre önemli bir artış gözlenmiştir (Ulutaş ve ark., 2008). Haptoglobin hem süt hemde serumda mastitisli hayvanlarda sağlıklı hayvanlara göre yüksek bulunmuştur (Nielsen ve ark., 2004). Pazarçeviren (2008) yaptığı çalışmada, ishalleri buzağılarda serum haptoglobin düzeyinin arttığını tespit etmiştir. Yine aynı çalışmada SAA miktarında ishalleri buzağılarda sağlıklı buzağılara göre yaklaşık 3 katı kadar artış meydana gelmiştir. Hajimohammadi ve ark. (2013)'nin yaptığı çalışmada ishalleri buzağılarda serum Hp ve SAA miktarında sağlıklı buzağılara göre önemli artış meydana gelmiştir. Serum Amiloid-A hem serum hemde sütte mastitisli sığırlarda önemli miktarda artış gözlenmiştir. Memenin dışında yangıya sahip olan sığırlarda serum amiloid-A kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuştur (Nielsen ve ark., 2004). Bu çalışmaların sonuçları mevcut çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

C-Reaktif Protein enfeksiyona karşı savunmada, hasarlı dokuların klirensinde, otoimmünizasyonunun önlenmesinde ve yangısal cevabın regülasyonunda önemli görevlere sahiptir. Majör olarak insan ve köpeklerde, daha az olarak at, domuz, kedi ve ruminantlarda gösterilmiştir. Bu reaktant sığırlarda diğer türlerde kullanıldığı kadar geniş şekilde kullanılmaz çünkü CRP' nin sığırlar için akut faz proteini olup olmadığı net değildir. Karaciğerde sentezlenmesinden ziyade laktasyon ile ilişkilendirilmektedir (Murata ve ark., 2004). İnsanlarda, CRP seviyesi özellikle kolesistitis ve pankreatitis gibi hastalıkların tanısında hızlı ve erken bir göstergedir (Clyne ve Otehaker, 1999). Evcil hayvanlarda CRP üzerine yapılmış çalışma çok az sayıdadır. Sığırlarda CRP artışına çok fazla rastlanılmazken bu çalışmada serum CRP düzeyi paratüberkülozlu sığırlarda ($0,260 \pm 0,121 \mu\text{g/ml}$) sağlıklı sığırlara ($0,1885 \pm 0,0571 \mu\text{g/ml}$) göre istatistiki açıdan yüksek bulundu.

Petersen ve arkadaşları yangısal durumlarda CRP' nin sığırlarda değişmediğini bildirmişlerdir (Petersen ve ark., 2004). CRP daha çok laktasyon ile ilişkilendirilmesi sebebiyle ineklerde yapılan çalışmada, mastitisli ineklerde sütteki CRP düzeyi sağlıklı ineklerdeki süte göre önemli miktarda arttığı gözlemlenmiştir (Schrödl ve ark., 1995). Domuzda turpentin ile oluşturulan yangıda CRP konsantrasyonunun 6-8 kat arttığı bulunmuştur (Lampreave ve ark., 1994). Mevcut çalışmada bulunan CRP sonuçları, yangının işe karıştığı hastalıkların çalışıldığı benzer çalışmalarda elde edilen CRP değerlerindeki değişime benzerlik göstermektedir.

Seruloplazmin α -globulin fraksiyonunun bir proteindir. Kanda bakır taşıyan en büyük protein olan bir feroksidaz enzimidir ve demir metabolizmasında önemli role sahiptir. Seruloplazmin hayvan sağlığı ve refahının bir markırı olarak değerlendirilir. Sığırlarda yapılan bir çalışmada, birçok hastalık durumunda diagnostik kullanımının olabileceğini göstermiştir (Tothova ve ark., 2014). Sağlıklı sığırlarda yapılan bir çalışmada serum seruloplazmin düzeyleri 12,68-26,50 mg/dl olarak belirlenmiştir (Haliloğlu, 1998). Mevcut çalışmada sağlıklı sığırlarda seruloplazmin düzeyi $18,08 \pm 5,43 \text{ mg/dl}$ olarak bulundu. Ancak paratüberkülozlu sığırlarda bu değer $33,7 \pm 12,3 \text{ mg/dl}$ 'ye yükseldi ($p < 0.001$). Benzer şekilde ishallerde serum seruloplazmin düzeyi sağlıklı buzağılara göre yüksek bulunmuştur (Pazarçeviren, 2008). Keçilerde yapılan diğer çalışmada, miközelmint enfeksiyonlu keçilerde serum seruloplazmin

düzeyleri kontrol gruplarına göre önemli bir değişiklik göstermemiştir (Ulutaş ve ark., 2008).

