

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
İÇ HASTALIKLARI (VETERİNER)
DOKTORA PROGRAMI

**NEONATAL İSHALLİ BUZAĞILARDA İNTESTİNAL
EPİTELYAL BARIYER FONKSİYONLARININ VE
İNTESTİNAL PERMEABİLİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

ELİF TÜRK
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Kerem URAL

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-23007 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2023

TEŞEKKÜR

Hekimliğin ne demek olduğunu öğrendiğim, bize gerektiğinde babalık gerektiğinde öğretmenlik yapan, hep ileriye gitmemiz gerektiğini öğreten sayın danışman hocam Prof. Dr. Kerem URAL'a,

Bize çiftlik hekimliğini öğreten, tezimde büyük katkısı olan değerli hocam Prof. Dr. Deniz ALIÇ URAL'a,

Hiçbir zaman bilgi birikimini esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Hasan ERDOĞAN'a,

Her zaman yanımda, bir adım arkamda duran, bizi her konuda destekleyen Doç. Dr. Songül ERDOĞAN'a

Lisans ve Yüksek lisans eğitim sürecim boyunca katkı ve yardımları için sayın hocalarım Prof. Dr. Serdar PAŞA ve Doç. Dr. Mehmet GÜLTEKİN'e,

Bu süreçte yanımda olan arkadaşlarım Vet. Hek. Ali AYDIN, Vet. Hek. Tuğba ASLAN'a

Son olarak hayatım boyunca ayakta durmamı sağlayan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen her kararında arkamda dimdik bir çınar gibi duran canım annem Ayşe KOYUNCU'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
RESİMLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Neonatal Buzağı İshalleri	2
2.1.2. Patogenezis	3
2.1.2.1. Bağırsaklarda İyon ve Su Transportu	3
2.1.2.2. Enterotoksin Kaynaklı Hipersekresyon	4
2.1.2.3. Bağırsak İnflamasyonuna Bağlı Hipersekresyon ve Malabsorbsiyon	4
2.1.3. Etiyoloji	6
2.1.3.1. Bakteriyel Etkenler	6
2.1.3.1.1. <i>Escherichia coli</i>	6
2.1.3.1.2. <i>Clostridium perfringens</i>	7
2.1.3.1.3. <i>Salmonella spp.</i>	7
2.1.3.1.4. <i>Campylobacter Jejuni</i>	8
2.1.3.2. Viral Etkenler	9
2.1.3.2.1. Rotavirus.....	9

2.1.3.2.2. Coronavirus	10
2.1.3.2.3. Bovine Viral Diare	11
2.1.3.2.4. Torovirüsü	12
2.1.3.2.5. Norovirüs	13
2.1.3.2.5. Nebovirüs	13
2.1.3.3. Paraziter Etkenler	14
2.1.3.3.1. <i>Cryptosporidium parvum</i>	14
2.1.3.3.2. Giardiasis	15
2.2. İntestinal Bariyerin Yapısal Bileşenleri.....	15
2.2.1. Karıştırılmamış Su Tabakası	15
2.2.2. Mukozal Yüzey Hidrofobikliği	16
2.2.3. Epitel Tabakası	16
2.2.4. Endotel Tabakası	19
2.3. Bağırsak Geçirgenliğini Modüle Eden Mekanizmalar	19
2.3.1. Mukozal İmmünoloji ve Bariyer Fonksiyonu	19
2.3.1.1. Proteaz ve Proteinaz Aktif Reseptörler	20
2.3.1.2. Zonulin	21
2.3.1.3. Mast Hücreleri	23
2.3.1.4. Hücre İçi Yollar	24
2.3.1.5. Paraselüler Geçirgenliğin Düzenlenmesinde Tight Junction Proteinleri.....	25
2.3.1.6. Bağırsak Bariyeri ve Geçirgenliği	26
2.4. Artmış Bağırsak Geçirgenliğinin Nedenleri	29
2.4.1. Stres Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu	29
2.4.2. Gastrointestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarı.....	30
2.4.3. Patojen Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu	31
2.4.3. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığında Değişen Geçirgenlik	32

2.4.4. Mikrobiyota, Diyet ve Gastrointestinal Sağlık	32
2.4.5. Buzağlarında Bağırsak Geçirgenliğine Stres ve Bağışıklığın Etkisi	35
2.4.6. Kalıtım.....	36
2.5. Klinik Bulgular	36
2.5.1. Dehidrasyon.....	37
2.5.2. Metabolik Asidoz	37
2.5.3. Elektrolitik Dengesizlikler.....	38
2.6. Buzağı Enterik Patojenlerinin Teşhisi	38
2.6.1. Laboratuvar Testleri	39
2.7. Bağırsak Geçirgenliğinin Değerlendirilmesi	42
2.7.1. Gastrointestinal Geçirgenliğin Ölçümü için Lactulose / Mannitol (L/M).....	42
2.7.2. Kolonik Geçirgenlik Ölçümü için Sukraloz	44
2.7.3. Radyoaktif işaretli 51 Cr-EDTA	44
2.7.4. Serum Zonulin Ölçümü	45
2.7.5. Serum Diamin Oksidaz Ölçümü.....	45
2.8. Buzağı İshali Önleme ve Kontrol	46
2.6.1. Peripartum Buzağılama Yönetimi	46
2.6.2. Immunité.....	47
2.6.3. Çevresel Stres ve Kontaminasyon	48
2.7. Tedavi	49
2.7.1 Oral Sıvı Tedavisi.....	49
2.7.2. İntravenöz Sıvı Tedavisi.....	50
2.7.2.1. Sıvı Gereksinimleri.....	50
2.7.3. Metabolik Asidozun Düzeltilmesi.....	50
2.7.3. Antimikrobiyal Tedavi	51
2.7.4. Antiprotozooner Tedavi.....	51

2.7.5. Antiprotozooner Tedavi.....	51
2.7.6. Kısa Zincirli Yağ Asitleri	52
2.7.7. Amino Asitler	52
2.7.8. Diğer Besinler.....	53
2.7.9. Probiyotikler, Prebiyotikler ve Sinbiyotikler.....	53
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	55
3.1. Gereç.....	55
3.1.1. Cihazlar.....	55
3.1.2. Hayvan Materyali	55
3.2. Yöntem	56
3.2.1. Örneklerin Toplanması.....	56
3.2.2. Laboratuvar Analizleri.....	58
3.2.2.1. Bovid- 5 Test Kiti	58
3.2.2.2. Serum Zonulin Ölçümü	58
3.2.2.3. Serum Diamin Oksidaz Ölçümü.....	61
3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme	62
4. BULGULAR	63
5. TARTIŞMA.....	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	76
KAYNAKLAR.....	78
EKLER	122
ADÜ-HADYЕК	122
BİLİMSEL ETİK BEYANI	123
ÖZ GEÇMİŞ.....	124

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°	: Derece
°C	: Santigrat derece
AA	:Amino asit
ABD	: Amerika Birleşik Bevletleri
ACE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
Ag	: Antijen
AJC:	: Apikal bağlantı kompleksi
AJs	: Adherens junctions
BCoV	: Sığır koronavirüsü
BHI	: Beyin kalp infüzyonu
BNoV	: Sığır norovirüs
BRV	: Sığır rotavirüsü
BToV	: Sığır torovirüsü
BVDV	: Bovine viral diarrhea virüs
Ca	: Kalsiyum
CAMP	: Siklik adenosin monofosfat
CD	: Crohn hastalığı
CDR	: Kalsiyum bağımlı bir regülatör protein
CGMP	: Siklik guanosine monofosfat
cGMP	: 3'-5'-siklik guanozin monofosfat
Cl	: Klor

CNS	: Merkezi sinir sistemi
Cr-EDTA	: Krom etiketli etilen-diamin-tetra-asetat
CRF	: Kortikotropin salma föktörü
CT	: Vibrio cholerae toksin
dAo	:Diamin oksidaz
DSS	: Dekstran sülfat sodyum
E.coli	: <i>Escherichia coli</i>
EAEC	: Enteroagresive <i>Escherichiacoli</i>
EGFR	: Epidermal büyüme faktörü reseptörünü
EHEC	: Enterohahemorajik <i>Escherichiacoli</i>
EIEC	: Enteroinvaziv <i>Escherichiacoli</i>
ELISA	: Enzime bağlı immünosorban analizi
ELISA	: Enzime bağlı immünosorban analizi
EM	: Elekon mikroskobu
EPEC	: Enteropatojenik <i>Escherichiacoli</i>
ETEC	: Enterotoksijenik <i>Escherichiacoli</i>
EtOH	: Etenol
fMLP	: N-Formilmetiyonin-leusil-fenilalanin
G	: Gram
GI	: Gastrointestinal sistem
HCO₃	: Bikarbonat
HE	: Hemaglutinin-esteraz
HE	: Hektoen enterik
Hp	: Haptoglobin
HPLC-MS	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi kütle spektrometresi
IBD	: İnflamatuvar bağırsak hastalıklarının

IBD	: İnflamatuvar bağırsak hastalığı
IEM	: İmmüno-elektron mikroskopisi
Ig	: İmmünoglobulinin
IL	: İnterlökin
INF	: İnterferon
L	: Laktüloz
LPS	: Lipopolisakkarit
Lt	: Termolabil
M	: Mannitol
MC	: Mast hücreleri
MC	: Mast hücreleri
ml	: Mililitre
MLC	: Miyozin hafif zincir
MLCK	: Miyosin hafif zincir kinaz
MLCP	: Miyozin hafif zincir fosfataz
MS	: Kütle spektrometresi
Na	: Sodyum
NaHCO₃	: Sodyum bikarbonat
NAHMS	: Amerika Ulusal Hayvan Sağlığı Monitorizasyon sistemi
NFκB	: Nükleer faktörü kappa B
NK	: Doğal öldürücü hücreler
NO	: Nitrik oksit
NO₂	: Nitrit
NO₃	: Nitrat
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NSAID	: Steroid olmayan antiinflamatuvar

NSP4	: Yapısal olmayan glikoprotein 4
OD	: Optik yoğunluk
PAR	: Proteaz aktive reseptör
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	: Hidrojen iyon konsantrasyonunun eksi logaritması
PI	: Persiste enfekte
PKC	: Protein kinaz C
ROS	: Reaktif oksijen
S	: Virüsün uç proteini
SCFA	: Kısa zincirli yağ asitleri
SIRS	: Sistemik inflamatuvar yanıt sendromuna
SPI-1	: Salmonella patojenisite adası 1
SPI-2	: Salmonella patojenisite adası 2
SPI-5	: Salmonella patojenisite adası 5
St	: Termostabil
STEC	: Shiga toksini üreten Escherichiacoli
TER	: Transepitelyal direncin
TJ	: Tight junctions
TN:	: Tümör nekroz faktörü
TPN	: Total parantenal beslenme
TRH	: Tirotropin salgılatıcı hormon
UC	: Ülseratif kolit
USDA	: Amerika Ulusal Hayvan Sağlığı Monitorizasyon
VHS	: Vücut kondisyon skoru
VP	: Ara kapsid proteini
XLD	: Ksiloz lizin desoksikolat

Zo	: Zonula oklüdens
Zot	: Zonula oklüdens toksininin
α	: alfa
β	: beta
ϵ	: epsilon
ι	: iota



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.Etiyopatogenez	3
Şekil 2:Ruminal çok katlı yassı epitel (A). İntestinal tek katlı kolumnar epitel (B)	17
Şekil 3.Sığır bağırsak epitel hücrelerinde rotavirüse karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkisi .	20
Şekil 4.Bağırsak bariyeri bileşenleri	24
Şekil 5.Normal ve sızıntılı bağırsak bileşenleri	27
Şekil 6.Bağırsak epitel hücreleri arasındaki hücreler arası bağlantıların ayrıntılı diyagram. .	28
Şekil 7.Bağırsak geçirgenliğini etkileyen faktörler	29
Şekil 8.Buzağılarda mikrobiyal popülasyonu etkileyen faktörler.	34
Şekil 9.Bağırsak gelişimini etkileyen faktörler	36
Şekil 10.Zonulin standart konsantrasyon eğrisi	59
Şekil 11.Bovine ELISA Zonulin test kiti uygulama prosedürü.....	60
Şekil 12.dAo standart eğrisi	62
Şekil 13.Bovine ELISA dAo test kiti uygulama prosedürü	62
Şekil 14.Çalışmaya dahil edilen buzağların daire dilim grafiği	63
Şekil 15.Serum dAo düzeylerine ait ortalama sütun grafiği	66
Şekil 16.Serum zonulin düzeylerine ait ortalama sütun grafiği	67
Şekil 17.İshalli ve sağlıklı buzağların serum dAo düzeylerine ait ortalama sütun grafiği.....	68
Şekil 18.İshalli ve sağlıklı buzağların serum zonulin düzeylerine ait ortalama sütun grafiği	68

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. (A)Ters ışık mikroskobu (100 x büyütme) buzağı ince bağırsak epitel hücresi (B)sitokeratin ile işaretlenmiş epitel hücresi (C)villin ile işaretlenmiş epitel hücresi (D) mezenkimal belirteç vimentin/4',6-Diamidino-2-phenylindole ile işaretli çekirdek.....	17
Resim 2. Çalışma kapsamındaki ishalleri buzağı.....	57
Resim 3. Tez kapsamında kullanılan Bovid-5 test kiti	58
Resim 4. Tez kapsamında kullanılan ELISA reader	60
Resim 5. Araştırmacı laboratuvar şartlarında serum zonulin ölçümü esnasında	61

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Buzağı ishallerinde etiyoj	5
Tablo 2. İshalli buzağuların seçiminde kullanılan sepsis parametreleri	56
Tablo 3. Enfeksiyon ve sağlıklı etkenlere göre klinik bulguların değerlendirilmesi.....	64
Tablo 4. Enfeksiyon ve sağlıklı grupların fekal skorlamaya göre klinik bulguların değerlendirilmesi	65
Tablo 5. Enfekte ve sağlıklı gruplarda serum Zonulin ve dAo ortalama değerleri ve standart hata değeri	65
Tablo 6. İshalli ve sağlıklı buzağuların ortalama zonulin ve dAo değerleri.....	67

ÖZET

Neonatal İshalli Buzağlarda İntestinal Epitelyal Bariyer Fonksiyonlarının ve İntestinal Permeabilitenin Değerlendirilmesi

TÜRK E. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İç hastalıkları (Veteriner), Doktora Tezi, Aydın, 2023.

Amaç: Buzağı ishallerinde serum Zonulin ve dAo düzeyindeki değişim incelenerek hem literatürdeki boşluğun kapatılması hem de pratik sahada rutin uygulama alanı bulabilecek sonuçlara ulaşılması planlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmanın hayvan materyalini Aydın ili, buzağı işletmelerinde ya da Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesinde bulunan neonatal ishalli (akut ishal), 1-28 günlük yaşta ve mevcut hızlı test kitleri aracılığıyla ilgili hastalıkların tanısı konulmuş, her iki cinsiyetten ve çeşitli yaş gruplarından 61 buzağı çalışmaya dahil edildi. Verilerin analizinde tanımlayıcı istatistikler Kruskall-Wallis ANOVA ve Mann-Whitney U testleri kullanıldı.

Bulgular: Bu tez çalışmada, farklı enfeksiyon grupları arasında serum dAo (Diaminoksidaz) düzeyleri (ng/mL) ve serum zonulin düzeyleri (ng/mL) incelendi. *Cryptosporidium* spp., *E. coli*, *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens*, *E. coli* + *Clostridium perfringens* ve *Cryptosporidium* + Corona virüs grupları ile sağlıklı grubun serum dAo ve serum zonulin düzeyleri ölçüldü. Sonuçlar, her bir grup için aşağıdaki şekilde bulundu: *Cryptosporidium* spp. grubunda serum dAo düzeyi $7,97 \pm 1,86$ ng/mL olarak ölçüldü, serum zonulin düzeyi ise $46,71 \pm 5,81$ ng/mL olarak bulundu. *E. coli* grubunda serum dAo düzeyi $5,6 \pm 0,59$ ng/mL olarak tespit edildi, serum zonulin düzeyi ise $76,64 \pm 2,80$ ng/mL olarak saptandı. *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens* grubunda serum dAo düzeyi $7,99 \pm 0,55$ ng/mL olarak ölçüldü, serum zonulin düzeyi ise $57,14 \pm 8,98$ ng/mL olarak belirlendi. *E. coli* + *Clostridium perfringens* grubunda serum dAo düzeyi $7,38 \pm 0,72$ ng/mL olarak tespit edildi, serum zonulin düzeyi ise $36,56 \pm 6,88$ ng/mL olarak saptandı. *Cryptosporidium* + Corona virüs grubunda serum dAo düzeyi $3,767 \pm 0,78$ ng/mL olarak ölçüldü, serum zonulin düzeyi ise $46,71 \pm 7,11$ ng/mL olarak

belirlendi. Sağlıklı grubun serum dAo düzeyi $16,91 \pm 1,09$ ng/mL olarak bulunurken, serum zonulin düzeyi $35,69 \pm 3,69$ ng/mL olarak saptandı.

Sonuç: Bu bulgular, enfeksiyonların bağırsak bariyer fonksiyonu üzerinde etkili olabileceğini ve serum zonulin düzeylerinin bu etkiyi yansıtabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Neonatal dönem Buzağı ishali, Zonulin, dAo.



ABSTRACT

Evaluation of Intestinal Epithelial Barrier and Intestinal Permeability in Calves with Neonatal Diarrhea

TÜRK E. Aydın Adnan Menderes University, Health Sciences Institute, Veterinary Program, Doctorate Thesis, Aydın, 2023.

Objective: The aim of this study is to investigate the changes in serum Zonulin and dAo levels in calf diarrhea cases, aiming to fill the gap in the literature and achieve results that can be applicable in practical field settings.

Material and Methods: The animal material of the study consisted of 61 calves with neonatal diarrhea (acute diarrhea) in Aydın province, either from calf farms or from the Faculty of Veterinary Medicine at Aydın Adnan Menderes University. These calves were between 1-28 days old and had been diagnosed with relevant diseases through rapid diagnostic test kits. Both genders and various age groups were included in the study. Descriptive statistics, Kruskal-Wallis ANOVA and Mann-Whitney U tests were used for data analysis.

Results: In this thesis study, serum levels of dAo (Diamine Oxidase) and zonulin were examined among different infection groups. The groups investigated were *Cryptosporidium* spp., *E. coli*, *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens*, *E. coli* + *Clostridium perfringens*, *Cryptosporidium* + Coronavirus, and a healthy control group. The serum levels of dAo and zonulin were measured for each group. The results were as follows: In the *Cryptosporidium* spp. group, the serum dAo level was measured as 7.97 ± 1.86 ng/mL and the serum zonulin level was found to be 46.71 ± 5.81 ng/mL. In the *E. coli* group, the serum dAo level was determined as 5.6 ± 0.59 ng/mL, while the serum zonulin level was observed to be 76.64 ± 2.80 ng/mL. The *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens* group exhibited a serum dAo level of 7.99 ± 0.55 ng/mL, and a serum zonulin level of 57.14 ± 8.98 ng/mL. Similarly, the *E. coli* + *Clostridium perfringens* group displayed a serum dAo level of 7.38 ± 0.72 ng/mL and a serum zonulin level of 36.56 ± 6.88 ng/mL. In the *Cryptosporidium* + Coronavirus group, the serum dAo level was measured as 3.767 ± 0.78 ng/mL and the serum zonulin level was determined to

be 46.71 ± 7.11 ng/mL. The healthy control group exhibited a serum dAo level of 16.91 ± 1.09 ng/mL and a serum zonulin level of 35.69 ± 3.69 ng/mL.

Conclusion: These findings suggest that infections may have an impact on intestinal barrier function, and serum zonulin levels may reflect this effect.

Keywords: Neonatal period, Calf diarrhea, Zonulin, dAo.



1. GİRİŞ

Neonatal buzağı ishalleri hayvancılık işletmelerinde buzağı ölümlerinin ve ekonomik kayıpların önemli bir nedenidir (Argenzio, 1985). Bu ekonomik kayıplar sonucunda hayvancılık işletmeleri muhim zararlar görmektedir (Akyüz ve diğerleri, 2017). Sığır işletmelerinin %20'den fazlası buzağı ishalinin ekonomik kayıplarda önemli bir etkiye sahip olduğunu düşünmektedir (Foster ve Smith, 2009). İshal sütçü sığır işletmelerinde buzağı ölümlerinin yarısından fazlasını oluşturmaktadır (Foster ve Smith, 2009). Amerika Ulusal Hayvan Sağlığı Monitorizasyon sisteminin (NAHMS) 2007 yılında yapmış olduğu araştırmada, buzağı ölümlerin %57'sinin ishal kaynaklı olduğunu ve şekillenen ölümlerin çoğunun 1 aylık yaştan küçük buzağılarda görüldüğü bildirilmektedir (USDA, 2007).

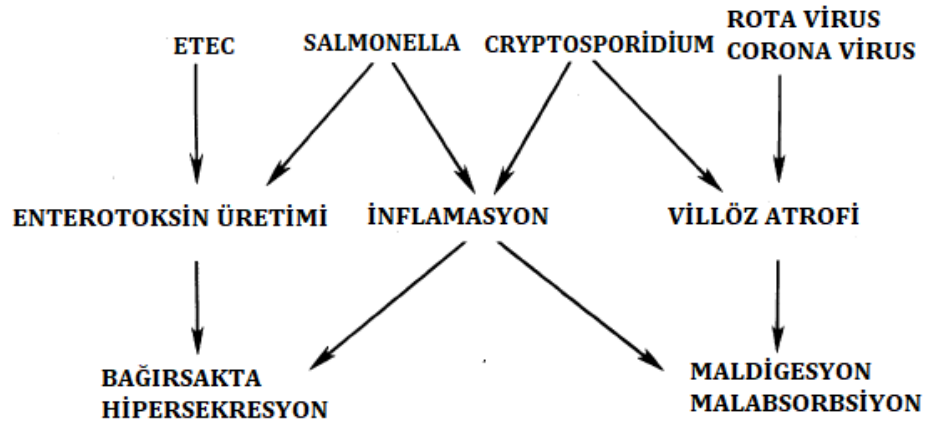
Gastrointestinal (GI) sistem, gıdalardan ve mikroorganizmalardan meydana gelen binlerce bileşiği kapsayan, vücudumuzun dış dünyasına belki de en çok maruz kalan sistem olan 200 metre kareden daha büyük bir küresel yüzeye sahip sistemdir (Scaldaferri ve diğerleri, 2012). Bağırsak içeriğini konak dokulardan ayıran ve besinlerin absorpsiyonunu düzenleyen, yerleşik mikrobiyota ile bağırsak bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimlere izin vererek bakteriyel bileşiklerin bağırsaktan dış dünyaya geçişini yöneten karmaşık bir savunma sisteminden oluşmaktadır. Epitelyal/bağırsak mukozal bariyeri, bağırsak mikrobiyotası, bağırsak mukus tabakası, bağırsak mukozası ile ilişkili doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık sistemi, bağırsak vasküler/lenfatik sistemi, bağırsak endokrin ve nöroenterik sistemden oluşan "Bağırsak Bariyeri" olarak adlandırılan enzimatik sistemdir (Lopetuso ve diğerleri, 2015). Yeni doğan buzağılarda bağırsak geçirgenliği, yaşamın ilk 24 ile 36. saati boyunca en yüksek seviyededir. Bu Ig'nin kolostrumdan buzağı kan dolaşımına seçici olmayan bir makromoleküler taşıma yoluyla transferini kolaylaştırmak için çok önemlidir (Bush ve Stanley, 1980; Besser ve Gay, 1994). Bununla birlikte, diğer yandan doğumdan sonraki ilk birkaç saat içinde artan bu geçirgenlik, yeni doğmuş buzağının bağırsak duvarını bakteriyel translokasyona oldukça duyarlı hale getirir ve enfeksiyonlara duyarlılığı artırır (Berg, 1995; Uil ve diğerleri, 1997).

Bu tez çalışmasının amacı buzağı ishallerinde serum Zonulin ve Diaminoksidaz (dAo) düzeyindeki değişimlerin incelenerek hem literatürdeki boşluğun kapatılması hem de pratik sahada rutin uygulama alanı bulabilecek sonuçlara ulaşılması planlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Neonatal Buzağı İshalleri

Buzağı ishalleri yüksek mortalite ve morbitide ile seyredip önemli ekonomik kayıplara neden olduğu uzun yıllardır bildirilmektedir (Hall ve diğerleri, 1984; Khan ve Khan, 1991; Lorenz ve diğerleri, 2011). Yüksek mortalite ve morbitide ile seyretmesi ishal etiyojisinde rol alan faktörlerin kompleks olması sonucu sağaltımın zorluğu, sıvı elektrolit dengesinin yeterli ve doğru şekilde yapılmaması sonucu şekillendiği bildirilmektedir (Bartels ve diğerleri, 2010; Khan ve Khan, 1991; Lorenz ve diğerleri, 2011). İshaller birçok faktöre bağlı olarak şekillenmektedir. Bunların başında, çevre şartlarının uygun olmaması ve yetersiz kolostrum alınmasına bağlı olarak immun sistemin zayıf olması yer almaktadır. İneklerin plasenta yapısının syndesmochorial yapıya sahip olması ve antikorların büyük olması sonucunda gebelik döneminde plasental yolla antikor geçişi olmadığından buzağılar doğduklarında immunglobulin bakımından yetersizlerdir ve yeterli miktarda kolostrum alana kadar patojenlere karşı savunmasızdır (Al ve Balıkcı, 2012; Aldridge ve diğerleri, 1992; Reber ve diğerleri, 2006). Neonatal buzağı ishallerinin etiyojisinde bakteriler başta olmak üzere parazit ve viruslar bulunmaktadır (Akyüz ve diğerleri, 2017). *Cryptosporidium parvum*, *Rotavirus* ve *Coronavirus*, buzağı ishalin en önemli bulaşıcı nedenleri arasında bulunmaktadır (Akyüz ve diğerleri, 2017; Foster ve Smith, 2009; Lorenz ve diğerleri, 2011). Enteropatojenler açısından genç buzağılarda (<1 ay) bağırsak enfeksiyonu vakalarının %75–95'inde *Escherichia coli* K99 (*E. coli*), *Coronavirus*, *Cryptosporidium parvum* (*C. parvum*) ve *Rotavirus* tespit edilmiştir (Acres, 1985; Tzipori, 1985). Neonatal buzağı ishalin patofizyolojisine bakteri enterotoksinleri, paraziter kaynaklı inflamasyon veya viral uyarıma bağlı villöz atrofi aracılık eder. Bu nedenler kript epitelinin bir fonksiyonu olan intestinal hipersekresyonu veya villöz emici hücrelerin kaybına bağlı malabsorpsiyona yol açmaktadır (Argenzio, 1985).



Şekil 1.Etiyopatogenez.

İshal: Bağırsak fonksiyon bozukluğu sonucu şekillenen malabsorbsiyon ve hipersekresyona bağlı olarak dışkının su içeriğinin miktarı ile defekasyon sıklığında artış ile karakterizedir (Akyüz ve diğerleri, 2017). Buzağı ishallerinin etiyolojisinde enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz olmak üzere çeşitli faktörler rol almaktadır (Özkan ve Akgül, 2004). Enfeksiyöz etkenler monoenfekte veya koenfekte şekilde buzağılarda ishallere yol açmaktadır (Hall ve diğerleri, 1984; Khan ve Khan, 1991).

2.1.2. Patogenezis

2.1.2.1. Bağırsaklarda İyon ve Su Transportu

İnce bağırsak mukozası normal villus ve kript hücre fonksiyonunu göstermektedir. Normal villöz emici hücre iki hayati işlevi yerine getirir. İlk olarak apikal membran üzerindeki disakkaridaz ve peptidaz enzimleri, diyet substratını emilebilir şekerler, amino asitler veya peptitlere hidrolize etmektedir. Bu mukozal sindirim olmadan birçok karmaşık substratın absorpsiyonu bozulmaktadır. İkincisi, apikal membrandaki spesifik nakil işlemleri, Sodyum (Na), Klor (Cl), heksoz veya amino asitleri epitel hücrelerine aktarır. Benzer şekilde, bu spesifik taşıyıcılar olmadan substrat, iyonlar ve suyun ince bağırsaktan emilmesi neredeyse imkansız bir hal almaktadır. Bağırsak lümeni içinde klor ve/veya bikarbonat (HCO₃) iyonları salgılayan bir kript hücresi bulunmaktadır. Bu olgunlaşmamış hücreler, villusa göç edene kadar sindirim ve emme yeteneklerine sahip değildir. Bununla birlikte, bazal durumda altta yatan bir

sekresyondan ve tam olarak aktive edildiğinde aşırı sekresyondan sorumludurlar. Net su hareketinin yönü, bu emici hücreler veya salgı hücreleri tarafından aktif çözünen taşınmanın pasif bir sonucudur. Normal şartlar altında, villöz emici fonksiyon kript sekresyonundan ağır basar ve net emilim gözlenir. Göreceli emilim ve salgı oranları nöroendokrin sistemin kontrolündedir. Örneğin; asetilkolin, hücre içi Ca iyonlarının seviyesini artırarak salgılama fonksiyonunu arttırır. Tersine, alfaadrenerjik ajanlar, hücre içi Ca'da kolinerjik kaynaklı bir artışı önleyerek bağırsak emilimini arttırır. Bu kontrol hem villus hem de kriptlerde uygulanır. Hücre içi Ca'daki artışlar, birleşmiş Na-Cl emici işlemin villus üzerindeki etkisine baskı yapar ve kriptlerde Cl salgılanmasını artırır (Morris ve diğerleri, 1980). Çoğu türde, bu Ca kanalları nörotransmitterler tarafından kısmen açık tutulur veya hormonlar bu bazal salgı durumundan sorumludur. Örneğin, atropin veya Ca kanalı blokerlerinin bazı türlerde net emilimini artırdığı görülmektedir (Donowitz ve Asark, 1982; Morris ve diğerleri, 1980).

2.1.2.2. Enterotoksin Kaynaklı Hipersekresyon

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) enterotoksin üretimi yoluyla bağırsakta hipersekresyona neden olmaktadır. Bu enterotoksinler termolabil (LT) ve termostabil (ST) olmak üzere iki adettir. Enterotoksijenik *E. coli* invaziv değildir, ancak hastalık üretmek için yüksek miktarlarda ince bağırsak mukozasına bağlanma yeteneğine sahip olmaları gerekir. İshal, hücre içi ikinci haberci sistemlerinin siklik adenozin monofosfat (cAMP) veya siklik guanozin monofosfat (cGMP)'nin sırasıyla LT- veya ST- reseptör aktivasyonundan kaynaklanır. Bu ikinci haberciler daha sonra, Ca'yı hücre içi depolardan salıvererek veya membran üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olarak salgılama tepkisine neden olan spesifik protein kinazlarını aktive eder. Kalsiyum iyonlarının, kalsiyum bağımlı bir regülatör protein (CDR) veya calmodulin ile etki ettiği görülmektedir (Argenzio, 1985).

2.1.2.3. Bağırsak İnflamasyonuna Bağlı Hipersekresyon ve Malabsorbsiyon

İnflamasyon yanıtın birkaç ürününün [örneğin bradikinin ve prostaglandinler (PG'ler)] hipersekresyonu aktive etmektedir (Kimberg ve diğerleri, 1971; Musch ve diğerleri, 1983). PG'lerin bazıları, adenil siklazı kontraluminal zardaki bir reseptör yoluyla veya araziidonik asit

metabolizması nedeniyle artan hücre içi PG seviyelerinden aktive edebilir. Bu nedenle BK, araşidonik asit yıkımı ve PG üretimi için güçlü bir uyarıcıdır. PG üretiminin çoğu lamina propiada bulunan lökositlerden kaynaklıdır (Powell ve diğerleri, 1985).

Bu nedenle malabsorptif hastalık, zorlayıcı deneysel ve terapötik problemler yaratır. Oral solüsyonların kullanımı ve rehidrasyon ve beslenme terapisine rasyonel yaklaşımlardan önce malabsorbe karbohidratın kolonik kullanım derecesi konusunda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Tablo 1.Buzağı ishallerinde etiyoloji (Bartels ve diğerleri, 2010; Khan ve Khan, 1991; Lorenz ve diğerleri, 2011).

İshal				
Bakteriyel	Viral	Paraziter	Enzim noksanlığı	Bakım besleme
<i>E. coli</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Cl. perfringens</i> , <i>Camplabakter jejuni</i> , <i>Klamidya</i>	<i>Rotavirus</i> , <i>Coronavirus</i> , <i>Adenovirus</i> , <i>Parvovirus</i> , <i>Astrovirus</i> , <i>Calicivirus</i> , <i>Bovine viral diare</i>	<i>Coccidia</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Giardia</i> , <i>Neoascaris vitulorum</i>	Disakkaridaz, Peptidaz	Bozuk süt verme, aşırı süt verme, kötü barınak koşulları

2.1.3. Etiyoloji

2.1.3.1. Bakteriyel Etkenler

2.1.3.1.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli hayvanların ve insanların gastrointestinal sisteminde bulunan Enterobacteriaceae familyasının gram negatif çubuk şekilli hareketli veya hareketsiz, fakültatif anaerobik, spor oluşturmeyen bir üyesidir (Frydendahl, 2002). *Escherichia coli*, virülans şemasına bağlı olarak altı alt gruba ayrılabilir: enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), shiga toksini üreten *E. coli* (STEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enteroagresive *E. coli* (EAEC) ve enterohemorajik *E. coli* (EHEC) (Kaper ve diğerleri, 2004; Nataro ve Kaper, 1999). Hem sığır hem de süt buzağuların epidemiyolojik çalışmaları ETEC'i yaşamın ilk 4 gününde meydana gelen yenidoğan ishalinin ana nedeni olarak göstermiş. Ancak nadiren 4 günden büyük buzağularda veya yetişkin sığırlarda ishale yol açar (Acres, 1977,1985 ; Myers ve Guinee, 1976; Sherwood ve diğerleri, 1983). Doğumdan hemen sonra fekal koliformlara oral olarak maruz kalmak, bağırsakların normal kommensal florası ile kolonileşmesine neden olmaktadır (Smith, 1965). Enterotoksijenik *E. coli* organizmaları eğer çevre fazla miktarda bulunuyorsa gıdalar ile alınırlar. Gıda ile alındıktan sonra ETEC, bağırsak epitelyumunu enfekte eder ve bağırsak villerinin enterositlerinde çoğalır. İnce bağırsağın distal kısmı, düşük hidrojen iyon konsantrasyonu (pH 6.5'ten az) nedeniyle ETEC kolonizasyonu için en uygun ortamı sağlar. Etkilenen ince bağırsakta enfekte olmuş hücrelerin kaybına ve lamina propria hasarına bağlı villöz atrofi yaygın olarak görülür. Bakteriler bağlanma için K99 antijenini eksprese eder (Francis ve diğerleri, 1989). Bağırsak epitelinin kolonizasyonundan sonra, ETEC tarafından indüklenen ısıya dayanıklı toksin üretimi bağırsakta CI salgısının yukarı regülasyonuna yol açar. Bu ozmotik olarak suyu bağırsak lümenine çeker ve buzağularda sekresyon ishali gelişmesine yol açar. *E. coli* 'ye maruz kalan epitelde, mitokondriyal fonksiyon kaybı ve Drp1'in aracılık ettiği mitokondriyal ağın önemli ölçüde parçalanmasını ve potansiyel olarak OPA1-L proteini kaybı şekillenmektedir. Yaşanan hücre stresi, azalmış epitel fonksiyonu hasarı ile sonuçlanır (Mancini ve diğerleri, 2021).

2.1.3.1.2. *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens, memelilerde ve kuşlarda çok çeşitli hastalıklara neden olan gram pozitif, spor oluşturan bir anaerobik bakteridir (Immerseel ve diğerleri, 2004). Bu mikroorganizmalar, dört ana toksinin üretimine bağlı olarak beş toksin tipine (A, B, C, D ve E) bölünebilir: alfa (α), beta (β), epsilon (ϵ) ve iota (ι) (Petit ve diğerleri, 1999). A tipi suşlar tek başına α toksini, B tipi suşlar α , β ve ϵ toksinleri üretir; C tipi suşlar α ve β toksinleri üretir; D tipi suşlar α ve ϵ toksinleri salgılar ve E tipi suşlar α ve ι toksinleri üretir. Bu gruplar arasında tip C buzağı ishallerinde sıklıkla bildirilmiştir (Rings, 2004). Alfa toksini ana ölümcül toksindir ve membran fosfolipidlerinin hidrolizi yoluyla hücre lizisini destekler (Pérez ve diğerleri, 1998; Songer, 1997). Beta toksin tripsine oldukça duyarlıdır ve mukozal nekrozu indükler (Petit ve diğerleri, 1999). Epsilon toksin evcil hayvanlarda ölümcül enterotoksemiye neden olur ve ι toksini yüksek vasküler geçirgenliği nedeniyle dermonekrozdan sorumludur (Petit ve diğerleri, 1999). Enterotoksin epitelyal sıkı eklem proteini üzerindeki etkileri nedeniyle ishale ve bağırsak kramplarına neden olur (McClane, 2001). Tüm *C. perfringens* tipleri tarafından üretilen β -2 toksinin son zamanlarda enterotoksin ile sinerjistik olarak işlev gördüğü düşünülmektedir (Harding ve diğerleri, 2002). Gastrointestinal sistemde düşük düzeyde proteolitik enzimler (örn. Tripsin) üreten yenidoğan buzağılar, *C. perfringens* C tipi tarafından kolayca enfekte olabilir, çünkü β toksin bu bakteriden etkilenen hayvanlarda görülen klinik belirtilerden sorumlu ana virülans faktörü olarak kabul edilir. Bu enfekte hayvanlarda bağırsak lezyonları, diffüz veya multifokal hemorajik nekrotizan enterit ve kanlı sıvı distansiyonu ile karakterizedir (Barker ve diğerleri, 1993).

2.1.3.1.3. *Salmonella* spp.

Salmonella enterica, çok çeşitli konakçıların gastrointestinal sistemlerinde bulunmaktadır. *S. enterica* serovar Typhimurium (*S. typhimurium*) ve serovar Dublin (*S. dublin*) sığırlarda salmonelloza neden olan en yaygın etiyolojik ajanlardır (Hughes ve diğerleri, 1971; Sojka ve diğerleri, 1977). *S. typhimurium*, Amerika Birleşik Bevetleri (ABD) 'de buzağıları etkileyen en yaygın serotiptir (Rothenbacher, 1965).

Akut ishal hastalığı en çok *S. typhimurium*'da görülür ve sistemik hastalık *S. dublin* ile ilişkilidir. 3 haftadan küçük buzağılar yaygın olarak Salmonella'dan etkilenmektedir. Etkilenen buzağılarda sıklıkla gözlenen lezyonlar, ince bağırsağın mukozasındaki psödomembranın yanı sıra mezenterik lenf düğümlerinin genişlemesini içerir. Enfekte olan sığırlar gıda kaynaklı yollar veya doğrudan temas yoluyla zoonoz kaynağı olabilir (Mead ve diğerleri, 1999).

Salmonella virülansının altında yatan temel mekanizma, bağırsak mukozasına tutunma, lenfoid dokularda çoğalma ve sistemik hastalığa yol açan konak savunma sistemlerinden kaçınma yeteneğini içermektedir. Salmonella patogenezi açısından, organizma bağırsak epitel hücrelerini istila edebilmeli, makrofajlarda hayatta kalabilmeli ve enteropatojeniteye neden olabilmelidir (Tsolis ve diğerleri, 1999). Salmonella türleri M hücreleri, enterositleri ve lenfoid dokularda kolonize olabilmektedir (Reis ve diğerleri, 2003). Lenfoid doku (örneğin tonsillar doku) enfeksiyonunu takiben, Salmonella mononükleer hücreleri ve fagositleri istila ederek tüm vücuda kolayca yayılır (Holt, 2000). Salmonella patojenisite adası 1 (SPI-1) ve Salmonella patojenisite adası 5 (SPI-5)'in tip III salgı sistemini etkilediği bilinmektedir ve esas olarak buzağılardaki salmonella kaynaklı ishalden sorumludur (Collazo ve Galán, 1997; Tsolis ve diğerleri, 1999). Salmonella patojenisite adası 2 (SPI-2), tip III salgı sisteminde yer alır ve organizmanın hücre içi hayatta kalmasından sorumludur (Ochman ve diğerleri, 1996).

Salmonellozun klinik görünümü, fibrin ve kan varlığında sulu ve mukoid ishal ile karakterizedir (Fossler ve diğerleri, 2005). Salmonella hem yetişkin sığırlarda hem de buzağılarda ishale neden olmasına rağmen, enfeksiyon daha çok 10 günlük ile 3 aylık buzağılarda ciddi semptomlara neden olmaktadır (Fossler ve diğerleri, 2005). Buzağılar, enfeksiyon derecesine (ör., klinik veya subklinik enfeksiyon) bağlı olarak organizmayı değişken zaman aralıklarında ve aralıklı olarak saçabilirler.

2.1.3.1.4. *Campylobacter Jejuni*

Campylobacter uzun zamandır hayvanların patojen ve komensal organizması olarak kabul edilmektedir ve dünya çapında insanlarda bakteriyel gastroenteritin en yaygın nedenlerinden biridir (Acheson, ve Allos, 2001). Campylobacter'ın herhangi bir semptom göstermediği diğer hayvanların aksine, Campylobacter türleri, özellikle *C. jejuni*, buzağılarda ishale neden olabilir (Diker ve diğerleri, 1990; Schulze, 1992). Campylobacter türleri genellikle sığır bağırsak sisteminde, özellikle de buzağılarda yaşar. İsviçre'de büyük buzağı çiftliklerinde

yaşamın ilk 3 ayında buzağılarda şekillenen ishallerin %39'unun *C. jejuni*'nin oluşturmaktadır (Busato ve diğerleri, 1999). *C. jejuni*'nin fagositik olmayan hücrelere girme yeteneği patogenezi için çok önemli olduğu düşünülmektedir (Mcsweegan ve Walker, 1986). Proteinli toksinler, birincil etki tarzlarına bağlı olarak iki sınıfa ayrılmaktadır (enterotoksinler ve sitotoksinler). Enterotoksinler bir hücrel reseptöre bağlanma, hücreye girme ve hücre içi cAMP seviyelerini yükseltme kapasitesine sahip salgılı proteinlerdir. enterotoksin sitotonik prototipleri *vibrio cholerae* toksin (CT) ve *E. coli* LT ile yakından ilişkidir (Spangler, 1992). Sitotoksinler hedef hücreleri öldüren, hücre içi olarak hareket eden veya hücrelerde gözenekler oluşturan proteinlerdir. Hücre içi aktiviteye sahip sitotoksinler genellikle hücrelere bağlanır ve hücre sitoplazmasına ulaşmadan önce işlenir.

2.1.3.2. Viral Etkenler

2.1.3.2.1. Rotavirus

Sığır rotavirüsü (BRV), buzağı ishalinde birincil etiyolojik etkindir. Virüs, Reoviridae familyasındaki Rotavirüs cinsine aittir. Rotavirüs, 11 çift sarmallı RNA segmentine (16~21 kb) sahip, zarfsız bir viriondur ve ısı değişkenliği ile geniş bir pH aralığında çok stabildir (Fenner ve diğerleri, 2011). Ara kapsid proteininin antijenik ve genetik benzerliklerine dayanan yedi serogrup (A'dan G'ye) rotavirüs vardır (Steele ve diğerleri, 2004). A grubu rotavirüsler evcil hayvanlarda rotaviral enfeksiyonun ana nedenidir (Steele ve diğerleri, 2004). Çoğu BRV (% 95) grup A'ya aittir, ancak B ve C rotavirüsleri de saha olgularında tanımlanmıştır (Ghosh ve diğerleri, 2007; Tsunemitsu ve diğerleri, 1992). A Grubu rotavirüsler ayrıca virionun dış kapsidini oluşturan ve anti-viral nötralize edici antikor üretimini indükleyen ara kapsid proteini (VP) 4 (proteaza duyarlı protein) ve VP 7'nin (glikoprotein) genetik ve antijenik benzerliklerine dayanarak P veya G tiplerine ayrılabilirler (Desselberger ve Estes, 2005). Evcil hayvanlarda 16 G tipi ve 27 P tipi bildirilmiştir (Desselberger ve Estes, 2005). Sığır rotavirüsleri G1, G6, G8 veya G10 tipleridir (Gulati ve diğerleri, 2007; Martella ve diğerleri, 2007). Sığırlarda en yaygın G6 ve G10 tipi olduğu bildirilmektedir (Martella ve diğerleri, 2007). Ara kapsid proteini 4, VP6 ve VP7, viral yapı, virüs bağlanması ve antijenikliğin korunmasında önemli bir rol oynarken, yapısal olmayan glikoprotein 4 (NSP4) viral enterotoksin olarak özel bir rol oynamaktadır. Bu protein ayrıca sitoplazmaya kalsiyum iyon akışını yükselterek hücrel homeostazise müdahale

etmektedir (Ball ve diğerkleri, 2004). Bu değışiklikler besinlerin ve suyun bağırsak epitelyumu boyunca hareketindeki sert değışikliklerden sorumludur ve viral patogeneze için histopatolojik lezyonlardan daha önemlidir (Cho ve Yoon, 2014).

Sığır rotavirüsü genellikle 1 ile 2 haftalık buzağılarda ishale neden olur. Buzağılar tarafından alınan süt, çok çeşitli gastrointestinal pH düzeyleri ve bağırsak epitel hücrelerinin enfeksiyonu altında rotavirüsün hayatta kalması için iyi bir ortam sağlayabilir (Dhama ve diğerkleri, 2009). Bu, süttten kesilen buzağıların buzağı ishaline neden daha duyarlı olduğunu açıklayabilir. Virüsün çok kısa bir kuluçka dönemi (12-24 saat) vardır (Steele ve diğerkleri, 2004) ve etkilenen buzağılarda perakut ishali indükler. Enfekte olduktan sonra, buzağılar 5-7 gün boyunca dışkı yoluyla büyük miktarda virüs yayar, böylece çevreyi kirletir ve virüsün diğerk buzağılara bulaşmasına neden olur. Virüs, ince bağırsak villerinin epitel hücrelerinin sitoplazmasında çoğalır. Villusta olgun enterositlerin imhası, hasarlı hücrelerden vazoaaktif bileşenler tarafından enterik sinir sisteminin aktivasyonu ve rotavirüs enfeksiyonu malabsorptif diyare neden olur. Viral enfeksiyon villus atrofisine neden olur ve genellikle ince bağırsağın kaudal kısmını etkiler. Türler arası bulaşma kanıtı insan ve hayvan rotavirüsleri (örneğin domuz, sığır, kedi ve köpek) arasındaki genetik yeniden sıralama zoonotik rotavirüslerle ilgili endişelerini artırmaktadır (Martella ve diğerkleri, 2010).