Bu çalışmada albümin miktarı test grubunda ($2,977 \pm 0,699$ mg/dl) kontrol grubuna ($3,713 \pm 0,407$ mg/dl) göre düşük bulundu. Develerde yapılan çalışmada paratüberkülozlu develerde sağlıklı develere göre serum albümin düzeyi önemli miktarda düşmüştür (El-Deeb ve ark., 2014). Bunun sebebi hipoproteinemiden kaynaklı bir düşüş olabilir. Albüminin önemli miktarda düşmesi hasarlı dokuya albüminin sızmış olmasından kaynaklanabilir. Aynı şekilde bu çalışmada total protein miktarı enfektif grupta ($26,95 \pm 4,73$ mg/dl) kontrol grubuna ($59,3 \pm 12,7$ mg/dl) göre düşük bulundu. Paratüberkülozlu develerde sağlıklı develere göre total protein düzeyi düşük bulunmuştur (El-Deeb ve ark., 2014). Ulutaş ve ark. (2008)' nın yaptıkları çalışmada miks helmint enfeksiyonlu keçilerde sağlıklı olanlara göre albümin miktarında düşüş meydana gelmiştir. Mevcut çalışmadaki serum albümin ve total protein düzeyindeki düşüşler diğer yapılmış çalışmalardaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Sığırlarda en önemli akut faz proteinleri SAA, Hp ve Cp olarak bilinmektedir. Haptoglobin, SAA ve Cp serum düzeyleri sığırlarda cerrahi travma, mastitis, bakteriyel ve helmint kaynaklı bağırsak yangılarında farklı düzeylerde arttığı ve bu proteinlerin miktarının belirlenmesi tanı, prognoz, sağaltım etkinliğinin kontrolü ve hayvan sağlığının belirlenmesinde faydalı olabileceği belirtilmiştir. CRP ise sığırlar için çok değişken olmayan bir akut faz protein olarak kabul edilmektedir. Paratüberkülozlu hayvanlarda diğer akut faz proteinlerinin yanı sıra CRP' nin de artmış olması paratüberkülozun tanı ve prognozunda yararlı olabileceğini göstermektedir. Mevcut çalışmada elde edilen serum akut faz proteinleri hem sağlıklı hayvanlar için bir serum miktar aralığı hem de paratüberkülozlu sığırlar için serum miktar aralığını göstermektedir. Bu değerlerin bu hastalığın tanı ve prognozunda faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akerstedt M, Walker KP, Sternesjo A. Haptoglobin and serum amyloid A in relation to the somatic cell count in quarter, cow composite and bulk tank milk samles. *J Dairy Res.* 2007;74(2):198-203.
- Alsemgeest SPM, Lalsbeek HC, Wensing T, Koeman JP, Van Ederen AM, Gruys E. Concentrations of serum amyloid-A (SAA) and haptoglobin (Hp) as parameters of inflammatory diseases in cattle *Vet. Quart.* 1994;16:21–23.
- Arslan S. Crohn Hastalığı. Alınmıştır “Temel Medikal Hastalıklar ve Tedavileri”. Editör Gürler İliçin, İkinci Baskı. Duygu Ofset, Ankara. 1996:347- 351.
- Ay M, Gürbilek M, Vatansev H. Akut faz proteinleri. *Genel Tıp Derg.* 1998;8(3):125-132.
- Batmaz H, Sığırların İç Hastalıkları, Güneş Kitabevi. 2016;342-345.
- Baumgartner W, Khol JL. Paratuberculosis (Johne’s disease) in Ruminants-an ongoing story. *Slov Vet Res.* 2006;43(1):5-10.
- Bence LM, Addie DD, Eckersall PD. An immunoturbidimetric assay for rapid quantitative measurement of feline alpha-1-acid glycoprotein in serum and peritoneal fluid. *Veterinary Clinical Pathology.* 2005;34:335–340.
- Benedictus G, Kalis CJ. Paratuberculosis eradication, control and diagnostic methods. *Acta Vet Scand.* 2003;44:231-41.
- Bertholf RL. Proteins ve albümin. *Lab Med.* 2014;45(1):325-341.
- Beumer A, King D, Donohuem M, Mystry J, Covert T, Pfaller S. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in Drinking Water and Biofilms by quantitative PCR. *Appl Environ Microbiol.* 2010;76(21):7367-7370.
- Blood,D.C, Radostits O.M., Gay C.C., Johnes Disease (Paratuberculosis) In: *Veterinary Medicine* 9 th ed. W.B.Saunders Co, London-UK. 2000;920-933.
- Botcherr J, Gangl A. *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis—combined serological testing and classification of individual animals and herds. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2004;51:443-8.
- Buitenhuis B, Rontved CM, Edwards SM, Ingvartsen KL, Sorensen P. In depth analysis of genes and pathways of the mammary gland involved in the pathogenesis of bovine *Escherichia coli*-mastitis. *BMC Genomics.* 2011;12:130.
- Ceciliani F, Pocacqua V, Provasi E, Comunian C, Bertolini A, Bronzo V, Moroni P, Sartorelli P. Identification of the bovine alpha 1 acid glycoprotein in colostrum and milk. *Vet Res.* 2005;36 (5–6):735–46.