2.1.3.2.2. Coronavirus

Sığır coronavirus (BCoV) pozitif anlamda tek iplikçikli RNA genomuna (27- 32 kb) sahip zarflı bir virüstdür. Bu patojen, daha önce grup 2a coronavirus olarak sınıflandırılan Betacoronavirüs cinsinin bir üyesidir (Decaro ve diğerkleri, 2008). Virüs enfeksiyonu sığırlarda üç ayrı klinik sendrom olarak ortaya çıkabilir: a) 1 ila 2 haftalık buzağılarda buzağı ishali; b) yetişkin hayvanlarda hemorajik diyare ile kış dizanterisi ve c) hem gençlerde hem de yetişkinlerde sığır solunum yolu hastalıkları kompleksi dahil solunum hastalıkları , olmak üzere değerlendirilebilir (Cho ve diğerkleri, 2001; Liu ve diğerkleri, 2006).

Virüsün uç proteini (S), antikorun nötralle edilmesinin yanı sıra virüs girişı ve patogeneze de önemli bir rol oynamaktadır (Lin ve diğerkleri, 2000). Virüsün uç proteini iki alt birimden (S1 ve S2) oluşur ve virüs-konakçı etkileşimi için çok önemlidir. S1 alt birimi virüsün konak hücre reseptörlerine bağlanmasını kolaylaştırırken, S2 alt birimi viral zarfın konak hücrelere füzyonunda işlev görür (Yoo ve diğerkleri, 1991)

Viral enfeksiyon ince bağırsakta başlar ve genellikle tüm ince bağırsak ve kolon boyunca yayılır. Mikroskopik olarak, etkilenen ince bağırsağın ve kolon villusları atrofik hale gelir ve lamina propria nekrotik durumdadır. Başlangıçta, virüsün S proteini ve hemagglutinin-esteraz (HE) proteini bağırsak epitel hücrelerine bağlanır ve birleşir. Virüs enterositlere tutunur ve çoğalır, normal bir salgı mekanizması ve hücre liziz yoluyla salınır. Olgunlaşmış villöz epitel hücreleri virüsün birincil hedefidir, ancak kript enterositler de etkilenir. Etkilenen hayvanlardaki klinik belirtiler, enterositlerin virüs tarafından şifrenmesi için yapılan hasar nedeniyle genellikle daha uzun bir süreye sahiptir (Schultze ve diğerleri, 1991).

2.1.3.2.3. Bovine Viral Diare

Bovine viral diare (BVD) zarflı, tek sarmallı bir RNA virüsüdür (12.3 kb) ve Flaviviridae familyasındaki Pestivirüs cinsinin bir üyesidir (Flores ve diğerleri, 2002). Cins dahil üç tür vardır: Bovine viral diare, sınır hastalığı virüsü ve klasik domuz ateşi virüsü. Bovine viral diare viral genomdaki 5 'çevrilmemiş bölgenin sekans benzerliğine dayalı olarak iki türe (BVD1 ve BVD2) ayrılabilir. Bu iki tipe ek olarak, BVD3 yakın zamanda diğer Pestivirüs türleri ile birlikte geçici türler olarak önerilmiştir (Giangaspero ve diğerleri, 2013). Her tip ayrıca hücre kültüründe litik sitopatik etkilere neden olma yeteneklerine dayanarak iki biyotipe (sitopatik ve sitopatik olmayan) ayrılabilir. Virüsün sığırlarda kalıcı enfeksiyonundan sitopatik olmayan BVD suşları sorumludur (Harding ve diğerleri, 2002).

Bovine viral diare enfeksiyonunun klinik semptomları, konakçı bağışıklık durumu, gebelik ve gebelik süresine ve diğer patojenlerle birlikte enfeksiyonun varlığına veya yokluğuna bağlı olarak subklinikten ölümcül hastalığa değişir. Enfekte hayvanların çoğu düşük dereceli ateş, lökopeni, anoreksi ve azalmış süt gibi hafif klinik belirtiler geliştirir.

Akut BVD enfeksiyonu diyare, pireksi, depresyon, anoreksi, azalmış süt üretimi, oral ülserasyonlar, hemorajik sendrom ve immünosupresyona yol açan lenfopeni/lökopeni ile karakterizedir (Baker, 1995). İmmünsüprese edilmiş sığırlar, diğer patojenlerle (örn. Sığır Solunum Hastalığı Kompleksi) eşzamanlı enfeksiyon nedeniyle diğer hastalıklara duyarlı hale gelir.

Gebe inekler ve düveler, fetus immünokompetan olmadığından 45-125 günlük gebelik sırasında sitopatik olmayan bir BVD 'ye maruz kaldıklarında kalıcı olarak persiste enfekte (PI)

buzağılar doğmaktadır. Çoğu PI buzağı zayıf ve diğer patojenlere duyarlı olarak doğar ve zayıf büyüme görülmektedir. Persiste enfekte hayvanları ayrıca ekzojen veya endojen sitopatik BVD'ye maruz kaldıklarında ölümcül “mukozal hastalık” gelişmektedir (Bolin ve diğerleri, 1985). Mukozal hastalık klinik olarak mukozal ülserasyon, vezikül oluşumu, erozyonlar, ishal ve ölüm ile karakterizedir. Bovine viral diare, buzağı diyaresine iki ana yolla neden olabilir: 1) enterositlerde birincil hasara ve koenfeksiyona yatkınlığa neden olan kalıcı enfeksiyon veya 2) kript enterositlerde replikasyon ve ishale katkıda bulunan lezyon oluşumu ile birlikte geçici enfeksiyon (Baker, 1995).

2.1.3.2.4. Torovirüsü

Sığır torovirüsü (BToV) Coronaviridae familyasındaki Nidovirales ailesindeki Torovirus cinsine ait zarflı, pozitif iplikli bir RNA virüsüdür (25~30 kb). At torovirüsü, domuz torovirüsü ve insan torovirüsü alt gruplara ayrılmaktadır (Koopmans ve Horzinek, 1994). Torovirüsler sığırlarda bulaşıcı gastrointestinal ajanlar ve domuz yavruları ile çocuklarda akut enterik enfeksiyonun yol açmaktadır (Clarke ve Lambden, 2005; Kroneman ve diğerleri, 1998; Lodha ve diğerleri, 2005). İnsan ve sığır torovirüsleri arasındaki morfolojik benzerlikler ve antijenik çapraz reaktivite BToV'nin potansiyel zoonotik doğası hakkında bir endişe yaratmıştır (Hoet ve Saif, 2004). Sığır torovirüsleri 3 haftalıktan küçük genç buzağılarda hafif ila orta şiddette ishale yol açmaktadır (Hoet ve Saif, 2004). Virüs oral veya nazal aşılamadan sonra, bağırsak kript epiteline uzanan bağırsak villerinin orta ve alt kısımlarındaki epitelyal hücreler enfekte olur, bu da kalın bağırsakta nekroz ile birlikte ince bağırsakta hücre ölümüne ve epitel deskuamasyonuna yol açar (Fagerland ve diğerleri, 1986; Pohlenz ve diğerleri, 1984). Villöz ve kriptik enterosit hasarı, malabsorpsiyon/maldigesyon ishali indükler. Virüsün neden olduğu lezyonların %30 ile %50'si üst ince bağırsakta bulunur, bu da etkilenen hayvanlarda hafif ila orta dereceli ishali açıklayabilir (Woode ve diğerleri, 1985). BCoV'a benzer şekilde BToV antijeni ve viral RNA da nazal sekresyonlarda tespit edilmiştir, ancak bu faktörlerin solunum yolu hastalıklarındaki rolü ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (Hoet ve diğerleri, 2002).

2.1.3.2.5. Norovirüs

Sığır norovirüs (BNoV), Caliciviridae familyasındaki Norovirüs cinsine ait, zarfsız, tek sarmallı pozitif anlamda bir RNA virüsüdür (7.4~8.3 kb) (Clarke ve Lambden, 2000). Sığırlarda BNoV enfeksiyonunu araştırmak ve virüsleri insan NoV'lerine kıyasla moleküler olarak karakterize etmek için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Moleküler yöntemler kullanılarak bildirilen BNoV saptama sıklığı, farklı ülkeler arasında %7.5 ile % 49.6 arasında değişmektedir. Tanımlanan tüm BNoV'ler filogenetik olarak insan NoV'lerinden farklıdır, bu da BNoV'lerin zoonotik potansiyelinin çok düşük olduğunu gösterir (Cho ve diğerleri, 2013).

Norovirüsler, insanlarda (hem yetişkinler hem de çocuklar) akut ve sporadik bakteriyel olmayan gastroenteritin ana nedenidir. Bu patojenlerin sığır, domuz, köpek ve vizon gibi hayvanlarda gastroenterik hastalığa neden olduğu bildirilmiştir (Scipioni ve diğerleri, 2008). Son zamanlarda oral yolla enfekte olmuş yeni doğan buzağılar üzerinde BNoV Jena suşu ile deneysel bir enfeksiyon oluşturularak çalışma yapılmıştır (Otto ve diğerleri, 2011). Araştırmacılar, virüsün ince bağırsağın epitel hücrelerini enfekte ettiğini ve virüs dökülmesiyle ishale yol açarak serokonversiyona neden olmayan villöz atrofiye (jejunum ve ileum) neden olduğunu göstermektedir. Klinik olarak sağlıklı sığırların dışkıda BNoV bulunduğu bildirilmiştir (Jor ve diğerleri, 2010; Mijovski ve diğerleri, 2010; Reuter ve diğerleri, 2009).

2.1.3.2.5. Nebovirüs

Nebovirüsler, Caliciviridae familyasında yeni kurulan Nebovirüs cinsine aittir (Carstens, 2010). Viral genom yaklaşık 7.4 kb uzunluğundadır (Oliver ve diğerleri, 2006; Smiley ve diğerleri, 2002). Newbury ajanı-1 ve Nebraska benzeri sığır calicivirüsü, sırasıyla İngiltere (1978) ve ABD Nebraska (1980) dana buzağı ishal vakaları ile ilişkili iki ayrı genotip oluşturur (Oliver ve diğerleri, 2006; Smiley ve diğerleri, 2002; Woode ve Bridger, 1978). Nebovirüs'ün varlığı Fransa (2011), İtalya (2011) ve Kore (2008) dahil olmak üzere diğer ülkelerde rapor edilmiştir (Di Martino ve diğerleri, 2011; Kaplon ve diğerleri, 2011). Buzağı ishallerinde bildirilen Nebovirüs prevalansı, coğrafi bölgeye bağlı olarak %7 ile %28 arasında değişmektedir (Cho ve diğerleri, 2013; Di Martino ve diğerleri, 2011; Kaplon ve diğerleri, 2011; Oliver ve diğerleri, 2006).

2.1.3.3. Paraziter Etkenler

2.1.3.3.1. *Cryptosporidium parvum*

Buzağılarda yaygın olarak *Cryptosporidium parvum*'un neden olduğu kriptosporidiyoz , 6 haftalıktan küçük yenidoğan ve süttten kesilmiş buzağılarda önemli enterik hastalık nedenleri arasında bulunmaktadır (Thomson ve diğerleri, 2017). Cryptosporidiosis'in bağırsak epitelinin tahrip olmasına neden olarak villus ve mikrovillilerin azalmasına yol açmaktadır. Bu morfolojik hasar, enzimatik aktivitede bir azalmaya ve emici yüzeyin azalmasına yol açar, buna bağlı olarak malabsorpsiyon şekillenmektedir (Argenzio ve diğerleri, 1990; Gookin ve diğerleri, 2002). Klinik belirtiler arasında sulu ve bazen kanlı ishal, besin madde emilim bozukluğu, dehidrasyon ve ciddi vakalarda ölüm yol açabilmektedir (Naciri ve diğerleri, 1999). Ookistlerin çok sert bir dış kabuğu olduğundan parazitin ortamdan uzaklaştırılması zordur. Ookistler parazitin çevrede uzun süre hayatta kalmasını sağlamaktadır, geniş bir sıcaklık aralığına (-22 °C ila 60 °C) dayanıklıdır (Robertson ve diğerleri, 1992) ve yaygın olarak kullanılan çiftlik dezenfektanlarının çoğunun etkilerine dirençlidir (Casemore, 1990). Yenidoğan buzağılar için bulaşıcı doz 17 ookist kadar düşük olabilmektedir (Zambrinski ve diğerleri, 2013). Hastalık normalde yeterli kolostral antikorların emildiği ve diğer gastrointestinal patojenlerle birlikte enfeksiyon olmadığında uygulanan destekleyici sağaltım ile hayvanların sıcak ve kuru tutulduğu yenidoğan buzağılarda kendi kendini sınırlamaktadır (Thomson ve diğerleri, 2017). Klein ve diğerleri (2008) yaptığı çalışmada *C. parvum* enfeksiyonunu takiben buzağılarda bağırsak fonksiyonlarını retinil-palmitat absorpsiyonu dışındaki tüm fonksiyonların 14. günde önemli ölçüde azaldığını bulmuştur. Enfekte buzağılarda 21. günde gözlemlenen bağırsak iyileşmesi ile birlikte bağırsak besin madde emme kapasitesinde azalma ve bağırsak geçirgenliğinde artma görülmüş ve enfekte olmuş buzağılar, bu süre zarfında düşük bir büyüme oranı göstermiştir (Klein ve diğerleri, 2008).

2.1.3.3.2. Giardiasis

Kamçılı protozoon grubunda yer alan *Giardia*, giardiasis'in nedensel ajanıdır. *Giardia* türleri, memelilerden kuşlara ve amfibilere kadar çok sayıda konakçıyı enfekte edebilmektedir.. *Giardia duodenalis*, dünya çapında insanlarda ve memelilerde en yaygın enterik parazitlerden biridir yılda ortalama 280 milyon insan gastroenterit vakasına neden olmaktadır (Einarsson ve diğerleri, 2016). Giardiazis, çeşitli hayvan türlerinde sık karşılaşılan bir parazit hastalığıdır ve bağırsak malabsorpsiyonu ve ishal gibi uzun vadeli sonuçlara neden olur. Bağırsak geçirgenliğinin artması, "sızıntılı bağırsak" olarak da bilinen, inflamajenik etkileri ve bağırsak mikrobiyotasındaki bozulmaları tetikleyebileceği düşünülmektedir (Alıç ve diğerleri, 2022). *Giardia*, geviş getiren hayvanlarda ishal, kilo kaybı ve emilim bozukluğu ile karakterize yaygın bir hastalıktır, ancak asemptomatik enfeksiyonlar da yaygın olarak görülmektedir (Olson ve diğerleri, 2005). Araştırma sonucunda, doğal enfekte kuzularda *Giardia duodenalis* ile ilişkili olarak vitamin D seviyelerindeki azalmanın intestinal mukozal bariyerdeki hasardan etkilenebileceği düşünülmektedir (Çamkerten ve diğerleri, 2019). Aynı zamanda köpekler üzerinde yapılan çalışmada giardiyazda ölçülen D-dimer konsantrasyonları, muhtemel trombotik ve enflamatuar durum bağlı olarak D-dimer seviyesinde yükselme görülmektedir (Ural ve diğerleri, 2018).

2.2. İntestinal Bariyerin Yapısal Bileşenleri

"Bağırsak bariyeri" ve "bağırsak geçirgenliği" terimleri, aynı anatomik yapının iki farklı yönünü tanımlamaktadır (Bischoff ve diğerleri, 2014).

2.2.1. Karıştırılmamış Su Tabakası

Bağırsak epitelyal difüzyon bariyerinin bu en dıştaki bileşeni, integral yüzey membran enzimleri ile substrat hidrolizinin kinetik analizinden belirlenmektedir (Smithson ve diğerleri, 1981). Bu katmanın boyutu lümen içindeki karıştırmadan etkilenebilmektedir ve 100–800 nm derinliğinde olduğu tahmin edilmektedir (Anderson ve diğerleri, 1988). Bu bileşen, birçok besin maddesinin ve ilacın, özellikle misel ile çözündürüldükten sonra genellikle bu katmandan

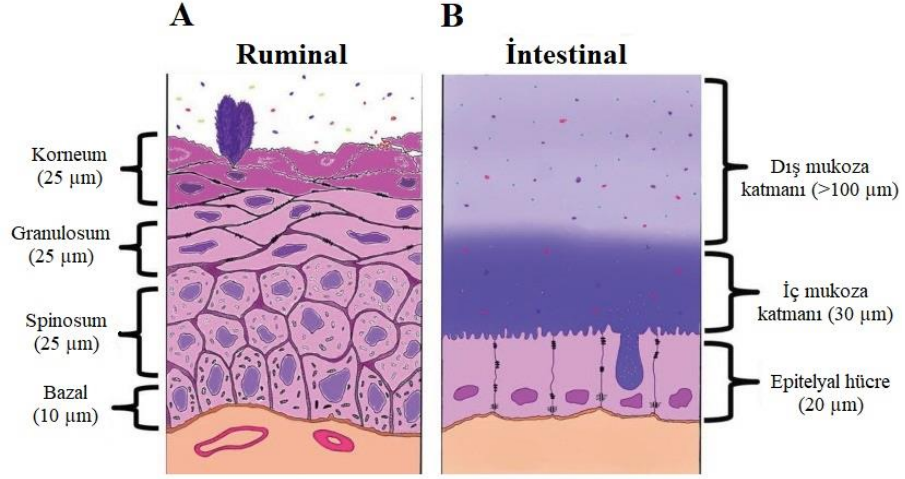
geçen yağda çözünen bileşiklerin taşınmasında hız sınırlayıcı bir adımdır (Thomson ve diğerleri, 1993).

2.2.2. Mukozal Yüzey Hidrofobikliği

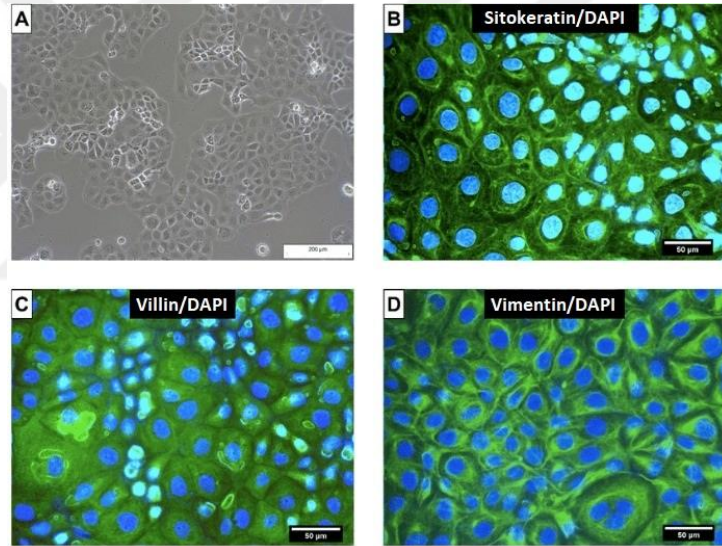
Mukozal yüzey hidrofobikliği epitelyumu kaplayan mukusun üst kısmını ve mide savunmasında anahtar bir faktör olan yüzey aktif bir fosfolipid tabakasıdır (Hills ve diğerleri, 1983). Bununla birlikte ince ve kalın bağırsakta biyolojik rolü büyük ölçüde keşfedilmemiştir. Bu faktör temas açısı ölçümü ile değerlendirilebilir. Lugea ve diğerleri (2000) tarafından yapılan bir çalışmada, sıçan kolonunda yüzey aktif fosfolipitleri uzaklaştırmak için deterjan uygulanması, mukozal yüzey hidrofobikliğin azalmasına ve hidrofilik makromoleküle mukozal geçirgenliğin artmasına neden olmuştur. Steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID) mukus fosfatidilkolinin azaltılması yoluyla mukozal yüzey hidrofobikliğini azaltır (Lugea ve diğerleri, 1997).

2.2.3. Epitel Tabakası

Gastrointestinal mukozal epitelin kendisi, besinlerin bağırsak lümeninden dolaşıma emilmesine izin vermek ve lümen mikroflorasının ürünleri (örneğin endotoksinler) gibi potansiyel olarak toksik bileşiklerin geçişini kısıtlamak için tasarlanmış oldukça seçici bir intestinal bariyerdir (Madara, 1990; Hollander, 1992).



Şekil 2.Ruminal çok katlı yassı epitel (A). İntestinal tek katlı kolumnar epitel (B) (Steele ve diğerleri, 2016).



Resim 1.(A)Ters ışık mikroskobu (100 x büyütme) buzağı ince bağırsak epitel hücresi (B) sitokeratin ile işaretlenmiş epitel hücresi (C) villin ile işaretlenmiş epitel hücresi (D) mezenkimal belirteç vimentin/4',6-Diamidino-2-phenylindole ile işaretli çekirdek (Reisinger ve diğerleri, 2019).

Epitelyal permeasyon için iki ana yol vardır: transepitelyal ve parasellüler. Epitelyal bariyer fonksiyonunun bütünlüğü hem sağlıklı epitel hücrelerinin hem de fonksiyonel olarak normal bir parasellüler yolun varlığına bağlıdır (Farhadi ve diğerleri, 2003). Parasellüler yol, esas olarak epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılarla kontrol edilen karmaşık bir yapı dizisidir. Bu yol, endotoksinler ve diğer bakteriyel yan ürünler gibi makromoleküllere bağırsak geçirgenliğinin önemli bir düzenleyicisidir (Hollander, 1992). Epitel tabakası, çeşitli fizyolojik

ve patolojik koşullar altında boyutunu değiştirebilmektedir (Madara, 1990; Madara, 1983) yılında yaptığı çalışmada transepitelyal direncin (TER) ve sıkı bağlantı yapısının ozmotik yük ile hızla değiştirilebileceğini göstermiştir. Luminal ozmotik yük özellikle sodyum-cotransport aktive edildiğinde, sıçan jejunumunda büyük moleküllere parasellüler geçirgenliği artışına yol açmaktadır (Pérez ve diğerleri, 1996). Ayrıca, hipertonic solüsyonun (Laker ve Menzies, 1977) ve glikoz gibi öğünle ilişkili solütlerin alımından sonra bağırsak geçirgenliği artırmakta ince bağırsağın besin toplama yeteneğini artırabilmektedir (Madara ve diğerleri, 1990).

Hem epitel hücrelerinin hem de parasellüler kanalın bütünlüğü için gerekli olan ana yapılardan biri hücre iskeleti adı verilen ve sitozol boyunca uzanan ve dış hücre yüzeyindeki hücre-hücre temas noktalarıyla temas eden hücre içindeki protein filamentlerinin karmaşık yapısıdır [örneğin adherens junctions (AJs, yakın bağlantılar)] (Avila, 1987). Hücre iskeleti sadece parasellüler yol için gerekli değildir, aynı zamanda gastrointestinal epitel dahil tüm ökaryotik hücrelerin normal yapısını, taşınmasını ve fonksiyonel bütünlüğünü korumak için de çok önemlidir (Avila, 1987; Banan ve diğerleri, 1988). Hücre iskeleti üç tip protein ipliği içermektedir: aktin filamentleri, mikrotübüller ve ara filamentler (Farhadi ve diğerleri, 2003). Mikrotübüllerin bozulması (örneğin kolşisin veya antimitotik ilaçlar tarafından) hücre fonksiyonunda ve bağırsak bariyerinin yapısal bütünlüğüne bozulmalara yol açmaktadır (Avila, 1987; Banan ve diğerleri, 1988). Oksidanlar veya etanol tarafından mikrotübüllerin bozulması, tek tabakalı bariyer bozulmasına yol açmaktadır (Banan ve diğerleri, 2000; Banan ve diğerleri, 1999). Aktin bağırsak bariyer bütünlüğünde ve özellikle bağırsak sıkı bağlantı halkalarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bariyer disfonksiyonu, oksidanların neden olduğu aktin bozulmasına bağlanmıştır (Banan ve diğerleri, 2000). Transsellüler yol, birçok molekülün hücreye lümenal taraftan girip serozal taraftan çıkmasına izin verir ve ayrıca bağırsak geçirgenliğinin düzenlenmesinde de önemli rol oynar (Farhadi ve diğerleri 2003). Berin ve diğerleri (1998) tarafından sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada antiijen duyarlılığının mast hücresinden bağımsız transsellüler yolu artırdığını ve bunun da mast hücresi aktivasyonunu tetiklediğini ve mast hücresine bağlı parasellüler yoldan bağırsak geçirgenliğini artırdığını göstermektedir.

2.2.4. Endotel Tabakası

Kılcal endotel bariyeri, bağırsak bariyer fonksiyonunun korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Farhadi ve diğerleri, 2003). Sun ve diğerleri (1997) tarafından yapılan bir çalışmada, endotel hasarı hem endotelial hem de epitelyal geçirgenlikteki artışlarla ilişkilendirilmiştir.

2.3. Bağırsak Geçirgenliğini Modüle Eden Mekanizmalar

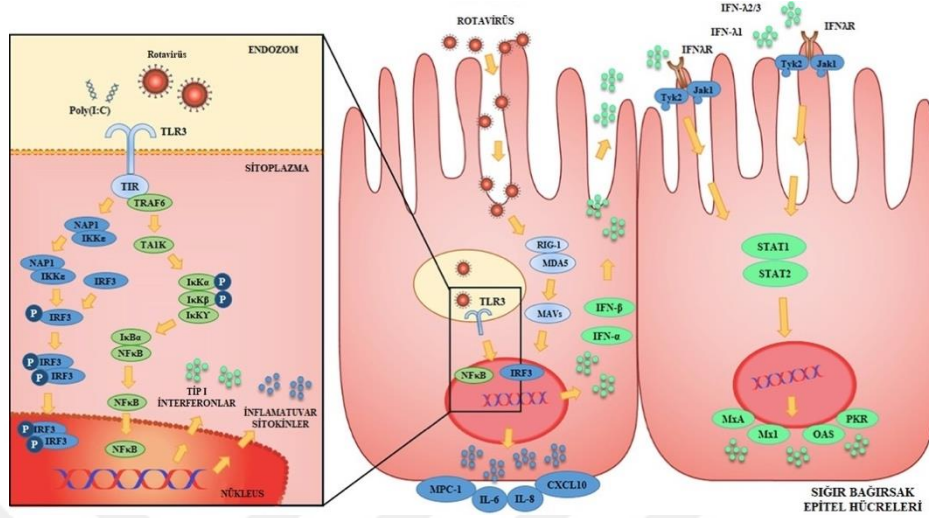
2.3.1. Mukozal İmmünoloji ve Bariyer Fonksiyonu

Hem fizyolojik hem de patolojik koşullarda, vücuttaki epi ve endotel hücre katmanlarındaki paraselüler geçirgenliği kontrol etmek için çeşitli araçlar TJ konformasyonunu etkileyebilir. Büyüme faktörleri, sitokinler, bağırsak bakterileri, diyet bileşenleri ve proteazların bağırsak TJ açıklığını düzenlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir (Van Spaendonk ve diğerleri, 2017).

İnflamatuvar bağırsak hastalığında (IBD) hastalarında saptandığı üzere gibi makrofajlar, T-hücreleri ve doğal öldürücü hücreler (NK) de dahil olmak üzere çeşitli hücreler tarafından üretilen TNF-a ve IFN- γ 'nin aralarında bulunduğu sitokinlerin varlığı ile sağlanmaktadır. Bu sitokinlerin infiltre edici immün hücrelerin yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanması, daha fazla inflamatuvar mediatör olan nükleer faktörü kappa B (NF κ B) üretimine yol açan hücre sinyal yollarının aktivasyonu ile başlayan veya inflamatuvar süreci sürdüren apoptozis ile seyreden bir dizi olayı başlamasına yol açmaktadır (Van Spaendonk ve diğerleri, 2017). Hücre kültürü deneylerinde, TNF-a ve IFN- γ 'nin, miyosin hafif zincir kinaz (MLCK)'nin aktivasyonu yoluyla paraselüler geçirgenliği düzenlediği, MLC hiperfosforilasyonu ve TJ'lerin açılması ile sonuçlandığı gösterilmektedir (Madara ve Stafford, 1989; Ye ve diğerleri, 2006; Zolotarevsky ve diğerleri, 2002). IL-4 ve IL-13 ise gözenek oluşturan claudin-2 ve apoptotik yolların indüklenmesi yoluyla hücre dışı geçirgenliği arttırmaktadır (Ceponis ve diğerleri, 2000; Zünd ve diğerleri, 1996; Wisner ve diğerleri, 2007).

Sitokinlerin yanı sıra proteazlar da inflamasyonu düzenlemek için makrofajlar, nötrofiller ve mast hücreleri gibi inflamatuvar hücreler tarafından mukozaya salınır. Proteazlar hücre dışı

matrisi, mukozal proteinleri ve hatta canlı bakterileri bozmaktadır (Pham, 2006). Aynı zamanda spesifik reseptörler aracılığıyla sinyal molekülleri olarak işlev görürler (Van Spaendonk ve diğerleri, 2017).



Şekil 3. Sığır bağırsak epitel hücrelerinde rotavirüse karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkisi (Villena ve diğerleri, 2018).

2.3.1.1. Proteaz ve Proteinaz Aktif Reseptörler

Proteazlar bir peptit bağını hidrolize edebilen enzimlerdir. Bu bakımdan en iyi sindirim özellikleriyle, pankreas proteazlarıyla bilinmektedirler (Van Spaendonk ve diğerleri, 2017). Bununla birlikte bakteriler, epitel hücreleri, yerleşik ve infiltre edici enflamatuvar hücreler, hem hücre içi hem de hücre dışı olarak çeşitli biyolojik işlevler uygulayan lümen ve mukozal proteazlar üretilmesini sağlamaktadır. Proteazlar inflamasyon, apoptoz, pıhtılaşma ve hücre büyümesi ve göçünde önemli işlevleri bulunmaktadır (Antalis ve diğerleri, 2007; Rao ve diğerleri, 1998). Aşırı proteoliz doku hasarına neden olabileceğinden, patolojiyi önlemek için proteaz aktivitesinin sıkı bir şekilde düzenlenmesi gereklidir. Aktivasyon için proteolitik bölünme gerektiren inaktif zimojenler olarak sentez ve diğer yandan proteaz aktivitesinin endojen inhibitörler veya antiproteazlar tarafından sonlandırılması gibi proteaz aktivitesini kontrol eden birçok mekanizma vardır (Van Spaendonk ve diğerleri, 2017). IBD ve IBS gibi gastrointestinal hastalıklarda proteaz dengesinde artan proteaz aktivitesi ile bir düzensizlik gözlenmektedir, bu da endojen veya sentetik inhibitörler tarafından proteaz inhibisyonu yapılmasına yol açmaktadır (Vergnolle, 2016). Proteazlar, hedef peptit bağının hidroliz mekanizmalarına göre sınıflandırılır. Bu, aynı klana ait olan tüm proteazların aktif bölgelerinde

aynı nükleofilik amino asidi paylaştığını ve aynı inhibitörlerle reaksiyona girme olasılığının daha yüksek olduğunu gösterir. Memelilerde beş proteaz sınıfı tanımlanmıştır: serin-, metallo-sistein-, aspartat- ve treonin proteazları (Van Spaendonk ve diğerleri, 2017).

Proteazlar sadece parçalayıcı enzim olarak görev yapmazlar. Proteaz aktive reseptör (PAR) proteolitik aktivasyonu ile sinyal molekülleri olarak da hareket edebilirler. Bu ailede dört reseptör tanımlanmıştır (PAR1, PAR2, PAR3, PAR4) (Vergnolle, 2009). Bu G-proteinine bağlı reseptörlerin aktivasyonu, N-terminal hücre dışı kuyruğunun proteolitik kesilmesinden sonra meydana gelir ve bağlı bir ligand olarak işlev gören yeni bir N-terminalini serbest bırakır. Bu spesifik alan, reseptör üzerindeki üç hücre dışı döngüden ikincisini bağlar ve böylece hücre içi bir sinyal üretir. Proteaz aktive reseptörler dokular ve hücre tipleri arasında her yerde bulunur. Bağırsakta epitel hücreleri, endotel hücreleri, nöronlar, inflamatuvar hücreler, mast hücreleri, düz kas hücreleri ve fibroblastlarda bulunurlar. Hücre tipine bağlı olarak farklı sinyal yolları tanımlanmıştır (Macfarlane ve diğerleri, 2001). Bu aynı zamanda proteazların motilite, hücre proliferasyonu ve apoptoz, immün yanıt, sitokin üretimi, nörojenik inflamasyon, ağrı ve PAR aktivasyonu yoluyla epitelyal bariyer fonksiyonu gibi farklı gastrointestinal sistemin fizyolojik süreçlerine aracılık ettiğini de göstermektedir (Amadesi ve Bunnett, 2004).

2.3.1.2. Zonulin

Zonulin proteini, tersine çevrilebilir sıkı bağlantı noktalarında bozulmaya yol açmaktadır ve buna bağlı olarak mukozal geçirgenliğin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Tripathi ve diğerleri, 2009; Wang ve diğerleri, 2000). Zonulin ilk olarak, bağırsak bakterisi *Vibrio cholera* tarafından üretilen bakteriyel enterotoksin, zonula oklüdens toksininin (Zot) endojen bir insan analogu olarak keşfedilmiştir (Fasano ve diğerleri, 1991; Wang ve diğerleri, 2000). Zonulinin, proteinaz aktive edilmiş reseptör 2 (PAR2) ve epidermal büyüme faktörü reseptörünü transaktive eden G protein-bağlı reseptör PAR2 yoluyla EGFR aktivasyonuna yol açmaktadır (Cenac ve diğerleri, 2004; Tripathi ve diğerleri, 2009). Bu iki reseptörün aktivasyonu, transepitelyal elektrik direncini azaltır. Bu nedenle bağırsak geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır (Tripathi ve diğerleri, 2009). *Zonula oklüdens* toksininin protein kinaz C- α aracılı aktin polimerizasyonuna yol açan hücre içi kaskadları aktive ettiği gözlemi, hücre iskeleti modülasyonunun bağırsak geçirgenliğini artırmada rol oynadığını göstermektedir (Fasano ve diğerleri, 1995).

Haptoglobin (Hp)-2'nin öncüsü olan zonulin, haptoglobin protein ailesine aittir. Haptoglobinler, hemoglobinin kendisinde ve çevresindeki dokularda oksidatif hasarı önlemek için hemoglobin ile bir kompleks oluşturan hemoglobin süpürmede birincil rolü olan akut faz reaksiyon proteinleridir (Gutteridge, 1987; Langlois ve Delanghe, 1996). Haptoglobinler ayrıca anjiyojenik ve immünomodülatör özellikler göstermektedir (Langlois ve Delanghe, 1996).

İnsan haptoglobin ekspresyonundaki üç genetik polimorfizm, Hp1-1, Hp2-1 ve Hp2-2, kromozom 16q22 tarafından barındırılan HP1 ve HP2 alelleri tarafından belirlenmektedir (Langlois ve Delanghe, 1996). Zonulin, haptoglobin-2'nin öncüsü olduğundan, heterozigot Hp2-1 veya homozigot Hp2-2 polimorfizmini taşıyan kişiler zonulin üreticisidir, homozigot Hp1-1 polimorfizmine sahip olanlar ise zonulin üretmezler (Langlois ve Delanghe, 1996). Haptoglobinlerin dimerizasyonu eş çevrimli olarak gerçekleşir ve öncülden aktif biçimlere proteolitik bölünme endoplazmik retikulumdayken gerçekleşir (Wicher ve Fries, 2004). Bu nedenle endoplazmik retikulum, bölünmemiş, Hp2 öncesi olarak en yüksek miktarda zonulin içerir, ancak zonulin'in hücre dışı olarak ölçüldüğü ve serumunda saptanabilir olduğu bildirilmiştir (Tripathi ve diğerleri, 2009).

Retrospektif alan araştırmasında, özellikle yaz aylarında Sıcak stresine (hS) maruz kalan buzağların bağırsak geçirgenliği serum zonulin düzeyleri belirlenerek incelenmiş ve mevsimsel değişimle ilişkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar, hS'nin bağırsak bütünlüğünü etkilediği ortaya çıkarılmıştır (Ural, 2022).

Ural (2022) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada, ishal olan buzağlar ile sağlıklı buzağlar arasındaki zonulin seviyeleri değerlendirilmiştir. Dolaşımdaki zonulin seviyeleri (ng/mL) ($\pm$ SEM) olarak ifade edildiğinde, sağlıklı buzağlar için 26.43 ± 3.528 , ishal olan buzağlar için ise 57.97 ± 4.250 olarak bulunmuştur. İki grup arasında anlamlı farklar ($p < 0.001$) tespit edilmiştir. Bu bulgular, zonulin seviyelerinin ishal olan buzağları sağlıklı olanlardan ayırt etmede potansiyel bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

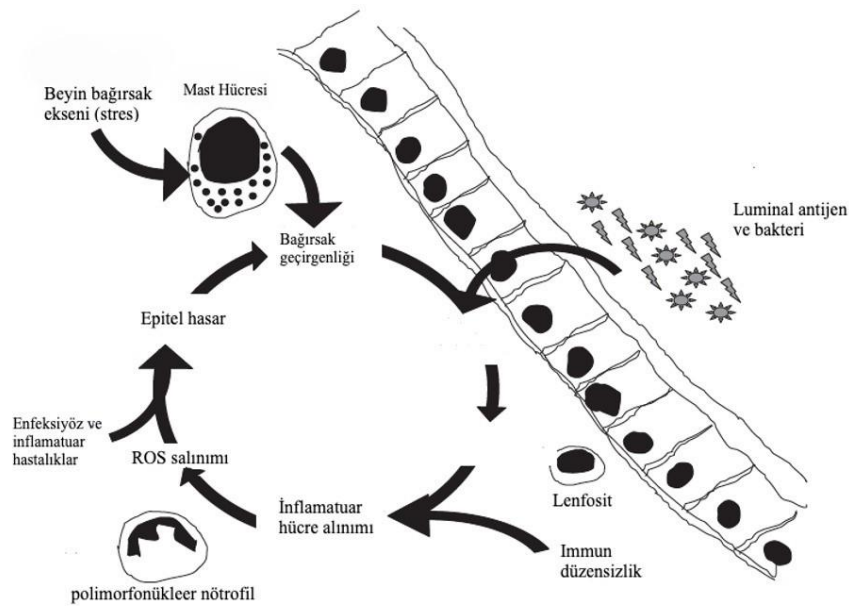
2.3.1.3. Mast Hücreleri

Mast hücreleri (MC), bağırsak geçirgenliğinin modülasyonunda bir kilit taşı görevindedir. Degranülasyon sırasında MC'den salınan maddeler, kan akışının düzenlenmesi, epitelial ve endotelial geçirgenlik, mukozal sekresyon, gastrointestinal sistem motilitesi, immünolojik reaksiyonlar ve anjiyogenez dahil olmak üzere çok sayıda biyolojik sürece aracılık etmektedir (Farhadi ve diğerleri, 2003). Mast hücreleri eksikliği olan sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar da biyolojik süreçlerde MC'nin rolünü belirlemede yardımcı olmuştur (Berin ve diğerleri, 1998; Wershil ve diğerleri, 2000). Mast hücreleri, sitokinlerin, özellikle tümör nekroz faktörü (TNF)-alfa salınımı yoluyla bakteriyel enfeksiyonda kritik bir koruyucu role sahiptir (Malaviya ve diğerleri, 1996). Mast hücre aracılığı, fizyolojik ve patolojik koşullar altında gastrointestinal geçirgenliğin modülasyonunda da önemli bir rol oynamaktadır. Bu hücreler sadece yüzeye bağlı immunoglobulin (Ig) E yoluyla spesifik antijenlere maruz kaldıklarında aktive olmazlar, aynı zamanda beyin-bağırsak ekseninin son efektörleridir (Farhadi ve diğerleri, 2003). Santos ve diğerleri (1996) tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) aracılı vagal stimülasyonun muskarinik reseptörler yoluyla bağırsak MC'sini aktive ettiğini ve substans P ve prostaglandinin bu eksenin afferent yolunu modüle ettiğini göstermiştir. Mast hücre aracılığı stres, gıda alerjisi ve bağırsak enflamatuvar süreçlerin neden olduğu anormal geçirgenliğin patogeneğinde rol oynamaktadır. Besin alerjisi, irritabl bağırsak sendromu stresli durumlardan sonra bağırsak MC popülasyonunun arttığı gösterilmiştir (O'sullivan ve diğerleri, 2000 ; Santos ve diğerleri, 2001).

Gastrointestinal sistem boyunca yaygın olarak dağılmış bir reseptör olan proteinazla aktive olan reseptör, jejunumdaki iyon sekresyonundaki değişiklikleri modüle eder, kolonik miyosit ve bağırsak hareketliliğini düzenler. Enterositlerdeki hücre içi kalsiyum ve eikosanoidleri artırır (Vergnolle, 2000). Bu reseptörlerin ayrıca bağırsak geçirgenliğini artırmada rol oynayıp oynamadığı rapor edilmemiştir. MC'den salınan histamin, mukozal kan akışını ve endotelial geçirgenliği de değişimlere yol açmaktadır (Santos ve diğerleri, 2001).

2.3.1.4. Hücre İçi Yollar

Hücre içi araçlar, bağırsak geçirgenliğinin düzenlenmesinde çeşitli roller oynamaktadır. Nitrik oksit (NO), hem epitel hücrelerini hem de mikro dolaşımı modüle ederek gastrointestinal sistemin normal fizyolojisini düzenlemek için önemli bir aracı gibi görünmektedir (Alican ve Kubes, 1996). Nitrik oksit, L-argininden nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından üretilen kararsız bir serbest radikaldir ve oksijen varlığında hızla kararlı ürün olan nitritler (NO^2) ve nitratlar (NO^3) dönüştürülmektedir. Nitrik oksit sentaz'ın iki ana izoformu tanımlanmıştır. Birincisi, cNOS, kalsiyum (Ca^{2+}) 'a bağımlı olan yapısal olarak aktif bir izoformdur. Diğeri, iNOS, Ca^{2+} bağımsız olan indüklenebilir bir izoformdur. Enterositlerde hem cNOS hem de iNOS bulunmuştur. İNOS sentezi ve aktivitesinin endotoksin, sitokinler ve etanol (EtOH) tarafından indüklendiği inflamatuvar hücrelerde de bulunur Birkaç in vivo ve in vitro çalışma, normal olarak cNOS tarafından sentezlenen düşük bir NO seviyesinin normal mukozal bariyer fonksiyonunun sürdürülmesi için önemli olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, iNOS tarafından aşırı NO üretimi, anormal bağırsak bariyer fonksiyonunda bir neden olarak tanımlanmaktadır (Salzman ve diğerleri, 1995). Nitrik oksit aşırı üretiminin bağırsak bariyeri fonksiyon bozukluğunu indüklediği mekanizma karmaşık ve çok faktörlüdür. Protein oksidasyonu, nitrasyon, S-nitrosilasyon, 3'-5'-siklik guanozin monofosfat (cGMP) aktivasyonu ve hücresel enerji tükenmesini içerir (Alican ve Kubes, 1996 ; Liu ve Sundqvist, 1997).



Şekil 4.Bağırsak bariyeri bileşenleri (Farhadi ve diğerleri, 2003).

2.3.1.5. Paraselüler Geçirgenliğin Düzenlenmesinde Tight Junction Proteinleri

Bağırsak epitel hücreleri arasındaki boşluklar TJ'leri içeren apikal bağlantı kompleksi ve bitişik dezmozomlar tarafından kapatılmaktadır (Van Spaendonk ve diğerleri, 2017). Bu yapılar transepitelyal taşımada hız sınırlayıcı adımdır ve mukozal geçirgenliğin merkezi belirleyicileridir (Turner, 2009). Seçici paraselüler geçirgenliğe, hücreler arası boşlukların apikal ucunu çevreleyen TJ'ler aracılık etmektedirler (Suzuki, 2013). Yapışkan transmembran proteinleri okludin, claudinler ve bağlantı adezyon moleküllerinin yanı sıra zonula okludens (ZO) proteinleri gibi sitoplazmik proteinler dahil olmak üzere çeşitli proteinler TJ'leri oluşturur. Sonuncusu transmembran proteinlerini sitoplazmik C-terminal ipliklerinde filamentli bir hücre iskeleti bileşeni olan F-aktin ile bağlayan yapı iskelesi proteinleri görevi görmektedir (Anderson ve Van, 2009). Adherens bağlantı transmembran proteini, epitelial-cadherin (E-cadherin), katenin ailesinin hücre içi proteinleri yoluyla F-aktine bağlanmasını sağlamaktadır (Hartsock ve Nelson, 2008). Hücreler arası boşlukların açılması, aktomiozin mikofilamentlerinin kasılması ile sağlanır. Miyosin, F-aktin ile birlikte lokalize olan ve adenozin trifosfattan gelen kimyasal enerjiyi mekanik enerjiye dönüştüren bir motor proteindir. Bu mekanokimyasal kasılma mekanizmasının uyarılmasında çok önemli bir adım, miyozinin düzenleyici bileşeni olan miyozin hafif zincirinin (MLC) fosforilasyonudur. Miyosin hafif zincir kinaz (MLCK), Ca^{2+} /kalmodulin bağlanmasına yanıt olarak aktivasyon üzerine MLC'nin fosforilasyonuna aracılık eder. Bununla birlikte, MLCK'yi aktive etmek için kalmodulin yolunun yanı sıra başka hücre içi sinyal yollarına dair kanıtlar vardır. Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazlar (ERK1/2), MLCK aktivasyonunu indüklediğini gösterilmektedir (Jacob ve diğerleri, 2005). Öte yandan protein kinaz C (PKC), MLC'yi fosforile eden enzim olan miyozin hafif zincir fosfatazın (MLCP) inhibisyonu yoluyla MLC'nin fosforilasyonunu destekler (Weber ve diğerleri, 2000).