- Ceciliani F, Ceron JJ, Eckersall PD, Sauerwein H. Acute phase proteins in ruminants. *J Proteomics*. 2012;75(14):4207–31.
- Ceron JJ, Eckersall PD, Martinez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet. Clin. Path*. 2005;34(2):85-99.
- Chiodini RJ, Van Kruiningen HJ, Merkal RS. Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): The current status and future prospects. *Cornell Vet*. 1984;74:218-262.
- Collins M. and Manning E. "Johne's Information Center" The University of Wisconsin-School of Veterinary Medicine. 2007;230(10):1476-1480.
- Cleyne B, Otehaber JS. Clinical laboratory in emergency medicine: The C-reactive protein. *J Emergency Med*. 1999;17:1019–1025.
- Cray C, Zaias J, Altman NH. Acute Phase response in Animals: A review. *Comparative medicine*. 2009;59(6): 517-526.
- Eckersall PD, Bell R. Elsevier acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in Veterinary Medicine. *The Veterinary J*. 2010;185:23-27.
- Eckersall PD, Conner JG. Bovine and canine acute phase proteins. *Veterinary Research Communications*. 1998;12:169-178.
- Eckersall PD, Conner JG. Plasma haptoglobin in cattle (*Bos taurus*) exists as polymers in association with albumin. *Comp Biochem Physiol*. 1990;96B:309–11.
- El-Deeb WM, Fouda TA, EL-BAHR SM. Clinico-biochemical investigation of paratuberculosis of dromedary camels in Saudi Arabia: Proinflammatory cytokines, Acute phase proteins and oxidative stress biomarkers. *Pak Vet J*. 2014; 34(4): 484-488.
- Engstrand L. Mycobacterium paratuberculosis and crohn's disease. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases, Supplementum*. 1995;98:27-29.
- Eskizmirli S. Mikobakterilerin ekolojisi ve veteriner hekimlikte mikobakteriyoloji. Erişim adresi:[<http://www.bornovavet.gov.tr/mikobakteriekoloji.htm>]. Erişim Tarihi: 20.06.2011.
- Ganheim C, Alenius S, Waller KP. Acute phase proteins as indicators of calf herd health. *The veterinary journal*. 2007;173(3):645-651.
- Gruys E, Toussaint MJM, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. *Zhejiang Univ SCI*. 2005;6B(11):1045-1056.
- Hajimohammadi A, Nazifi S, Ansari-Lari M, Khoshmanzar MR, Bigdeli SM. Identifying relationships among acute phase proteins (haptoglobin, serum amyloid A, fibrinogen, ceruloplasmin) and clinical findings in dairy calf diarrhea. *Comparative Clinical Pathology*. 2013;22(2):227-232.