Rho ile ilişkili protein kinaz (ROCK), hem MLCK'yi aktive ederek hem de MLCP'yi inaktive ederek, MLC fosforilasyonunu destekleyerek kasılmanın artırmaya yol açabilmektedir (Angeli ve diğerleri, 2004). Miyozin hafif zincirinin fosforilasyon durumu, miyozin üçüncül yapısında bir değişikliği indükleyerek miyozinin aktin filamentleri boyunca "yürümesine" neden olarak hücre iskeletindeki gerilimi artırarak TJ proteinlerinin bozulmasına ve sitozolik göçüne neden olur (Rigor ve diğerleri, 2013; Shen ve diğerleri, 2010). Bu, "sızdıran" bir bariyer olarak da adlandırılan engelleyici bir işlev bozukluğu ile sonuçlanır. Potansiyel olarak zararlı

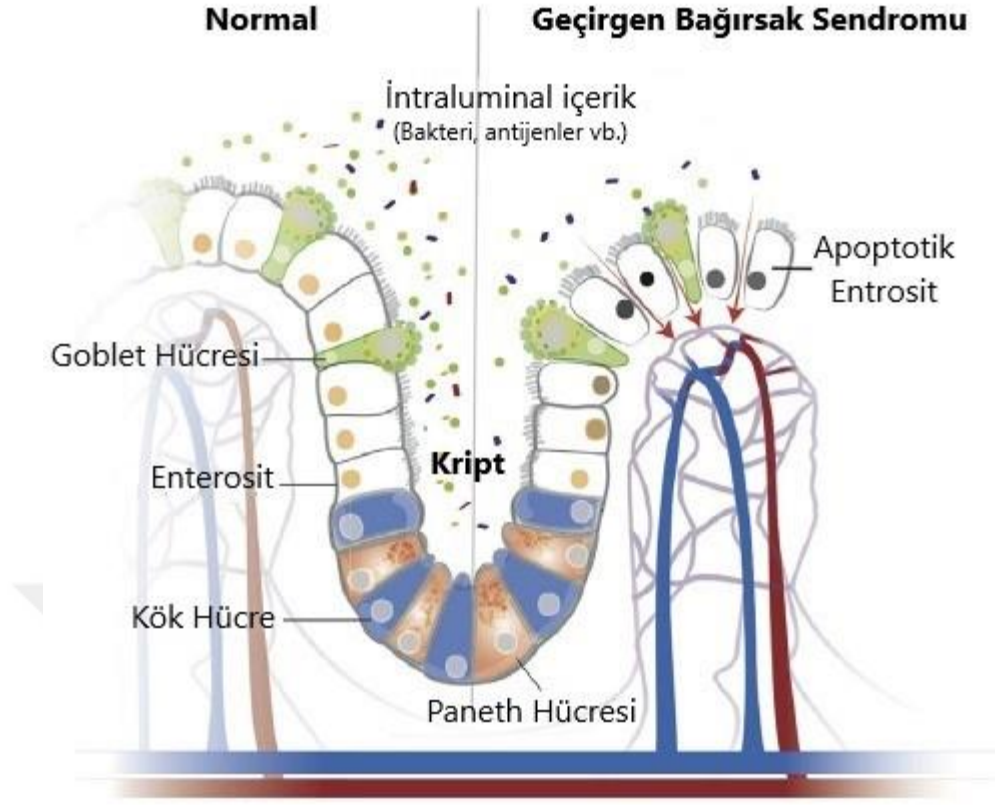
lumen proteinleri artık alttaki mukozal dokuya göç edebilir ve bir proinflatuar yanıtı tetikleyebilir (Van Spaendonk ve diğerleri, 2017).

2.3.1.6. Bağırsak Bariyeri ve Geçirgenliği

Bağırsak geçirgenliği mukus ile kombinasyon halinde bir difüzyon bariyeri oluşturan karıştırılmamış bir su tabakası dahil olmak üzere birkaç bileşenin etkileşimi ile belirlenir. Ek olarak mukus villusları fiziksel sürtünmeden ve bakteriyel yapışmadan korumaktadır (Farhadi ve diğerleri, 2003; Korjamo ve diğerleri, 2009). Diğer bariyer bileşenleri arasında mukozal yüzeydeki fosfolipidler, sıkı bağlantılar dahil epitel faktörleri, lenfositler dahil bağırsak immün sistemi ve bağırsak mikrobiyotası bulunmaktadır (Korjamo ve diğerleri, 2009; Laissue ve diğerleri, 1993; Lozupon ve diğerleri, 2012; Smithson ve diğerleri, 1981).

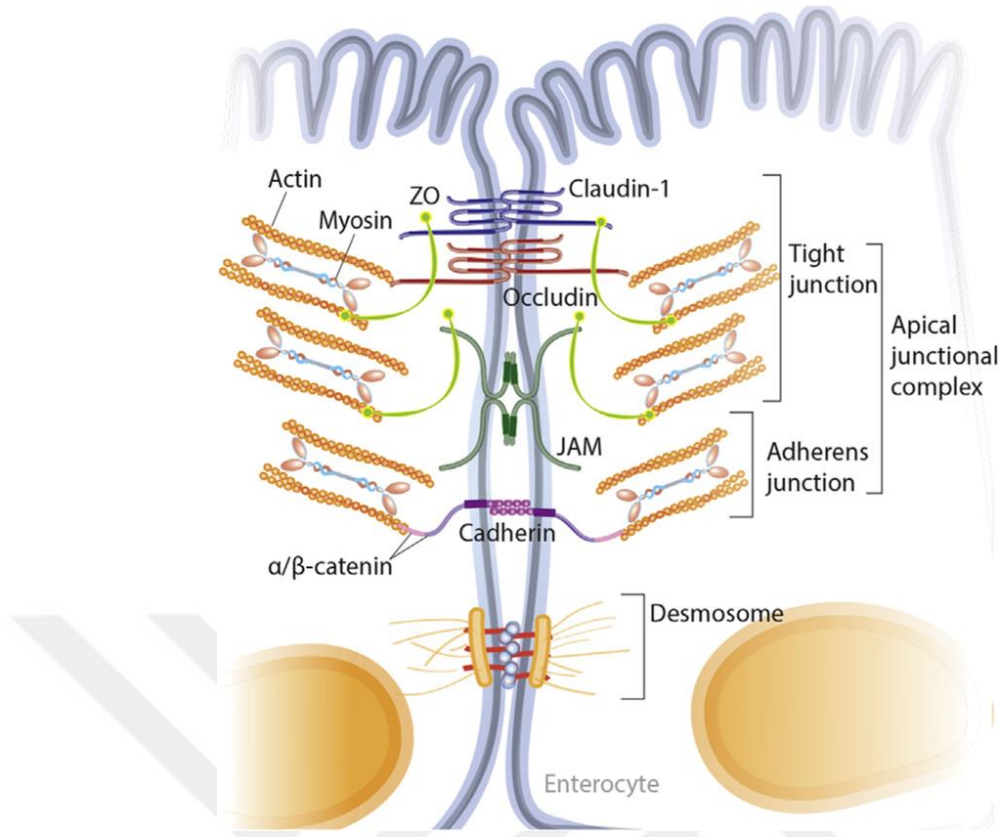
Bağırsakta yaşayan karmaşık bir mikroorganizma topluluğu olan bağırsak mikrobiyotası diyet, yaş ve çevreye göre değişir ve metabolik aktiviteleri ve konakçı etkileşimleri yoluyla normal fizyolojiyi ve hastalığa yatkınlığı etkilemektedir (Lozupon ve diğerleri, 2012).

Bağırsak epitelyumu tek bir hücre tabakasından oluşur ve vücudun mukozal yüzeylerinin en büyüğüdür (Peterson ve Artis, 2014). Bu epitel hücreleri polarizedir, apikal ve bazolateral membranlar içerir ve fiziksel bir bariyer oluşturmaktan, besinleri taşımaktan ve alttaki dokuları korumaktan sorumludur (Kararli, 1995). Kalın bağırsağın (kolon) epitel tabakası, farklılaşmamış kök hücreler içeren ve lamina propria tarafından desteklenen Lieberkühn kriptlerinden oluşmaktadır (Abdul ve diğerleri, 2010). İnce bağırsak epitelyumu, lümene uzanan ve farklılaşmış, post-mitotik hücre tipleri ve Paneth hücrelerini ve farklılaşmamış kök hücreleri içeren Lieberkühn kriptalarından oluşan villuslardan şekillenmektedir (Cheng ve diğerleri, 2012). Kök hücreler her 5-7 günde bir yeni epitel oluşturmaktan sorumludur (Gonzalez, 2015; Sancho ve diğerleri, 2003). Enteroendokrin, goblet ve Paneth hücreleri, sırasıyla hormon, müsin ve antimikrobiyal peptid sekresyonu yoluyla epitelin sindirim veya bariyer fonksiyonunu sürdüren özelleşmiş, salgılayıcı epitel hücreleridir (Peterson ve Artis, 2014). Sağlıklı olduğunda epitel bariyeri, besinlerin, iyonların ve suyun taşınması ve emilimi için seçici bir geçirgenliği korurken toksinlere, patojenlere ve antijenlere karşı geçirimsizdir. Seçici geçirgenlik parasellüler ve transsellüler yolla gerçekleşmektedir (Suzuki, 2012).



Şekil 5. Normal ve sızıntılı bağırsak bileşenleri (Stewart ve diğerleri, 2017).

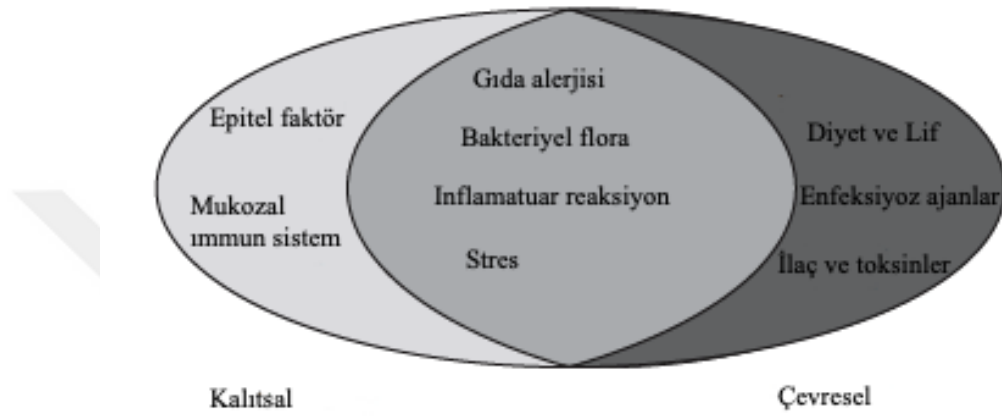
Esas olarak apikal membranda bulunan taşıma kanallarının aracılık ettiği transselüler yol, şeker, amino asitler ve yağ asitleri dahil olmak üzere besin maddelerinin hücre boyunca taşınmasını sağlamaktadır. Moleküllerin bitişik hücreler arasındaki boşluktan geçişiyle ilişkili olan paraselüler yol, AJs ve tight junctions (TJ, sıkı bağlantılar) oluşan bir apikal bağlantı kompleksi (AJC) tarafından düzenlenmektedir. Yakın bağlantılar dezmozomlarla birlikte bağlantı yerlerini yapıştırır, epitel hücreleri arasında güçlü bağlar sağlamaktadır. Yakın bağlantılar birleşme noktasında hücre-hücre teması, kadherinler ve kateninler dahil olmak üzere protein ailelerinden oluşan adhezyon molekülü kompleksleri tarafından sağlanmaktadır. Sıkı bağlantılar, okludin, kladinler, birleşimsel adhezyon molekülleri ve trikelülünü içeren dört benzersiz transmembran protein ailesinden oluşur ve mukozal geçirgenliğin temel belirleyicilerinden biri olarak kabul edilmektedir (Groschwitz ve Hogan, 2009; Turner, 2009). Bu transmembran proteinler, karşıt plazma membranındaki partnerleriyle etkileşime girerler ve bir difüzyon bariyeri oluştururken epitel hücreleri arasında mekanik bir bağlantı sağlar (Ivanov ve diğerleri, 2010).



Şekil 6.Bağırsak epitel hücreleri arasındaki hücreler arası bağlantıların ayrıntılı diyagramı. (Stewart ve diğerleri, 2017).

2.4. Artmış Bağırsak Geçirgenliğinin Nedenleri

Bağırsak geçirgenliği, epitel hücreleri ve bağlantı kompleksleri tarafından oluşturulan fiziksel bariyer, bağışıklık hücreleri ve sitokinler gibi diğer faktörler ve bağırsak patojenleri gibi eksojen etkiler, bağırsak kan akışındaki değişiklikler ve sıcaklık gibi çevresel faktörler tarafından düzenlenmektedir (Groschwitz ve Hogan, 2009).



Şekil 7. Bağırsak geçirgenliğini etkileyen faktörler (Farhadi ve diğerleri, 2003).

2.4.1. Stres Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu

İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar çeşitli stresörlerin (fizyolojik, farmakolojik, psikolojik ve diğerleri) bağırsak bariyerini etkilediğini ortaya çıkarmaktadır (Lambert, 2009). Sıçanlarda fiziksel kısıtlamaya bağlı olarak akut stresin erken göstergesi normal gastrointestinal fonksiyonun bozulmasıdır. Bir 'Ussing odası' kullanılarak, birkaç saat fiziksel kısıtlamaya tabi tutulan sıçanların jejunal dokusunun artmış iyon taşınmasına, artmış doku iletkenliğine ve değişen bağırsak geçirgenliği ile tutarlı olarak mannitol ve Cr-EDTA akışında artışlara yol açtığı gösterilmiştir. Sıçanların akut stresle uyumlu olarak plazma kortizol düzeyinde yükselmeler şekillenmiştir (Saunders ve diğerleri, 1994). Egzersiz de dahil olmak üzere diğer fiziksel "stresörlerin" etkisi insanlar, köpekler ve buzağılar dahil olmak üzere çeşitli türlerde incelenmiştir. İnsanlarda yapılan çalışmada orta derecede egzersiz, sodyum, klorür, potasyum ve suyun jejunal emiliminde düşüşler yol açmaktadır (Barclay ve Turnberg, 1988). Stresle değiştirilmiş geçirgenliğin mekanizmaları muhtemelen doku perfüzyonundaki ve

gastrointestinal motilite değişiklikler bağlı olarak görünmektedir (Oliveira ve diğerleri, 2014). Buzağı, yaklaşık 2 haftalıkken sindirim bozuklukları gelişmektedir çünkü bu süre zarfında buzağılar, aşılar ve değişen barınma ve beslenme protokolleri gibi çok sayıda stresli duruma maruz kalırlar. Buna bağlı olarak özellikle bağışıklık sistemlerinin zayıf kaldığı düşünöldüğünde, bulaşıcı ajanlara karşı savunmasız kalma olasılıkları artmaktadır (Urie ve diğerleri, 2018). Egzersiz sırasında kanın viseral dokulardan daha aktif dokulara yönlendirilmesi bu nedenle geçirgenlikte değişiklikler dahil çeşitli derecelerde bağırsak hasarına yol açmaktadır (Marchbank ve diğerleri, 2011; Wijck ve diğerleri, 2011).

2.4.2. Gastrointestinal İskemi-Reperfüzyon Hasarı

Kan akımının kesintiye uğraması iskemik hasar ve bağırsak dahil metabolik olarak aktif dokularda hasarla sonuçlanır (Mallick ve diğerleri, 2004). Uzamış iskemik membran potansiyelini değiştirir, normal iyon dağılımını bozar, hücrelerin hücre iskelet organizasyonunu bozar ve hücre içi hacimde artışlara neden olur (Carden ve Granger, 2000). Aynı zamanda, enerji depoları tükenirken proinflatuar sitokinlerin, adhezyon moleküllerinin ve endotelin ve tromboksan A2 gibi biyoaktif ajanların ekspresyonu hızlandırır (Carden ve Granger, 2000; Collard ve Gelman, 2001). Bu ajanlar güçlü vazokonstriktörler olarak hareket ederler ve kan akışında daha fazla değişikliklere yol açabilir.

Sütten kesilme öncesi ishallerli buzağılarda bildirilen en yaygın bulaşıcı ajanlar virüslerdir: sığır coronavirüsü; bakteri: *Salmonella spp.* ve *E. coli* veya protozoa: *Cryptosporidium parvum* zayıf düşen bağışıklık sisteminin etkisi ile enfeksiyon meydana getirmektedirler (Cho ve diğerleri, 2010; De la Fuente ve diğerleri, 1999). Aşırı hipertermi dönemlerinin ardından, ısı dağılımını en üst düzeye çıkarmaya yardımcı olmak için kan periferde dağıtılır, gastrointestinal sistem hipoperfüzyon durumunda kalır ve sonuçta normal geçirgenlikte değişikliklere yol açmaktadır. Isı hasarına ikincil olan bu değişiklikler, endotoksin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) (Hall ve diğerleri, 2001) konsantrasyonlarının artmasına yol açarak, hücresel membranları ve sıkı bağlantıları bozarak bağırsak mukozasında önemli hasarı teşvik eder (Lambert, 2009).

Reaktif oksijen türleri, diğer biyolojik moleküller ile yüksek reaktiviteye sahiptir, oksidatif stresi indükler ve lipid peroksidasyonu yoluyla doğrudan hücresel membranlara zarar verir (Toyokuni, 1999). Reaktif oksijen türleri lökosit aktivasyonunu, kemotaksiyi ve bağlılığı

artırır ve aktive olmuş lökositler zararlı proteazlar, elastazlar ve ek ROS salmaya devam ederken hücresel hasarın kısır döngüsüne neden olur (Collard ve Gelman, 2001; Toyokuni, 1999). İskemik-reperfüzyon hasarı; şok, damar cerrahisi, boğulmuş bağırsak, travma, bağırsak volvulusu ve bağırsak transplantasyonu gibi çeşitli durumlarda meydana gelir ve sonuçta ortaya çıkan doku hipoksisi nedeniyle mukozal bariyerde bozulmaya yol açar (Collard ve Gelman, 2001; Gonzalez ve diğerleri, 2015). Bağırsaktaki iskemi-reperfüzyon hasarı, SIRS gelişimine katkıda bulunan bir faktör olan sistemik dolaşıma artmış bakteriyel translokasyonla da ilişkilidir (Kong, 1998).

2.4.3. Patojen Kaynaklı Bariyer Disfonksiyonu

Patojenik organizmaların konakçı bağırsak epitel hücreleri üzerindeki etkileri karmaşıktır. Bu birincil patojen-konak etkileşimleri, normal bağırsak bariyerinde bozukluklara, inflamatuvar kaskadın aktivasyonuna ve normal sıvı ve elektrolit sekresyonunda değişikliklere neden olabilir (Berkes ve diğerleri, 2003). Enterik patojenler hücre yüzeyine bağlanabilir ve sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunda değişikliklere neden olmaktadır (Ivanov ve diğerleri, 2010). Ek olarak, patojenler tarafından toksinlerin üretilmesi, hücre içi protein etkileşimlerinin bozulması yoluyla hücresel hasarı artırabilir, bu da artmış hücresel geçirgenliğe yol açar ve sonuçta hücre ölümünü tetikleyebilir (Ivanov ve diğerleri, 2010). Bazı patojenler öncelikle konakçı fizyolojisini değiştirmek için bir mekanizma kullanırken, *Salmonella* ve *Escherichia coli* (*E.coli*) dahil diğerleri, bağırsak epitelinin hücresel işlevlerini çoklu mekanizmalar yoluyla değiştirebilir (Berkes ve diğerleri, 2003).

Mikotoksin alımı, otlak otlayan hayvanlarda bağırsak sızıntısının tetikleyici bir nedeni olabilir. Mera otları, samanlar ve tahılların tümü iklime ve mevsime bağlı olarak çeşitli mantar türlerinin büyümesini destekleyebilir. Mikotoksinler, yutulduğunda veya solunduğunda gastrointestinal hastalık (kusma ve/veya diyare) ve hem insanlarda hem de hayvanlarda büyüme ve immün fonksiyonda değişiklikler gibi olumsuz etkilere neden olabilen mantarlar tarafından üretilen ikincil metabolitlerdir (Molds, 2005; Pestka ve Smolinski, 2005). Yaygın mikotoksinler arasında aflatoksinler, ergot alkaloidler, fumonisinler, okratoksin ve trikotesenler bulunur (Bennett, 2003).

2.4.3. İnflamatuvar Bağırsak Hastalığında Değişen Geçirgenlik

Enflamatuvar bağırsak hastalıkları hem insan hem de hayvanları etkiler ve anormal immün hücre popülasyonları ile mukoza, submukoza veya lamina proprianın infiltrasyonuna bağlı gastrointestinal disfonksiyon ile ilişkilidir. İnsanlarda kronik IBD'nin en yaygın iki formu CD ve ülseratif kolittir (UC) (Clayburgh ve diğerleri, 2004). Köpeklerde IBD'nin en sık saptanan formu lenfositikplazmasitik enterit, atlarda eozinofilik enterit, granüloamatöz enterit ve lenfositikplazmasitik enterit gibi çeşitli enflamatuvar hastalıklar görülmektedir (Kalck, 2009; Ohta ve diğerleri, 2014).

Kesin neden bilinmemekle birlikte, IBD'nin mukozal immün sistemin uygunsuz ve devam eden aktivasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Podolsky, 2002). Anormal ince bağırsak geçirgenliği ile bağırsak bakterilerine karşı bağışıklık tepkilerini modüle etme işlevi gören NOD2 genindeki spesifik bir mutasyon IBD arasında ilişki mevcuttur, bu da anormal bağırsak bariyerinin kronik bağırsak iltihabına yol açabileceği genetik olabileceğini düşündürmektedir (Buhner ve diğerleri, 2006; Teshima ve diğerleri, 2012). IBD patogeneğinde etkili faktörler arasında, kendi kendini güçlendiren bir bağışıklık aktivasyonu ve sitokin salınımı döngüsüne (Clayburgh ve diğerleri, 2004) yol açabilen epitel bariyerinin ilk yıkımı ve endojen mikroflora ve diyet antijenlerine tolerans kaybı yer almaktadır (Podolsky, 2002; German ve diğerleri, 2003).

Normal epitel bariyer işlevi kısmen AJC'nin bütünlüğü ile belirlendiğinden, başlangıçta bu yapıdaki sıkı bağlantılardan ve yapışan bağlantılardan oluşan kusurların IBD vakalarında görülen bağırsak geçirgenliğinde değişikliklere yol açmaktadır (Stewart ve diğerleri, 2017).

2.4.4. Mikrobiyota, Diyet ve Gastrointestinal Sağlık

Bağırsak kanalı, tüm türlerde geniş, karmaşık bir mikrobiyal ekosisteme ev sahipliği yapmaktadır. Yerleşik mikroflora, beslenme sağlaması, epitel gelişimini düzenlemesi ve immün yanıtlarda rol oynaması açısından sıklıkla bir organ sistemi olarak düşünülmektedir (Eckburg ve diğerleri, 2005). Çevresel değişiklikler gibi belirli koşullar altında, normalde gastrointestinal sistemdeki simbiyotik organizmalar patojenik etkiye yol açarlar ve bu da immün sistem aktivasyonu ve enflamatuvar hastalıkla sonuçlanır (Chow ve diğerleri, 2001; Wells

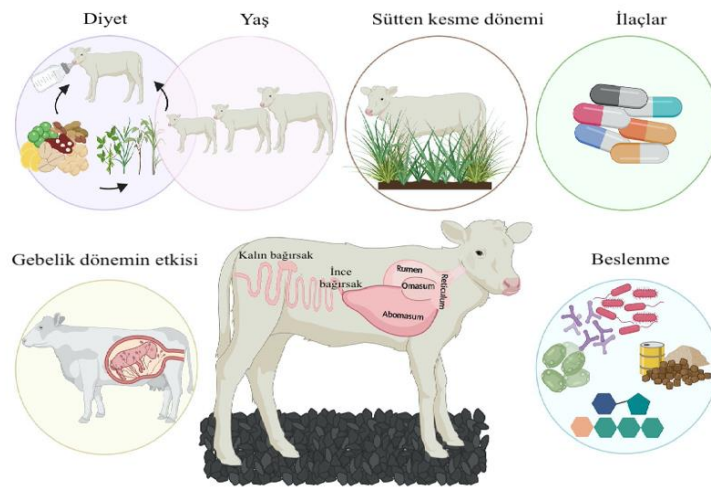
ve diğerleri, 2017). Yararlı bakterilerin ve metabolik yan ürünlerinin azalmasının, zararlı mikrobiyal popülasyonlarda ve toksik metabolitlerinde bir artışla birlikte meydana geldiği bu koşullarda lümen ortamının değişmesine yol açan bir disbiyozun ortaya çıkmasına yol açmaktadırlar (Fava ve diğerleri, 2011). Örneğin *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Streptococcus viridans* gibi bazı kommensal bakteriler bağırsak geçirgenliğini önemli ölçüde artırırken, *Lactobacillus brevis* tam tersi etki yaparak geçirgenliği azaltmıştır (Garcia-Lafuente ve diğerleri, 2001). Yapılan çalışmalarda, bazı simbiyotik mikroorganizmaların, genetik olarak duyarlı bir konakçıda (örn., *Helicobacter* ve segmentli ipliksi bakteriler) kolonize olduğunda bağırsak enfeksiyonunun başlamasına yol açmaktadır. Diğer durumlarda, antibiyotik kullanımının ardından disbiyozis şekillenmektedir (örn., *Clostridium difficile*) (Chow ve diğerleri, 2001). Bağırsak geçirgenliğindeki bu değişikliklerin doğrudan bakteriyel eylemlerin mi yoksa bağışıklık sistemi reaksiyonlarının mı sonucu olduğu hala belirsizdir. İn vitro ileal mukozanın kullanıldığı bir çalışmada bakteriyel endotoksin bağırsak geçirgenliğinin artmasına ve bakteriyel translokasyona neden olmaktadır (Go ve diğerleri, 1995). Bu etkiye, iNOS inhibitörleri tarafından inhibe edildiğinden iNOS'un yukarı regülasyonu aracılığıyla aracılık edildiği görülmüştür (Mishima ve diğerleri, 1999). Bir bağırsak tek katmanlı modelinde, interferon, sıkı bağlantıları etkileyerek doğrudan geçirgenliği arttırmıştır (Madara ve Stafford, 1989). TNF-alfa ve interlökin-1 gibi diğer sitokinlerin doğrudan etkisi üzerinde tartışmalar devam etmektedir (Madara ve Stafford, 1989). Ayrıca, bakteri peptidi N-Formilmetiyonin-leusil-fenilalanin (fMLP) tarafından indüklenen nötrofil göçü, bağırsak epitelyal tek tabakasının geçirgenliğinde geri dönüşümlü bir artışla sonuçlanmıştır (Nash ve diğerleri, 1987).

Doğum sürecinde mikrobiyal kolonizasyon hakkında bilgi eksikliği olmasına rağmen kolostrum, süt ve katı yemin buzağların bağırsak mikrobiyotasını nasıl etkilediğine dair bazı tanımlamalar yapılmıştır (Cangiano ve diğerleri, 2020). Malmuthuge ve diğerleri (2015a), kolostrumun ince bağırsakta bakteri kolonizasyonunu hızlandırdığını belirtmiştir. Kolostrumla beslemesini 12 saat geciktirmenin, süt buzağlarının kolonunda *Bifidobacteria* ve *Lactobacillus* prevalansını azalttığı göstermektedir (Fischer ve diğerleri, 2018). Kolostrumla beslenmeden sonra, süttten kesme öncesi dönemde süt, diyetle sağlanan bakteriyel substratların büyük bir kısmını oluşturur ve bu nedenle kullanılan süttün kaynağı bakteriyel kolonizasyonu değişmesine yol açabilmektedir (Cangiano ve diğerleri, 2020). Spesifik olarak, buzağlar artık antimikrobiyal seviyeleri içerebilen sütle beslendiğinde, dışkıda daha düşük seviyelerde *Clostridiales* ve *Bacteroidales* bulunmaktadır ve bağırsak mikrobiyal dengesizlik oluşmasına yol açmaktadır (Maynou ve diğerleri, 2016; Van Vleck Pereira ve diğerleri, 2016). Süttten

kesme sırasında sütle beslemeden katı yeme geçiş, bağırsak mikrobiyomunda büyük değişikliklere yol açmaktadır (Vi ve diğerleri, 2004). Bağırsakta şekillenen değişimlere ek olarak rumende, süttan kesme sırasında *Bacteroidetes filumuna* ait bakterilerin sayısında azalma ve *Proteobacteria* ve *Firmicutes*'e ait bakteriler artışa yol açmaktadır (Li ve diğerleri, 2012; Meale ve diğerleri, 2017). Aynı zamanda bebeklerde ve laboratuvar hayvanlarında yapılan çalışmalar bağırsak mikrobiyomunun yaşamın erken dönemlerinde daha fazla plastisiteye sahip olduğu ve mikrobiyal maruziyet ve bozulmaların yaşamın ilerleyen dönemlerinde sağlık ve gelişim ile ilgili sonuçları olabileceği göstermektedir (Cangiano ve diğerleri, 2020).

Atlarda yapılan bir çalışmada kompleks karbonhidratların veya liflerin (tipik olarak diyetle uzun saplı yem olarak bulunur) daha basit karbonhidratlara (nişasta ve şekerler gibi) oranının yanı sıra diyetdeki ani değişiklikler bağırsak mikrobiyotasında değişikliğe yol açmaktadır (De Fombelle ve diğerleri, 2001; Fernandes ve diğerleri, 2014; Julliand ve Grimm, 2016). Bu nedenle, kısa zincirli yağ asitleri (SCFA), metan ve hidrojen gibi farklı oranlarda fermentatif yan ürünler diyetdeki karbonhidrat bileşimine bağlı olarak üretilmektedir. Daha yüksek oranda nişasta ve şeker alımı, daha yüksek hidrojen, laktat ve propiyonat üretimiyle sonuçlanırken, daha yüksek lif alımı asetat üretiminin artmasıyla sonuçlanır (Hintz ve diğerleri, 1971; Julliand ve diğerleri, 2001).

Asidoz hem sığır hem de domuzlarda yapılan çalışmada bağırsak mukozasında epitel hasarı ve artan geçirgenliğe neden olmaktadır (Khafipour ve diğerleri, 2009; Salzman ve diğerleri, 1994).



Şekil 8.Buzağılarda mikrobiyal popülasyonu etkileyen faktörler (Amin ve Seifert, 2021).

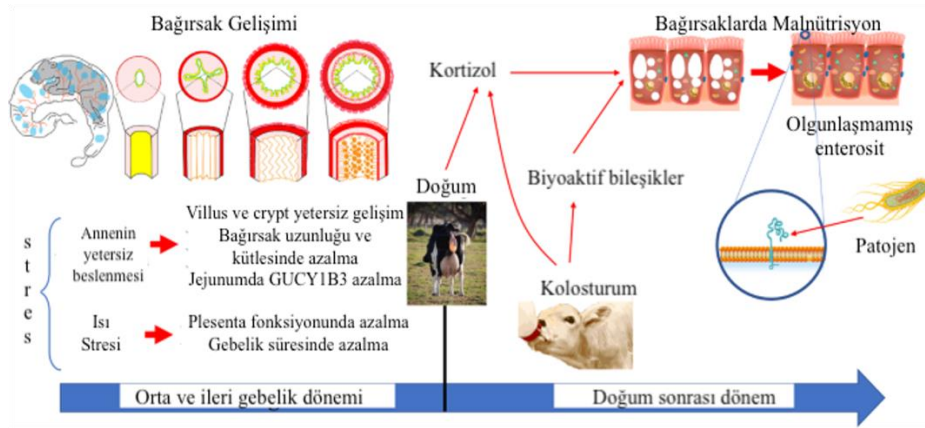
2.4.5. Buzağlarında Bağırsak Geçirgenliğine Stres ve Bağışıklığın Etkisi

Bir buzağının yaşamının ilk yılı, sindirim sistemi ve bağışıklığı az gelişmiş olduğu için kritik bir dönemidir. Anneden ayrılma, ulaşım, antibiyotik tedavileri, diyet değişiklikleri ve sütten kesmenin neden olduğu yüksek düzeyde stres, süt verimi ve üreme gibi gelecekteki üretim parametrelerini azaltabilen ve hatta buzağı ölümlerini artırabilen uzun süreli sağlık etkilerine neden olabilmektedir (Amin ve Seifert, 2021).

Gebelik sırasında, annenin çevre ile etkileşimi, fetüsün daha doğrudan etkilere maruz kalmadan önce büyümesini ve gelişimini etkilemektedir. Bu ekstrauterin adaptasyonu için buzağının bağırsak olgunlaşmasını uyarırken geçici bir bağışıklık sağlamak amacıyla, yavruları immünoglobulinler ve diğer biyoaktif bileşikler de dahil olmak üzere gerekli biyolojik maddelerle yoğun kolostrum üretilmesine yol açmaktadır (Osorio, 2020).

Ruminantlarda, yavruların fetal gelişimi ve doğum sonrası performansı üzerindeki anne etkisi iyi bilinmektedir (Chavatte-Palmer ve diğerleri, 2018). Enerji ve amino asitler (AA) gibi spesifik beslenme faktörlerinin etkisi, ısı stresi gibi çevresel faktörlerle birlikte oluşturulmaktadır (Tao ve Dahl, 2013; Wu ve diğerleri, 2006; Wu ve diğerleri, 2019). Süt ineklerinde geç gebelik sırasında anne beslenmesinin fetal gelişim ve doğum sonrası performans üzerinde önemli bir etkisi olduğu bildirilmektedir. Örneğin, geç gebelikte daha fazla enerji alımı doğum ağırlığını ve yenidoğan immünokompetansını etkileyebilmektedir (Osorio ve diğerleri, 2013). Süt ineklerinde hamileliğin sonlarında eser minerallerin ve AA'nın yeterli takviyesi ile desteklenen ineklerden doğan yavrularda bağışıklık sistemi üzerindeki iyileştirmelerle ilgili benzer etkiler gözlenmektedir (Alharthi ve diğerleri, 2019; Jacometo ve diğerleri, 2015; Jacometo ve diğerleri, 2016).

Kolostrum, ilk ekstrauterin besin kaynağıdır ve yeni doğan buzağıya geçici bir bağışıklama sistemi sağlamaktadır, bu nedenle yaşam boyunca uzun süreli bir etkiye neden olmaktadır (Quigley Iii ve Drewry, 1998). Besin maddeleri ve immünoglobulinlere ek olarak kolostrum, insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF), insülin ve kolesterol gibi çeşitli biyoaktif bileşikler içermektedir. Buna ek olarak kolosturumda bulunan mikroRNA (miRNA) ve uzun kodlayıcı olmayan RNA (lncRNA) biçimindeki moleküler sinyaller, yeni doğan buzağıdaki saf enterositlerdeki gelişim programlarını etkilemekte veya uyarmaktadır (Ylioja ve diğerleri, 2019; Zeng ve diğerleri, 2019). Bu etkileşimler bağırsakta sindirim ve emilim için yeterli olgunlaşmayı sağlamaktadır (Ontsouka ve diğerleri, 2016).



Şekil 9.Bağırsak gelişimini etkileyen faktörler (Walton ve diğerleri, 2016).

2.4.6. Kalıtım

Kalıtım, bağırsak bariyerinin yapısında ve işlevinde karmaşık bir rol oynamaktadır (Farhadi ve diğerleri, 2003). Soderholm ve diğerleri (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, Crohn hastalığı olan hastaların birinci derece akrabalarının %18'inde ve eşlerinin %23'ünde, kontrollerde %3'e kıyasla bozulmuş bağırsak geçirgenliği bildirilmiştir.

2.5. Klinik Bulgular

Dışkıyla elektrolit ve su kaybında artış, süt alımında azalma ve ince bağırsak bakteri florasında değişikliklerle meydana gelmektedir. Bu değişiklikler sonucunda; 1) dehidrasyon; 2) Metabolik asidoz; 3) elektrolit anormallikleri; 4) negatif enerji dengesi ve 5) ince bağırsağın gram negatif bakterilerle aşırı üremesi ile sonuçlanmaktadır (Sen ve Constable, 2013).

2.5.1. Dehidrasyon

İshalli buzağılarda dehidrasyona, hücre dışı sıvı (ECF) hacminde büyük düşüşler ve hücre içi sıvı (ICF) hacminde küçük artışlar eşlik eder (Constable ve diğerleri, 1998; Naylor, 1987; Smith, 2009). Bu nedenle serbest su, ECF' den ICF boşluğuna hareket eder ve böylece ICF hacmini artırmaktadır. Watt (1965) buzağının dehidrasyon derecesini, göz küresinin pozisyonunu, cilt elastikiyetini, mukoz membran görünümünü, kılcak doldurma süresini ve idrar üretimini hafif, orta veya şiddetli olarak sınıflandırmaktadır. Akut dehidratasyonun daha doğru öngörücülerinden biri vücut ağırlığındaki değişikliği belirlemektedir (Sen ve Constable, 2013). Bu prensibi kullanarak Bywater (1983), belirlenen üç şiddet kategorisine göre hafif dehidrasyon için % 1 ile % 5, orta derecede dehidrasyon için % 6 ile % 8 ve şiddetli dehidrasyon için % 9 ile % 11 ağırlık kaybı şekillendiğini belirtmektedir. Dehidratasyonu değerlendirmek için en doğru yöntemler, gözün orbita içindeki durumunu ve deri elastikiyetini değerlendirmektir (Constable ve diğerleri, 1998). Enoftalmus alt göz kapağı normal pozisyonuna getirilerek ve kornea ile alt göz kapağı arasındaki mesafe ölçülmektedir.

$$\% \text{ Dehidrasyon} = 1,7 \times (\text{mm cinsinden gözün orbita içindeki durumu})$$

Üre, nitrojen ve kreatinin, dehidratasyon derecesini değerlendirmek ve prerenal, renal ve postrenal üremi arasında ayırım yapmak için kullanılabilen metabolik parçalanma bileşenleridir (Sen ve Constable, 2013). Yenidoğan buzağı ishalinde plazma üre, nitrojen ve kreatinin konsantrasyonları dehidratasyonun şiddetine bağlı olarak artmaktadır (Güzelbekteş ve diğerleri, 2007). İshalli buzağıkların prerenal üremi ile uygun şekilde tedavi edilmesinin ardından plazma üre, nitrojen ve kreatinin konsantrasyonları düşer (Radostits ve diğerleri, 2007). Diğer bir deyişle, tedavi etkinliği plazma üre, nitrojen ve kreatinin konsantrasyonlarının seri olarak izlenmesiyle değerlendirilebilir.

2.5.2. Metabolik Asidoz

Metabolik asidoz genellikle ishalli buzağılarda görülür. İshal sonucu şekillenen buzağı ölümlerinde venöz kan pH'ları 6.50 ile 7.05 arasında olma eğilimindedir (Naylor, 2006). Metabolik asidoz, esas olarak hiponatremi, laktoz ve glikozun ön mide/bağırsak fermantasyonundan D-laktat ve uçucu yağ asitlerine ve bağırsak HCO₃ kaybına bağlıdır. Doku

hipoksisine ikincil olarak dokularda laktik asit üretiminden ve dehidrasyonlu buzağılarda zayıf perfüze olan böbreklerde azalmış asit salgılanmasında neden olmaktadır (Kasari, 1999; Constable, 2000). Metabolik asidozunun sonucunda, ilerleyici merkezi sinir sistemi depresyonu, azalmış emzirme refleksi, ataksi, yatma, koma ve ardından, özellikle plazma D-laktat konsantrasyonları yükseldiğinde ölüm görülmektedir. (Radostits ve diğerleri, 2007).

2.5.3. Elektrolitik Dengesizlikler

Bağırsak elektrolit kaybı ve azalmış süt alımı, ishalli buzağılarda toplam vücut Na⁺, Cl⁻ ve K⁺ eksikliğine neden olmaktadır. Plazma Na⁺ ishalli buzağılarda çoğu zaman azalmaktadır. Bunun tersine, plazma K⁺ konsantrasyonu ishalli buzağılarda değişkendir ve vücut depolarını yansıtmaz çünkü K⁺ esas olarak hücre içi bir iyondur. Plazma K⁺ konsantrasyonu ayrıca asidemi derecesinden de etkilenmektedir: 0.1 [K⁺] / ΔpH için 0.1 pH birimi başına -0.3 ila -0.5 mEq / L değişmektedir (Constable, 1999; Constable ve Grünberg, 2013; Fisher, 1967; Lorenz ve Klee, 2007).

8 mmol / L'yi aşan plazma K⁺ konsantrasyonları aritmi, kas güçsüzlüğü ve uyarılabilirlik belirtileri ile ilişkilendirilmektedir (Başoğlu ve diğerleri, 1996; Başoğlu ve Aydoğdu, 2012); ancak taşikardi en sık görülen anormalliktir. Bradikardi (dakikada 90 atış) hiperkalemiye işaret edebilir, ancak hipotermik buzağılarda, rektal sıcaklıktaki her 1°C'lik düşüşte kalp atış hızının dakikada yaklaşık 10 atış azalması yaygındır. (Constable, 1999; Constable ve Grünberg, 2013; Fisher, 1967; Lorenz ve Klee, 2007).

2.6. Buzağı Enterik Patojenlerinin Teşhisi

Genellikle dışkı örneği mikroskopi (*C. parvum* ve *Coccidia* için), bakteriyel kültürleme (*Salmonella spp.*, *E. coli* ve *C. perfringens* için) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) (BRV ve BCoV için) ile incelenebilmektedir. Bağırsak dokuları immünohistokimya veya bakteri kültürüne tabi tutulmaktadır. Daha yakın zamanlarda, PCR ve antijen (Ag) yakalayan enzime bağlı immünosorban analizi (ELISA) gibi nükleik asit bazlı teknikler, ishalli buzağılardan klinik örneklerde çeşitli bakteriyel ve viral patojenlerin hızlı tespiti için daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Cho ve Yoon, 2014).

2.6.1. Laboratuvar Testleri

Enterik patojenleri tanımlamak için laboratuvar yöntemleri tipik olarak etiyolojik ajan ve hastalık onayı için altın standart olarak histopatoloji ile birlikte patojen izolasyonu ve karakterizasyonunu içermiştir (Popow-Kraupp ve Aberle, 2011). Bununla birlikte, birçok enterik patojenin gastrointestinal ortamdan izole edilmesi zordur (Espy ve diğerleri, 2006). Dışkı veya bağırsak içeriğindeki patojenlerin doğrudan görüntülenmesi (örn., Işık mikroskobu veya elektron mikroskobu) ve ayrıca örneklerde antijenlerin (örn., Ag-ELISA) veya nükleik asitlerin (örn., PCR) saptanması yaygın olarak kullanılmaktadır (Cho ve Yoon, 2014).

Virüs izolasyon testi hala örneklerde viral patojenlerin saptanmasında “altın standart” olarak kabul edilmektedir (Popow-Kraupp ve Aberle, 2011), ancak ELISA ve PCR tabanlı testler gibi yeni yöntemler geliştirilmiştir. Hücre kültürü teknikleri, teşhis amaçlı virüsün yanı sıra aşı üretimi için virüs yayılımının veya antijenik varyasyon saptaması veya gen dizilemesi gibi diğer virüs karakterizasyon prosedürlerinin izole edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Ribes ve diğerleri, 2002).

Elektron mikroskopisi (EM), morfolojik özelliklere dayanan virüs tespiti ve tanımlanması için yaygın olarak kullanılır. İki tip EM vardır: direkt EM ve immüno-elektron mikroskopisi (IEM) (Brandt ve diğerleri, 1981). Hedefi görselleştirmek için iki farklı boyama tekniği (pozitif ve negatif boyama) gerçekleştirilir. Doğrudan EM için, bir akışkan numune matrisindeki virüs partikülleri doğrudan katı bir desteye uygulanır ve daha sonra bir kontrast lekesi uygulandıktan sonra görselleştirilir. Bu prosedüre yaygın olarak “negatif boyama EM” olarak atıfta bulunulurken, pozitif boyama genellikle sabit dokuların ince kesitli EM'si için kullanılır. Doğrudan EM spesifik bir test değildir, çünkü bu teknik sadece numunelerdeki virüsleri görselleştirmek için yapılır ve hassas bir prosedür olarak kabul edilmez. Buna karşılık, örnek lekelenmeden önce virüsü aglütine etmek için örnek hedef virüse özgü antikor ile inkübe edildiğinden IEM, doğrudan EM'den daha büyük bir hassasiyete sahiptir (Cho ve Yoon, 2014).

Virüslerin, özellikle ekime uygun olmayanların görselleştirilmesi, hızlı geri dönüşlü EM için büyük bir avantajdır. BNoV, Nebovirüs, BRV, BToV ve BCoV gibi büyükbaş hayvan enterik virüslerinin hücre kültürlerinde izole edilmesi veya çoğaltılması zordur, ancak bu patojenler bir elektron mikroskobu altında benzersiz morfolojilerine (hem şekil hem de boyut) göre ayırt edilebilir (Duckmanton ve diğerleri, 1998).

Hedef antijenin antikoruna (örn., Monoklonal antikor) tanınmasına dayanan bir klinik örnekteki bir patojeni hızla saptamak için bir antijen yakalayan ELISA gerçekleştirilir (Lequin, 2005). Bu yöntem için antikor, cam, plastik veya bir membran filtre gibi katı bir yüzeye tutturulur. Antikor, numunede bulunan hedef antijeni yakalar. Daha sonra bir kolorimetrik reaksiyon dizisi antijen yakalanmasını doğrular ve bir antijen-antikor reaksiyonunu gösterir. Antijen konsantrasyonu, spektrometri ile ölçülen optik yoğunluk (OD) olarak nicel olarak tahmin edilebilir (Cho ve Yoon, 2014).

Dışkı örneklerinde BRV-A, BCoV, *E. coli* K99 + ve / veya *C. parvum*'u tespit etmek için ticari Ag-ELISA kitleri mevcuttur. Ag-ELISA'lar hızlı geri dönüş, yüksek verimlilik testi, tak ve kullan özelliği ve taşınabilirliği ile tanınmaktadır (Fenner ve diğerleri, 2011). Bu yöntemin analitik duyarlılığı izolasyon/kültür veya nükleik asit bazlı deneylerden daha düşük olma eğilimindedir (Cho ve diğerleri, 2010); bu nedenle, akut ishalli hayvanlardan örnek alınması güvenilir test sonuçları için önemlidir. En iyi veri için, dışkı akut olarak etkilenen buzağılardan taze olarak toplanmalıdır.

Dışkı flotasyonu ve direkt mikroskopi parazit yumurtalarını veya oositleri teşhis etmek için yaygın olarak kullanılır. Dışkı yüzdürmesinin prensibi, bir yüzdürme çözeltisi (≥ 1.24) ve oositler ($1.05 \sim 1.24$) arasındaki yoğunluk farkına dayanmaktadır (Ballweber, 2006). Santrifüjleme, mikroskop altında kolay görüntüleme hedefini yoğunlaştırdığı için tespit hassasiyetini arttırmak için test prosedürüne yaygın olarak bir santrifüjleme adımı dahil edilir. Santrifüjlemeden dışkı smearları için direkt mikroskopi de yapılabilir.

Klinik örneklerde ookistlerin özel boyama olmadan görselleştirilmesi zor olabilir. *C. parvum* oositlerinin aside dirençli boyama için pozitif olduğu bildirilmektedir (Muccio ve diğerleri, 2004). Bu organizmaları saptamak için dışkı smearlarına modifiye asit hızlı lekeler uygulanır. Ziehl-Neelsen değiştirilmiş asit hızlı boyamanın aksine, değiştirilmiş Kinyoun asit hızlı boyama daha konsantre bir fuchsin boya ve lipid çözücü içerir ve boyama için kullanılan reaktiflerin ısıtılmasını gerektirmez (Magi ve diğerleri, 2006; Treuer ve Haydel, 2011). Kısacası, bir ile iki damla dışkı temiz bir lam üzerine bulaşır ve havayla kurutulur. Numune mutlak metanol ile sabitlenir ve daha sonra karbol fuchsin ve %1 sülfürik asit ile boyanır. Örnek daha sonra metilen mavisi veya parlak yeşil ile karşı boyanır ve yağa daldırılmalı bir ışık mikroskobu altında incelenir. Kırmızı veya mor 4 ila 6 μm çapında boyanmış *C. parvum* ookistleri mavi veya yeşil bir arka plana karşı görünmelidir. Bu modifiye edilmiş asit hızlı boyama yöntemi, dışkıda *C. parvum*'u tespit etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu tekniğin duyarlılığı düşüktür, çünkü prosedür *C. parvum* oositlerinin varlığını doğrulamak için 1 g dışkı başına yaklaşık 500.000 oosit gerektirir (Balatbat ve diğerleri, 1996).