- Haliloğlu S. Vitamin C 'nin koyunlarda reproduksiyon üzerine etkileri, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya. Doktora Tezi. 1998.
- Harris JE, Lammerding AM. Crohn's disease and Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: J Food Protect. 2001;12:2103-2110.
- Harris NB, Barletta RG. Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in veterinary medicine. Clinical Microbiology Reviews. 2001;14(3):489-512.
- Heegaard PMH, Godson DL, Toussaint MJM, Tjørnehøj K, Larsen LE, Viuff B, Rønsholt L. The acute phase response of haptoglobin and serum amyloid A (SAA) in cattle undergoing experimental infection with bovine respiratory syncytial virus. Immunopathology. 2000; 77(1-2):151-159.
- Herman-Taylor J. Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis: The nature of the problem. Food control. 2001; 12: 331-334.
- Hirst HL, Garry FB, Morley PS, Salman MD, Dinsmore RP, Wagner BA, McSweeney KD, Goodell GM. Seroprevalence of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis infection among dairy cows in Colorado and herd-level risk factors for seropositivity. J. Am. Vet. Med. Assoc. 2004;225: 97-101.
- Hiss S, Mielenz M, Bruckmaier RM, Sauerwein H. Haptoglobin concentrations in blood and milk after endotoxin challenge and quantification of mammary Hp mRNA expression. J Dairy Sci. 2004;87:3778-84.
- Jubb TF, Sergeant ES, Callinan AP, Galvin J. Estimate of the sensitivity of an ELISA used to detect johnes's disease in Victorian dairy cattle herds. Aust Vet j. 2004;82:569-73.
- Juste RA, Garrido JM, Geijo M, Elguezabal N, Aduriz G, Atxaerandio RI. Comparison of blood polymerase chain reaction and enzymelinked immunosorbent assay for detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in cattle and sheep. J Vet Diagn Invest. 2005;17:354-9.
- Kennedy DJ, Benedictus G. Control of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in agricultural species. Rev Sci Tech. 2001:79-151.
- Lambeth C, Reddacliff LA, Windsor P, Abbott KA, McGregor H, Whittington RJ. Intrauterine and transmammary transmission of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis in sheep, Aust Vet J. 2004;82:504-8.
- Lampreave F, González-Ramón N, Martínez-Ayensa S, Hernández MA, Lorenzo HK, Garcia-Gill A, Pineiro A. Characterization of the acute phase serum protein response in pigs. Electrophoresis. 1994;15:672-676.
- Lee W, Hsiao H, Wu Y, Lin J, Lee Y, Fung H, Chen H, Chen Y, Chu R. Serum c-reactive protein in dairy herds. Canadian Journal of Veterinary Research. 2003;67(2):102-107.

- Lomborg SR, Nielsen LR, Heegaard PM, Jacobsen S. Acute phase proteins in cattle after exposure to complex stres. *Vet Res Commun.* 2008; 32:575-582.
- Makav V, Gokce E. Seroprevalence of subclinical paratuberculosis in cattle in Kars region. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2013;19:913–916.
- Meadus WJ, Gill CO, Duff P, Badoni M, Savcier L. Prevalence on Beef Carcasses of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis DNA. *Int J Food Microbiol.* 2008;24(3): 291-294.
- Mecitoglu Z, Demir G. Sığırlarda Paratüberkülozun Tanısına ilişkin Problemler. *Uludag Univ J Fac Vet Med.* 2012;31(1):19-23.
- Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The veterinary Journal.* 2004;168:28-40.
- Muskends J, Mars MH, Elbers AR, Van Maanen K, Bakker AD. The results of using faecal culture as confirmation test of paratuberculosis-seropositive dairy cattle. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2003;50:231-241.
- Nielsen BH, Jacobsen S, Andersen PH, Niewold TA, Heegaard PMH. Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. *Veterinary record.* 2004;154:361-365.
- Orro T, Jacobsen S, Lepage JP, Niewold T, Alasuutari S, Soveri T. Temporal changes in serum concentration of acute phase proteins in newborn dairy calves. *The veterinary journal.* 2008;176:182-187.
- Öztürk D, Pehlivanoglu F, Tok AA, Gunlu S, Guldali Y, Turutoglu H. Seroprevalence of paratuberculosis in the Burdur province (Turkey), in dairy cattle using the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *Israel J Vet Med.* 2010;65:53–57.
- Paolichii FA, Zumarrage MJ, Gioffre A, Zamorano P, Morsella C, Verna A, Cataldi A, Alito A, Romano M. Application of different methods for the diagnosis of paratuberculosis in a dairy cattle herd in Argentine. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2003;50:20-26.
- Pazarçeviren B. İshalli buzağlarda akut faz proteinleri düzeylerinin belirlenmesi ve klinik önemi. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Yüksek Lisans Tezi, 2008; 47-53.
- Petersen HH, Nielsen JP, Heegaard PMH. Application of acute phase protein measurement in veterinary clinical chemistry. *Vet Res.* 2004;35:163–87.
- Pickup RW, Rhodes G, Arnott S, Sidi-Boumedine K, Bull TJ, Weightman A, Hurley M, Herman-Taylor J. *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in the catchment area and water of the River Taff in South Wales, United Kingdom and its potential relationship to clustering of Crohn's disease cases in the city of Cardiff. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(4):2130 – 2139.