Fekal bakteri kültürü, dışkı ve bağırsak içeriğindeki bakteriyel patojenlerin izole edilmesi ve tanımlanması için yaygın olarak kullanılan bir laboratuvar yöntemidir. *Salmonella spp.*, *E. coli* K99 + ve *C. perfringens* primer sığır enterik patojenleridir (Ferrarezi ve diğerleri, 2008; Izzo ve diğerleri, 2011). Herhangi bir çapraz kontaminasyonu veya canlılık kaybını önlemek için dışkı, rektal sürüntü veya rektal stimülasyon yoluyla doğrudan ishali buzağılardan toplanmalıdır. Toplandıktan sonra dışkı örnekleri bir diagnostik laboratuvara sunulmadan önce soğutucu veya buz üzerinde orta veya özel dışkı kabını taşınmalıdır. Anaerobik bakteri benzeri *C. perfringens*'i incelemek için fekal numuneler hemen varsa önceden indirgenmiş (yani oksijensiz) taşıma ortamında saklanmalıdır.

Bakteri kültürü için kanlı agar plakaları, MacConkey agar plakaları, sorbitol ile MacConkey agar, Hektoen enterik (HE) plakalar ve ksiloz lizin desoksikolat (XLD) plakaları kullanılmaktadır (Cummings ve diğerleri, 2009; O'Leary ve diğerleri, 2009). Bazı bakteriyel patojenleri büyütmek ve tanımlamak için beyin kalp infüzyonu (BHI) suyu (genel bakteri kültürü için oldukça besleyici bir ortam) ve tetrathionat suyu (*Salmonella* türleri için) gibi çeşitli zenginleştirilmiş ve seçici ortamlar kullanılmaktadır. MacConkey agar, gastrointestinal sistemde yaygın olarak bulunan Gram negatif basilleri kültürlemek ve laktozu fermente eden bakterileri ayırt etmek için seçici olarak kullanılır. Sorbitol-MacConkey agar, patojenik olmayan *E. coli*'yi sorbitol'ü fermente edemeyen *E. coli* O157: H7'den ayırmaya yardımcı olabilir (Farmer ve Davis, 1985). *Salmonella spp.* tipik olarak Samonell-Shigella agar, bizmut sülfid agar, HE ortamı, parlak yeşil agar ve XLD agar kullanılarak fekal numunelerden kültürlenir (Voetsch ve diğerleri, 2004). *C. perfringens* kültürü için, tiyoglikolat suyu büyüme ortamı yaygın olarak kullanılır. Anaerobik koşullar altında kültürleme genellikle 36°C'de 2 gün sürmektedir (Ferrarezi ve diğerleri, 2008).

2.7. Bağırsak Geçirgenliğinin Değerlendirilmesi

Bağırsak geçirgenliğini incelemek için, çoğunlukla idrar veya kan numuneleri analiziyle bağırsak geçirgenliğini ölçmek için spesifik maddelerin kullanılmasına izin veren dolaylı yöntemler dahil olmak üzere çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bu maddeler metabolik olarak aktif olabilir veya aktif olmayabilir, radyo işaretli olabilir veya olmayabilir, bağırsağın farklı segmenti için seçici veya seçici olmayabilir. Genellikle bu maddeler, bağırsak epitelyumu boyunca veya hücre içi veya hücre dışı yollarla farklı şekilde taşınmaktadır (Graziani ve diğerleri, 2019). Paraselüler yol, difüzyona daha benzerdir ve taşıyıcı aracılı değildir. Sağlam bağırsak epitel bariyeri, bu moleküllerin penetrasyonunu önlemek için gereklidir. Bu tür maddelerin kandaki veya idrarındaki artan konsantrasyon ile bağırsak geçirgenliğinde bir artış ölçülebilir. Bağırsak geçirgenliğini ölçmek için kullanılan maddelerin çoğu suda çözünürdür ve bu nedenle enterosit membranlarının lipit çift katmanına nüfuz edemezler: bu nedenle vücut içindeki konsantrasyonları, TJ geçen paraselüler yola daha bağlıdır. Daha küçük maddeler, villöz uçların küçük, daha çok sayıda ve daha erişilebilir sıkı bağlantılarından kolayca geçebilirken, daha büyük maddeler, kript tabanındaki daha büyük, daha az erişilebilir ve daha az sayıda gözenekleri kullanmak zorundadır. Genellikle kullanılan maddelerin küçük bir kısmı bağırsak mukozasından geçer, dolaşıma ulaşır, böbrek tarafından süzülür ve idrarda ölçülebilmektedir. Bununla birlikte, bir test maddelerin üriner atılımı, mukozal bütünlüğün kendisi dışında birkaç mukozal olmayan faktöre (mide boşalması, bağırsak geçişi, renal klirens ve tam olmayan idrar geri kazanımı gibi) bağlı olabilir. (Mishra ve Makharia, 2012; Haas ve diğerleri, 2012).

2.7.1. Gastrointestinal Geçirgenliğin Ölçümü için Lactulose / Mannitol (L/M)

Lactulose/Mannitol klinik uygulamada atopik dermatit (Andre ve diğerleri, 1991; Laudatve diğerleri, 1994), inek sütü protein intoleransı (Dupont ve diğerleri, 1989; Jalonen, 1991), çölyak hastalığı (Catassi ve diğerleri, 1997; Greco ve diğerleri, 1991; Smecuol ve diğerleri, 1999; Vogelsang ve diğerleri, 1995), kistik fibrozis (Van Elburg, 1996) Crohn hastalığı (D'Inca ve diğerleri, 1999 ;Hollander, 1992), akut ve kronik ishal (Ford ve diğerleri, 1995; Di Leo ve diğerleri, 2003; Pignata ve diğerleri, 1990) ve diğer hastalıkların (Fleming ve diğerleri, 1993; Pascual ve diğerleri, 2003; Pignatave diğerleri, 1990) teşhisinde

kullanılmaktadır. L ve M'nin idrar miktar tayini için çeşitli prosedürler bildirilmiştir: enzimatik (Northrop ve diğerleri, 1990) ve spektrofotometrik (Zhang ve diğerleri, 2000) yöntemler veya ince tabaka kromatografisi (Menziş ve diğerleri, 1978), gaz kromatografisi (Farhadi ve diğerleri, 2003) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi gibi kromatografik ayırmalar (HPLC) (Delahunty ve Hollander, 1986). Bu prosedürler, farklı moleküler boyuta ve absorpsiyon yoluna sahip iki bileşimin oral uygulamasına ve idrar atılımının ölçülmesine dayanmaktadır Mannitol (M) gibi monosakkaritler, küçük moleküllerin absorpsiyon derecesini yansıtan sulu gözeneklerin transselüler yollarından geçmektedir. Laktüloz (L) gibi disakkaritler, hücreler arası bağlantı kompleksinden geçerek büyük moleküllere geçirgenliği yansıtır. İnce bağırsak bozukluklarında, hücre içi geçirgenlik azalmış mukozal hücre sayısını yansıtan azalma eğilimi gösterirken, paraselüler geçirgenlik artma eğilimindedir ve hasarlı sıkı bağlantıları yansıtmaktadır (Graziani ve diğerleri, 2019).

Mono ve disakkaritlerin geçirgenliği karşılaştırılır ve L/M oranı olarak ifade edilmektedir. İdrarda laktuloz ve mannitol atılım yüzdesi oranı, bağırsak geçirgenliğinin hassas, doğrudan, doğru ve invazif olmayan bir göstergesidir. Çözelti standart bir laktuloz ve mannitol dozu içermektedir. Genellikle 250 ml su içinde 5 g mannitol ve 250 ml su içinde 10 g laktuloz ortalama bir doz olarak kabul edilir. Toplam idrar hacmi 6 saatlik toplamadan sonra ölçülmektedir. Alınan idrar numunesi ölçüm yapılacak zamana kadar -20°C saklanabilmektedir. Lactulose ve Mannitol'ün idrar ölçümü için çeşitli prosedürler bildirilmiştir, ancak bugüne kadar en çok kullanılan, hassas ve spesifik bir test olan HPLC-MS/MS'dir (yüksek performanslı sıvı kromatografisi- kütle spektrometresi). Laktulozun fraksiyonel atılımı genellikle atılan laktuloz (mg)/alınan laktuloz oranından (mg) hesaplanmaktadır. Atılan laktuloz miktarı, bir litre idrarda mg / L laktulozdan elde edilmektedir. Aynı şey mannitol için de geçerlidir. Ön test idrarında hesaplanan laktuloz ve mannitol değerleri mg / L olarak 6 saatlik toplanan idrarda elde edilen aynı değerden çıkarılır. Sonuçlar laktulozun fraksiyonel atılımının mannitolün fraksiyonel atılımına oranı (L/M oranı) olarak ifade edilir (Duerksen ve diğerleri, 2005). Genellikle çocuklarda yapılan çalışmada, L/M oranı > 0,030 artmış bağırsak geçirgenliği anlamına gelmektedir (Lostia ve diğerleri, 2008). Laktüloz ve mannitol, farklı şeker emilimini ölçmek için ideal bileşikler temsil eder çünkü bunlar pasif olarak emilir ve idrar atılımından önce hücreler tarafından metabolize edilmemektedirler. Bununla birlikte, laktuloz ve mannitol, kolonik bakteriler tarafından bozulur: bu nedenle bu test, gastroduodenal ve ince bağırsak geçirgenliğinden daha fazla etkilenmektedir (Haas ve diğerleri, 2009). Bu analiz ile mide boşalması, ince bağırsak geçişi ve idrar atılımındaki bireysel

farklılıklar ortadan kaldırmaktadır (Marsilio ve diğerleri, 1998). Ayrıca, L/M idrar testi, toksik ve invazif olmayan, gerçekleştirmesi basit, nispeten ucuz ve tekrarlanabilir olması nedeniyle ince bağırsak geçirgenliğini değerlendirmek için güvenilir bir yöntem olarak yaygın şekilde kabul edilmektedir (Schietroma ve diğerleri, 2017).

2.7.2. Kolonik Geçirgenlik Ölçümü için Sukraloz

Sükraloz, sükrozun klorlanmasıyla oluşan yapay bir tatlandırıcıdır ve gastrointestinal bakterilerin etkisiyle fermente edilmediği ve bu nedenle tüm bağırsak geçirgenliğinin bir ölçüsü olarak kullanılabildiği için kolonda stabil olan benzersiz bir disakkarittir (Anderson ve diğerleri, 2005). Sukraloz, bağırsak sisteminin tamamının incelenmesi için sıklıkla diğer şekerlerle (üçlü veya dörtlü şeker testi) birlikte uygulanır. Örneğin laktuloz, mannitol ve sukraloz içeren bir 'üçlü şeker' testi, insanlarda NSAID'ler (Smecuol ve diğerleri, 2001) ve nikotin bantlarının neden olduğu gastrointestinal hasarı değerlendirmek için kullanılmıştır (Suenaeert ve diğerleri, 2003). Dört şeker bazlı çözelti (sukroz, laktuloz, mannitol, sukraloz) kullanan diğer çalışmalarda sırasıyla mide ve proksimal ince bağırsak, distal ince bağırsak ve kolonun geçirgenliğini tahmin etmek için 0 ila 3, 3 ila 5 ve 5 ila 24/26 saatlerde idrar, analiz edilmiştir (Lopetuso ve diğerleri, 2015; Maxton ve diğerleri, 1986).

2.7.3. Radyoaktif İşaretli 51 Cr-EDTA

Mukozal geçirgenliğin değerlendirilmesinde kullanılan yaygın bir bozunmamış radyo-etiketli şelat 51-krom etiketli etilen-diamin-tetra-asetattır (51Cr-EDTA). Moleküler ağırlığı 360 ve yarıçapı 7Å olan kimyasal olarak stabil bir hidrofilik şelattır. 51-krom etiketli etilen-diamin-tetra-asetat dokuda metabolize edilmez ve yüksek plazma konsantrasyonlarında bile toksikasyona neden olmamaktadır (Nylander ve diğerleri, 1991). Test, oral uygulamadan sonra idrardaki radyoaktif etiketli moleküllerin ölçülmesinden veya izleyicinin plazma klirenslerinin değerlendirilmesinden oluşmaktadır (Graziani ve diğerleri, 2019). M etiketli etilen-diamin-tetra-asetat'ın para-hücrel yolla bağırsak epitelini geçtiği düşünülmektedir. Bu test hem insanlarda hem de hayvanlarda bağırsak geçirgenlik indeksini incelemek için kullanılmaktadır (Nylander ve diğerleri, 1991). Özellikle bir gecelik açlık ve ön test diyet kısıtlamalarından

sonra, üçlü şeker testinde olduğu gibi, hastalar 100/120 mL su içinde 1.85 MBq 100 µL ⁵¹Cr-EDTA oral yolla uygulanmaktadır. Diyet bileşimi protein 12 g, karbonhidrat 36.8 g ve yağ 11.6 g oluşmaktadır. İdrar numuneleri 0-3 saat, 3-5 saat ve 5-24 saat süreyle 0,5 mL% 20 klorheksidin içeren üç kaptan toplanmaktadır (Dunlop ve diğerleri, 2006). Toplanan idrar, üç nüsha olarak ay - sintilasyon sayacında radyoaktivite için sayılmaktadır. Sonuçlar, oral yoldan uygulanan ⁵¹Cr-EDTA dozunun idrarla atılma yüzdesi olarak ifade edilmektedir (Graziani ve diğerleri, 2019).

2.7.4. Serum Zonulin Ölçümü

Vibrio cholera için bir aşının geliştirilmesi sırasında yapılan araştırmalar, hücre içi sıkı bağlantıları geri dönüşümlü olarak açabilen bir enterotoksin olan zonula oklüdens toksinlerinin keşfine yol açmıştır (Fasano ve diğerleri, 1991). Zonula oklüdens toksinlerinin keşfi, bağırsak paraselüler yolağının modülasyonunda yer alan karmaşık mekanizmalara ışık tutmuştur (Fasano, 2011). Zonula tıkayan toksinler, hedeflenen hücrelerin aktin polimerizasyonuna neden olarak, protein kinaz C'ye (PKC) bağımlı bir mekanizma (Fasano ve diğerleri, 1995; Fasano ve diğerleri, 2000) yoluyla sıkı bağlantı komplekslerinin çözülmesine yol açar, çünkü zonulinin inaktivasyonuna ve bölünmesine neden olur, bunun sonucunda jejunum ve ileum geçirgenliğinde bir artış belirlenmektedir (Bruewer ve diğerleri, 2003; Wang ve diğerleri, 2000). Bölünmüş zonulin formu bağırsaktan salınır ve periferik kanda dolaşır ve enzime bağlı immünosorban analizi (ELISA) kiti ile kolayca ölçülebilmektedir (Moreno-Navarrete ve diğerleri, 2012). İnsanlarda serum zonulin, laktuloz/mannitol idrar oranı ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir (Duerksen ve diğerleri, 2005).

2.7.5. Serum Diamin Oksidaz Ölçümü

Diamin oksidaz, ince bağırsağın villus epitel hücrelerinde bulunan ve ince bağırsakta histamin, putresin ve kadaverin gibi diaminlerin oksidasyonunu katalize edilemsinde önemli bir rol oynayan sitoplazmik bir enzimdir (Kitanaka ve diğerleri, 2002). Diamin oksidaz bağırsak mukozasının üst korial hücrelerinin sitoplazmasında oldukça aktif bir hücre içi enzimdir. Bağırsak mukozal epitel hücrelerinin ve bariyer fonksiyonunun zarar gördüğü durumlarda dAo

salınımı artar ve dAo hücre dışı boşluğa, lenf damarlarına ve kan dolaşımına girerek plazmadaki dAo seviyesini yükseltir. Plazma dAo aktivite seviyeleri, bağırsak mukozasının olgunluğu ve bütünlüğü ile pozitif olarak ilişkilidir (Wolvekamp ve de Bruin, 1994). Diamin oksidaz 'un aktivitesi stabil olduğu için kandaki konsantrasyonu, bağırsak boşluğunun hasarını ve restorasyonunu yansıtabilmektedir (Bieganski, 1983). İntestinal iskemi, inflamasyon ve benzeri stres durumlarında plazmadaki dAo düzeylerinin arttığı bildirilmektedir (Bragg ve diğerleri, 1991; Cai ve diğerleri, 2012; Fujisaki ve diğerleri, 1993). Disakkaridazlardan farklı olarak dAo, periferik kanda ölçülebilir ve birden fazla doku kaynağından kaynaklanabilen dolaşımdaki alkalın fosfataz aktivitesinin aksine, plazma dAo, bağırsak epitelinin olgunluğu ve bütünlüğünün nispeten spesifik bir plazma belirteci olarak kullanılabilmektedir Luk ve diğerlerinin (1980) yapmış olduğu çalışmada artan mukozal hasarla birlikte mukozalda ilerleyici bir azalma olduğunu ve plazma dAo aktivite düzeylerinin düştüğünü ortaya koymuştur. Fukuda ve diğerleri (2019) yaptığı çalışmada plazma dAo aktivitelerinin, ishali buzağılarda bağırsak mukozal hasarı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Yapılan bazı çalışmalarda, akut mezenterik iskemiden sonra serum diamin oksidaz seviyesinde yükselme görülmektedir (Bounous ve diğerleri, 1984; Cai ve diğerleri, 2012; Çakmaz ve diğerleri, 2013).

2.8. Buzağı İshali Önleme ve Kontrol

Buzağı ishali multifaktöriyel bir hastalıktır (Izzo ve diğerleri, 2011; Lanz Uhde ve diğerleri, 2008). Buzağı ishali oluşumunda rol oynayan faktörler a) peripartum buzağılama yönetimi, b) buzağı bağışıklığı ve c) çevresel stres veya kontaminasyon ile ilişkili olanlar olarak özetlenebilir.

2.6.1. Peripartum Buzağılama Yönetimi

İnek beslenmesi zayıf doğum, süt üretimi, distosi ve buzağı büyümesi ile yakından ilişkilidir. Son üç aylık dönemde yetersiz yem alımı ve makro- veya mikro-besin eksiklikleri buzağı morbiditesini ve mortalite oranlarını arttırır, çünkü fetal büyümenin çoğu son 2 aylık gebelikte ortaya çıkar (Mee ve diğerleri, 1995; Mee, 2004). Kolostrumun kalitesi ve miktarı vücut kondisyon skoru (VHS) ile ilişkilidir. 5'e yakın bir VHS (1~10 ölçeğinde), çok sayıdaki

ineklerde kabul edilebilir ve buzağılamada ilkel ineklerde 6 skoru arzu edilmektedir (Larson, 2007). Son zamanlarda, inek beslenmesinin buzağının erişkin yaşamına geçişini, ayrıca fetal büyüme ve gelişmeyi etkilediği gösterilmiştir (Greenwood ve Cafe, 2007). Yetersiz beslenen ineklerden doğan buzağının büyüme performansı zayıf, üretkenliği düşük ve hastalıklara karşı daha yüksek hassasiyetleri vardır. Başka bir çalışmada, son trimesterde takviye proteini ile beslenen ineklerde doğan düve buzağının yaşamın ilerleyen dönemlerinde kontrol grubuna göre daha yüksek gebelik performansına sahip olduğu bulunmuştur (Martin ve diğerleri, 2007).

Distosi, düşük buzağı performansının yanı sıra sıklıkla buzağı ishaline neden olan çevresel patojenlere karşı artan duyarlılık ile yakından ilişkilidir (Larson ve Tyler, 2005). Distosi yaşayan buzağılarda, baş ve dilin tıkanıklığı ve şişmesi gibi fiziksel semptomlar olabilir ve bu da buzağının kolostrum alım miktarını azaltabilir. Kolostrum kaynaklı immünoglobulinin (Ig) emilim hızı bu buzağılarda sağlıklı hayvanlara göre daha düşüktür (Odde, 1988). Sonuç olarak, etkilenen buzağılar erken yaşamda yetersiz kolostrum alımı nedeniyle (yani doğumdan 2 ~ 6 saat sonra) ineklerden uygun pasif bağışıklık elde edemezler (Moore ve diğerleri, 2005). Distosinin başlıca nedenleri, iri buzağı büyüklüğü ve ineğin pelvik boyutu küçük olması ile ilişkilidir. Büyük buzağının uterusu uygunsuz bir pozisyonda sahip olma olasılığı daha yüksektir. Bu koşullar altında baş ve bacaklar doğum kanalına giremez. Maternal pelvik boyutun yetersizliği, özellikle sığır düvelerinde distosiye neden olabilir. Distosiyi önlemek için düve seçimi sırasında ineğin genetik kalıtımı (örn., Yeterli pelvik boyut ve buzağılama kolaylığı) dikkate alınmalı ve uygun buzağılama yardımı için doğum yapacak ineğin sık sık izlenmesi gerekmektedir (Larson ve Tyler, 2005).

2.6.2. Immunité

Sığır plasentası, antikorun fetüse pasif transferine izin vermez. Sonuç olarak, yeni doğan buzağı anneden herhangi bir antikor almaz ve çevresel patojenlere karşı çok hassastır. Buzağının enterik hastalığa direnci, yeterli miktarda yüksek kaliteli kolostrumun zamanında tüketilmesi ile yakından ilişkilidir (Barrington ve Parish, 2001). Yenidoğan buzağı ideal olarak doğumdan sonraki ilk 6 saat içinde 3~4 L kolostrum almalıdır (Cortese, 2009). Kolostrum antikorlar, bağışıklık hücreleri (nötrofiller, makrofajlar, T hücreleri ve B hücreleri), tamamlayıcılar, laktoferrin, insülin benzeri büyüme faktörü-1, dönüştürücü büyüme faktörü, interferon ve diğer çözümler faktörleri içermektedir (Nagy, 2009). İmmünoglobulin G, sığır

kolostrumundaki birincil antikor izotipidir. Kolostrum kalitesi buzağı sayısı, beslenme durumu ve ineğin aşılmasına bağlı olarak değişir (Odde, 1988). Bununla birlikte, düvelerden doğan buzağılar, yaşamın ilk 24 saati içinde yeterli miktarda kolostrum alırlarsa, anneden bulunan bağışıklığın kabul edilebilir bir seviyesini alabilirler (Larson ve Tyler, 2005). Düvelerde bir ineğe kıyasla distosi, yanlış annelik ve kötü kolostrum üretimi olasılığı daha yüksektir. Bu nedenle, enfeksiyöz hastalık gelişme şansını azaltmak için inek buzağı yönetimi uygulamaları dikkate alınmalıdır. Kolostrumun birincil işlevi hem antikorun hem de hücre aracılı bağışıklığın pasif transferi yoluyla aktarılması ve bağışıklık sistemini güçlendirmektir. İdeal olarak, buzağılar kendi annelerinden kolostrum almalıdır, ancak birkaç inekten elde edilen kolostrum karıştırılarak uygulanmaktadır. Kolostrum beslemesinin bir riski, enfekte kolostrum tarafından yayılabilen BVDV, sığır lösemi virüsü ve Johne hastalığının bulaşmasıdır (Meas ve diğerleri, 2002; Streeter ve diğerleri, 1995). Bir çiftlikte hayvanlar BRV, BCoV, *C. perfringens* ve *E. coli* K99 + gibi spesifik patojenlerden bulunuyorsa, gebe ineklerin aşılması kolostrumdaki hedeflenen patojenlere karşı spesifik antikorların konsantrasyonunu artırabilir (Cortese, 2009). Halen bu patojenler için ticari aşılar mevcuttur. Çoğu aşı veya canlı modifiye edilmiş ya da öldürülmüş organizmalar ya da ikisinin bir kombinasyonunu içerir. Bazı aşılar inekler diğerleri ise buzağılar için tasarlanmıştır.