- Riis L, Munkholm P, Binder U, Skougaard LT, Langholz E. Intra-and Interobserver Variation in the Use of the Vienna Classification of Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2005;11(7):657-661
- Ritchie RF, Palomaki GE, Neveux LM, Navolotskaia O, Ledue TB, Craig WY. Reference distributions for the negative acute-phase serum proteins, albumin, transferrin and transthyretin: A practical, simple and clinically relevant approach in a large cohort. *Journal of Clinical Laboratory Analysis.* 1999;13(6):273-279.
- Schleig PM, Buergelt CD, Davis JK, Williams E, Monif GR, Davidson MK. Attachment of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis to bovine intestinal organ cultures; method development and strain differences. *Vet Microbiol.* 2005;108: 271-279.
- Schrödl W, Krüger m, Hien TT, Földner M, Kunze R. C-reactive protein as a new parameter of mastitis. *Tierarztl Prax.* 1995;23(4);337-341.
- Selby W. Pathogenesis and therapeutic aspects of Crohn's disease. *Veterinary Microbiol.* 2000;77:505-511.
- Sevgisunar N. S., Şahinduran Ş., Hayvanlarda akut faz proteinleri, kullanım amaçları ve klinik önemi. *MAKÜ Sag. Bil. Ens. Derg.* 2014;2(1):50-72.
- Smith Bradford P. *Johnes Disease In: Large Animal Internal Medicine 3rd Ed., London-UK.* 2001;779-782.
- Songer JG, Post KW. The Genus *Mycobacterium*. *Veterinary Microbiology: Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease, Elsevier Saunders.* 2005:95-104.
- Stricklands J, Scott HM, Libal MC, Jordan ER. Effects of seasonal climatic conditions on the diagnosis of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in dairy cattle. *J.Dairy Sci.* 2005;88:2432-40.
- Tothova C, Nagy O, Kovac G. Acute phase proteins and their use in the diagnosis of diseases in ruminant: a review. *Veterinarni Medicina.* 2014;59(4):163-180.
- Turancivelek. Sığırlarda paratüberküloz. Erişim adresi: [<http://www.turancivelek.net/FileUpload/ks117047/File/ptb.pdf>]. Erişim tarihi: 20.06.2016.
- Ulutaş PA, Voyvoda H, Ulutaş B, Aypak S. Miks Helminth enfeksiyonlu keçilerde haptoglobin, serum amiloid-A ve seruloplazmin konsantrasyonları. *Türkiye parazitoloji dergisi.* 2008;32(3):229-233.
- Turgut K. *Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis, Bahçıvanlar Basımsanayi.* 2000; 489-505.

Whipple D.L., Kapke P.A., Andrews R.E. Analysis of restriction endonuclease fragment patterns of DNA from Mycobacterium paratuberculosis. Veterinary Microbiology. 1992;19:189-194.

Whelehan CJ, Meade KG, Eckersall P, Young FJ, O'Farrelly C. Experimental Staphylococcus aureus infection of the mammary gland induces region-specific changes in innate immune gene expression. Vet Immunol Immunopathol. 2011;140(3-4):181-9.

Yenson M. Klinik Biyokimya Laboratuvar Ders Kitabı, İstanbul Yayınevi. 1986.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Utku DURAN

Doğum Yeri: İZMİR

Doğum Tarihi: 23.12.1983

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce (Orta Seviye)

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl): Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi - 2007

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Abalıoğlu Yem Soya ve Teks. A.Ş. 2010 – 2014

Matlı Yem A.Ş. 2014 – 2016

BioMar Sagun Yem San. A.Ş. 2016 - ..

E-posta: utkuduran@gmail.com