2.6.3. Çevresel Stres ve Kontaminasyon

Düşük sıcaklıklar, yağmur, şiddetli kar yağışı, rüzgar ve yüksek nem seviyeleri gibi sert hava koşulları genç buzağılarda stres faktörü olarak işlev görür ve buzağıların ishale yatkinliğini artırır (Carroll ve Forsberg, 2007; Larson ve Tyler, 2005). Yenidoğan buzağılar, aşırı hava koşullarına maruz kaldıklarında vücut sıcaklıklarını etkili bir şekilde düzenleyemezler. Bu, bağışıklık sistemi bozukluğuna neden olan hipotermi veya hipertermi indükleyebilir. Gebe hayvanlar, buzağılardan daha az çevresel stresten etkilenmektedir. Bununla birlikte, distosi veya metabolik hastalık olasılığı çevresel stresle artmaktadır (Mee, 2004). Buzağılama mevsimi, kontrollü bir yetiştirme programı uygulanarak çevre koşullarının daha uygun olduğu bir zamana ayarlanabilir. Kirlenmiş bir ortama maruz kalmak buzağı ishalinin ana nedenidir. Doğumdan sonra buzağılar, enfekte hayvanların varlığı, aşırı kalabalık, eşzamanlı, kontamine buzağılama padokları ve yaşa göre buzağı ayrımı eksikliği gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilecek kontamine ortamlara doğrudan maruz kalmaktadır (Larson ve

diğerleri, 2004; Larson ve Tyler, 2005). Bu faktörler genellikle sinerjistik olarak çalışır ve daha yüksek miktarda patojene maruz kalma süresinin artması fırsatını arttırır. Tersine, buzağı ishali önleme müdahalesi, her faktörün (örneğin patojen yükü ve çevre kontaminasyonu) kontrolü ve azaltılmasına odaklanır. Buzağı ishali insidansını azaltmak için temel müdahale kavramları 1) üremeyi planlayarak patojen maruziyetini azaltmak ve ilk buzağılamada, daha duyarlı olan buzağların patojenlere maruziyetini azaltmak, 2) patojen yükünü azaltmak çevreye patojen giriş süresini azaltan ıslahı planlayarak buzağılama mevsimini kısaltmak ve 3) hayvanların buzağılama tarihlerine göre gruplandırılmasıyla temiz bir alanın (veya patojen içermeyen bir alanın) tutulması, böylece buzağılama bölgesi bir önceki buzağılama grubu tarafından kullanıldıktan sonra temiz tutulabilir.

2.7. Tedavi

İshalli bir buzağının ilk değerlendirmesi, genel bir fiziksel muayeneyi içerir; aritmi olup olmadığını, dehidratasyon durumunu ve merkezi sinir sistemi (CNS) depresyonunu, ishalin şiddetini, omphalitis, pnömoni ve hipotermi veya hipertermi içermelidir (Naylor, 2009).

2.7.1 Oral Sıvı Tedavisi

Sıvı ve elektrolit anormalliklerinin düzeltilmesi ishalli buzağların tedavisinin temelidir. İshal şiddetine bağlı olarak emme refleksi bulunun buzağılarda süt veya süt ikame yeminin tamamen kesilerek günde her biri 2 L'lik elektrolitin solüsyonları ile üç oral beslenme yapılmasıdır. Daha ciddi şekilde etkilenmiş buzağlar için uygun bir oral elektrolit solüsyonu seçerken, sulandırıldığında 100 ila 120 mmol / L sodyum ve başlıca alkalileştirme ajanları olarak 50 ila 80 mmol asetat veya propiyonat içeren bir solüsyon bulundurulmalıdır (Naylor, 1987). Çok miktarda HCO_3 içeren ürünlerden dikkatli kullanılmalıdır çünkü bunlar abomasal pH'ı yükselmesine yol açmaktadır bu da sindirilen patojenlerin bağırsaklara geçişini kolaylaştırmaktadır. Bikarbonat ve yüksek sitrat seviyeleri de abomasumda süt pıhtılaşmasında bozulmalara yol açabilmektedir (Naylor, 1992).

2.7.2. İntravenöz Sıvı Tedavisi

Emme refleksini bulanmayan buzağılar, dehidrasyonu düzeltmek, asidozu düzeltmek ve serum D-laktat konsantrasyonlarını 1 mmol/L'nin altına düşürmek için IV sıvılarla tedavi edilmelidir (Naylor, 2009)

2.7.2.1. Sıvı Gereksinimleri

Sıvı gereksinimlerini, dehidrasyonu düzeltmek için sıvı miktarını, devam eden kayıplar ve günlük ihtiyaç hesaplanmalıdır. Süt ve oral elektrolit solüsyonları ile beslenen ishallerli buzağılarda, devam eden kayıplar genellikle günde 1 ile 4 L arasında bulunmaktadır (Heath,1989). Emme refleksi zayıf ve ileus bulunan buzağılarda sıvı açığını tamamlamak için gerekli bir yoldur. İleus oral sıvıların emilimini geciktirir veya engellemektedir. İntravenöz sıvı olarak genellikle izotonik sodyum bikarbonat ve izotonik salin karışımı, laktatlı Ringer veya asetatlı Ringer solüsyonu kullanılmaktadır (Naylor, 2009).

2.7.3. Metabolik Asidozun Düzeltilmesi

Baz açığı en iyi şekilde bir kan gazı analizi veya toplam CO₂ ölçülerek hesaplanmaktadır (Booth ve Naylor, 1987; Naylor, 1987). Hafif asidoz ve baz açığı 10 mmol/L'den az olan buzağılarda, laktatlı veya asetatlı ringer solüsyonu ile rehidre etmek asidozu düzeltmek için genellikle yeterlidir. Şiddetli asidozu bulunan buzağılarda rastgele sıvı uygulamalarına göre en iyi çözüm yolu damar içi yolla NaHCO₃ uygulamasıdır (Booth ve Naylor, 1987; Kasari ve Naylor, 1985). Tipik olarak, asidozun düzeltilmesi 1 ila 4 L (25 ila 100 mL/kg) izotonik %1.3 NaHCO₃ yaklaşık 4 ila 8 saat boyunca uygulanmasını gerektirmektedir. Kalan sıvı eksikliği izotonik salin ile karşılanmalıdır (Naylor, 2009).

2.7.3. Antimikrobiyal Tedavi

Bazı ishalli buzağılara antibiyotik vermenin yaygın endikasyonları, bağırsaklarda aşırı bakteriyel üremeyi baskılamak ve sepsisi engellemektir (Constable, 2004).

Enterit vakalarının çoğu bakteriyel olmayan nedenlerin sonucudur. Bakteriyel aşırı üreme, antibiyotik uygulaması veya beslenme yönetimi ile yönetilebilir. Pasif transfer yetmezliği bulunan, emme refleksi olmayan ve 1 haftadan küçük buzağılarda septisemi riski mortalite oranı daha yüksektir (Fecteau ve diğerleri, 1997; Lofstedt ve Dohoo, 1996). Genel olarak bu, IV sıvı tedavisi gerektirecek kadar hasta olan buzağının sistemik antibiyotiklere gerektiği anlamına gelmektedir. İshalli buzağının kanından çok çeşitli organizmalar kültürlenebilir, ancak *E. coli* baskındır. Seftiofur, trimetoprim sülfonamid kombinasyonları veya amoksisilin klavulanat sık tercih edilen antimikrobiyal ajanlar arasındadır (Naylor, 2009).

2.7.4. Antiprotozooner Tedavi

Doğumdan itibaren 7 gün süreyle uygulanan halofuginone laktat (60-100 µg/kg vücut ağırlığı veya 5 mg/buzağı) buzağılarda kriptosporidyum ookistlerinin dışkı ile saçılımı ve ishal görülme sıklığını azalmaktadır. Bu, buzağılarda cryptosporidium ile enfeksiyon insidansını azaltmanın bilinen tek farmakolojik yöntemidir (Jarvie ve diğerleri, 2005; Villacorta ve diğerler, 1991).

2.7.5. Antiprotozooner Tedavi

Non steroid antiinflamatuvar ilaçlar sadece dışkılarında kan bulunan buzağılarda faydalı görünmektedir (Barnett ve diğerleri, 2003).

2.7.6. Kısa Zincirli Yağ Asitleri

Endojen bütirat üretimi, bağırsak sağlığını iyileştirmek için başka bir potansiyel terapötik mekanizmalar arasında bulunmaktadır (Stewart ve diğerleri, 2017). Bakteriyel karbonhidrat fermentasyonu sırasında üretilen üç ana SCFA, asetat, propiyonat ve bütirattır ve kolay emilirler ve enerji olarak metabolizma olmaktadır (Vieira ve diğerleri, 2012). Butirat, enterositler için tercih edilen substrattır ve birçok çalışma, SCFA'ların antiinflamatuvar özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Andrade ve diğerleri, 2015). Farelerde yapılan çalışmada 5-florourasil kaynaklı bağırsak hasarında, bütirat tedavisi bağırsak geçirgenliğini ve bağırsak hasarını en aza indirmiştir (Ferreira ve diğerleri, 2012). Dekstran sülfat sodyum (DSS) ile indüklenmiş kolit, diyetle sodyum bütirat alan farelerde mukozal inflamasyon azalma, ishalde iyileşme ve lokal lenf düğümlerinde gelişmiş inflamatuvar profil görülmüştür (Vieira ve diğerleri, 2012). Domuz yavrularında, asetik asit ile indüklenen koliti, bütirat takviyesi (tributirin şeklinde) kolonik lenfosit infiltrasyonunu, hücre ölümü belirteci kaspaz-3'ün ekspresyonunu azaltmasına yol açmıştır aynı zamanda kolonik mukozada sıkı bağlantı proteini claudin-1'in ekspresyonunu artırmakta hücrel apoptozu azaltarak ve sıkı bağlantı oluşumunu iyileştirerek hasarı hafiflemesine yol açmaktadır (Hou ve diğerleri, 2014).

2.7.7. Amino Asitler

Amino asitler; protein, nitrik oksit ve poliamin sentezi için gerekli olan temel substratlardır ve ince bağırsak mukozası için önemli bir yakıt görevi görmektedirler (Andrade ve diğerleri, 2015; Wang ve diğerleri, 2009). Bağırsaklarla ilişkili hastalıklarda glutamin, arginin, lizin, treonin ve diğerleri dahil olmak üzere amino asitlerin potansiyel terapötik yararını destekleyen birçok çalışma bulunmaktadır (Wang ve diğerleri, 2009). Çok yönlü bir amino asit olan arginin, protein sentezi ve nitrik oksit, üre ve kreatin dahil diğer önemli moleküller için bir öncü görevi görmektedir (Wu ve Morris, 1998). Argininin, yaygın olarak kullanılan bir immünomodülatör ilaçla (metotreksat) yaralanan caco-2 hücrelerinde bariyer fonksiyonunu iyileştirdiği in vitro olarak gösterilmiştir (Beutheu ve diğerleri, 2013). Oral arginin takviyesi, sıçanlarda lipopolisakkarit tedavisini takiben intestinal mukozal hasarı azaltmasına yol açmıştır (Sukhotnik ve diğerleri, 2013). Birkaç önemli işlevi olan, esansiyel olmayan amino asit olan glutamin, glutamat ve aspartatla birlikte ince bağırsakta üretilen enerjinin çoğunu

oluşturmaktadır (Andrade ve diğerleri, 2015; Reeds ve Burrin, 2000). Glutamin, stres ve hastalık zamanlarında "koşullu esansiyel amino asit " olarak kabul edilmektedir (Rao ve Samak, 2012). Azalmış glutamin seviyeleri, in vitro olarak insan lenfositlerinde bozulmuş stres yanıtı ile ilişkilendirilmiştir (Oehler ve diğerleri, 2002). Glutamin desteğinin sütten kesilmiş domuzlarda jejunal atrofiyi azalttığı ve büyüme performansını iyileştirdiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Wu ve diğerleri, 1996). Sütten kesilmiş domuz yavrularında, glutamin takviyesi, hücre büyümesi için gerekli genlerin ekspresyonunu artırmakta ve yaşa uygun kontrollerle karşılaştırıldığında ince bağırsakta oksidatif stresi teşvik edebilecek genlerin ekspresyonunu azalmaktadır (Wang ve diğerleri, 2008). İntravenöz glutamin takviyesi, sıçanlarda deneysel iskemi/reperfüzyonda görülen bağırsak hasarının derecesini ve lökosit infiltrasyonu azalmaya yol açmıştır (Mondello ve diğerleri, 2010).

2.7.8. Diğer Besinler

Çinko; hücresel dönüşüm, düzenleme ve onarımda işlev gören bir eser elementtir ve çeşitli enzim sistemlerinin anahtar bileşenidir (Maret, 2013; Michielan ve D'Incà, 2015). Birkaç in vivo hayvan modeli, çinkonun hastalıkta bağırsak fonksiyonunu artırma potansiyelini göstermiştir. Çinko takviyesi, sütten kesildikten sonraki 2 hafta boyunca kontrol domuzlarına kıyasla tedavi edilen domuzlarda bağırsak mikroflorasının stabilitesini ve koliform çeşitliliğini korumaya yardımcı oldu (Katouli ve diğerleri, 1999). Sıçanlarda deneysel kolitte, çinko takviyesi ishal ve kilo kaybı azalma görülmüştür, ancak makroskopik inflamasyon üzerinde hiçbir etki gözlenmemiştir (Di Leo ve diğerleri, 2001). Enterotoksijenik *E. coli* ile enfekte edilmiş domuz yavrularında çinko oksit takviyesi inflamatuvar immün yanıt genlerinin ekspresyonunu azalmaya yol açmıştır (Sargeant ve diğerleri, 2010).

2.7.9. Probiyotikler, Prebiyotikler ve Sinbiyotikler

Probiyotikler, belirli sayıda eklendiğinde konakçıya faydalı bir etki sunabilen canlı mikroorganizmalardır (Stewart ve diğerleri, 2017). Prebiyotikler sindirilemeyen bir gıda bileşeni olan ve birkaç seçilmiş organizmanın büyümesini ve aktivitesini uyararak konakçı bağırsak mikroflorasına fayda sağlamaktadır (Weese, 2002). Prebiyotikler genellikle normal

olarak üretilen sindirim enzimlerine direnebilen, ancak kolon mikroflorası tarafından fermentasyona duyarlı kalan oligosakkaritleri içerir (Wang ve diğerleri, 2008). Bir sinbiyotik olarak adlandırılan prebiyotik ve probiyotik kombinasyonu, sinerjistik tedavi sunabilmektedir (Wasilewsk ve diğerleri, 2015). Prebiyotiklerin ve probiyotiklerin takviyesi, yaşamın ilk haftalarında en büyük etkileri göstermektedir (Abe ve diğerleri, 1995; Marquez, 2014). Yaşamın ilk haftalarında bağırsak mikrobiyotası daha değişkendir, yaşamın ilerleyen dönemlerinde mikrobiyata şekillenmiştir (Malmuthuge ve diğerleri, 2015b). Bu nedenle, bağırsak sağlığını etkileyen önemli bir faktör olan bağırsak mikrobiyomunu manipüle etmek (Bischoff, 2011), mikrobiyal bazlı ürünlerin kullanımı yoluyla buzağı sağlığını iyileştirmek için bir seçenek haline gelebilir (Malmuthuge ve Guan, 2017).

Probiyotik kullanımı bağışıklık sistemi aktivasyonu ve modülasyonu, gelişmiş mukozal bariyer işlevi, patojenlerin rekabetçi dışlanması, laktik ve asetik asitler dahil antimikrobiyal maddelerin üretimi ve enfeksiyon riskini azalmaya yol açabilmektedir (Andrade ve diğerleri, 2015; Schoster ve diğerleri, 2014). Yaygın olarak kullanılan türler arasında *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Saccharomyces* bulunmaktadır (Krishna Rao ve Samak, 2013).

Deneyssel olarak kolit oluşturulmuş farelerde, *Bifidobacterium bifidum* ile tedavi, histolojik skorları iyileşmeye ve birkaç inflamatuvar belirteci azalmasına yol açmıştır (Philippe ve diğerleri, 2011). Benzer şekilde kolitli fareler, kontrol farelerine kıyasla ısı ile öldürülmüş *Lactobacillus brevis* ile tedaviyi takiben sağkalımı ve bariyer fonksiyonunu iyileşmeye yol açmıştır (Ueno ve diğerleri, 2011). *Lactobacillus rhamnosus*'un kavşak kompleks bileşeni zonula-okludin-1'in ekspresyonunu arttırdığı ve tedavi edilen farelerde bağırsak geçirgenliğini iyileştirdiği gösterilmiştir (Miyauchi ve diğerleri, 2009).

Crohn hastalığının tedavisinde kullanılan bir anti-inflamatuvar ilaç olan mesalamine ek bir tedavi olarak *Saccharomyces boulardii* eklendiğinde, tek başına mesalamine kıyasla klinik nüks oranı azalmıştır. Bu organizmanın yaygın olarak kullanılan ilaçların etkinliğini artırmada yararlı olabileceğini düşündürmektedir (Andrade ve diğerleri, 2015).

Diğer türlere benzer şekilde, büyük hayvanlarda yaygın olarak kullanılan probiyotikler arasında bakteri cinsi *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* ve *Streptococcus* ve maya *Saccharomyces* bulunmaktadır (Coverdale, 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Cihazlar

Çalışma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç hastalıkları anabilim dalında bulunan derin dondurucu (Uğur, Türkiye), BioTek ELx800 model ELISA reader (Almanya), Hettich santrifüj cihazı , Bovid-5 immünokromatografik test kiti (Kore), Bovine Zonulin ELISA Kit (MyBioSource, USA) , Bovine Diamin Oksidaz ELISA (Cat No. MBS738088) kullanıldı.

3.1.2. Hayvan Materyali

Araştırmanın hayvan materyalini Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalına gelen neonatal ishalli (akut ishal), 1-28 günlük yaşta ve mevcut hızlı test kitleri aracılığıyla ilgili hastalıkların (*E. coli*, *Rotavirus*, *Coronavirus*, *Cryptosporidium*, *Cl. perfringens*) tanısı konulmuş, her iki cinsiyetten ve çeşitli yaş gruplarından 60 buzağı oluşturuldu.

Bovid-5 katı fazlı immunokromatografi yöntemi ile çalışan hızlı test kitleri aracılığıyla tanı konulan olgular enfekte (n= 45) ve sağlıklı (n =15) olarak iki gruba ayrıldı.

Etiyolojik olarak tanısı belirlenen buzağuların ishalden etkilenme dereceleri tespit edilmek amacı ile dışkı skorlaması, dehidrasyon derecesinin belirlenmesi amacı ile ise deri elastikiyeti ile birlikte gözlerin orbita içerisindeki konumu milimetrik cetvelle ölçülüp;

$$\text{Dehidrasyon Derecesi [\%]} = 1.71 \times [\text{enoftalmus (mm)}] + 0,38$$

$$\text{Dehidrasyon Derecesi [\%]} = 1.77 \times [\text{deri elastikiyetinin normale dönmesi (sn)}] - 3,16,$$

belirtilen formüllerden yararlanılarak tespit edildi.

Buzağılarda sepsis durumunun belirlenmesi amacı ile Fectau ve diğerlerinin (1999) belirttiği skorlama sisteminden yararlanıldı.

Tablo 2.İshalli buzağılarda sepsis seçiminde kullanılan sepsis parametreleri (Fectau ve diğerleri, 1999).

Hasta Hayvan:	Cinsiyet:	Yaş:	Doğum Tarihi:		
Değerlendirmeler	0	1	2	3	
Dışkı (Kıvam Kan)	☐ Dış Normal	☐ Dışkı yumuşak, kuyruk kuru	☐ İshal orta, kuyruk ıslak	☐ Sulu ihmal, kan veya fibrin kuyruk ıslak, alan kirli	
Hidrasyon (göz küresi, burun mukozası, deri elastikiyeti)	☐ Hidrasyon normal deri elastikiyeti < 2sn	☐ Orta derece göz küresi hafif batmış deri elastikiyeti > 2 sn fakat <4 sn	☐ Belirgin dehidrasyon gözler batmış, burun kuru, deri elastikiyeti > 5sn	☐ Şiddetli göz küresi şiddetli batkın, deri elastikiyeti yok	
Hayvan durumu (davranış, ayakta durma)	☐ Davranış normal, uyarı gelince ayağı kalkar	☐ Depresif, teşvik ile kalkar	☐ Yalnızca yardımla kalkar	☐ Yardımla bile kalkamaz	
Göbek durumu (ağrı, kuruluk, boyut, sızma varlığı)	☐ Normal, kalem boyutu, kuru ve ağrısız	☐ Normalden büyük, ağrısız, kuru	☐ Normalden daha büyük, ıslak ve ağrılı	☐ Büyük, irin akıntılı, ağrılı	
Scleral damar (sayısı, boyutu, rengi ve yakınlığı (limbus))	☐ Normal (<2), limbusa ulaşamaz	☐ Çok sayıda (4<) en az bir tanesi limbus ulaşır, pembe renkli, boyut normal	☐ Daha büyük sayıda (4>), en az 2 tane ulaşır, kırmızı renkli, boyut biraz artar	☐ Büyük sayıda (6>) en az 3 tane ulaşır, mor renkli, büyüklüğü artmış	
Kalp frekansı (atım/dk)					
Solunum sayısı (alım/dk)					
Vücut sıcaklığı (°C)					

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Toplanması

Bu çalışma kapsamında buzağılardan *V.jugularis* aracılığıyla alınan antikoagülsiz tüplere tekniğine uygun olarak kan örnekleri alınmıştır. Antikoagülsiz tüplere alınan 5 ml'lik kan örneği saklanarak ELISA yöntemi ile serum zonulin düzeyleri ölçülmüştür. Buzağılardan alınan dışkı örneklerine Bovid-5 hızlı test kiti uygulanmıştır.



Resim 2.Çalışma kapsamındaki ishalleri buzağı.

3.2.2. Laboratuvar Analizleri

3.2.2.1. Bovid- 5 Test Kiti

Buzağılardan tek kullanımlık svap yardımı ile alınan dışkı örnekleri seyreltici tüp içerisinde çözdürüldü. Çözdürülen dışkı örneğindeki büyük partiküllerin çökmesi için yaklaşık bir dakika bekletildikten sonra tek kullanımlık pipet yardımıyla süpernatant alındı. Damlalık içine alınan süpernatant her numune gözüne 4 damla damlatıldı. 10 dk sonrasında test kitinde yorumlama yapıldı.



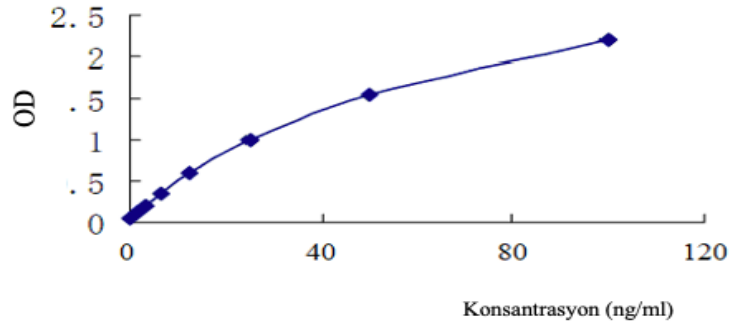
Resim 3.Tez kapsamında kullanılan Bovid-5 test kiti

3.2.2.2. Serum Zonulin Ölçümü

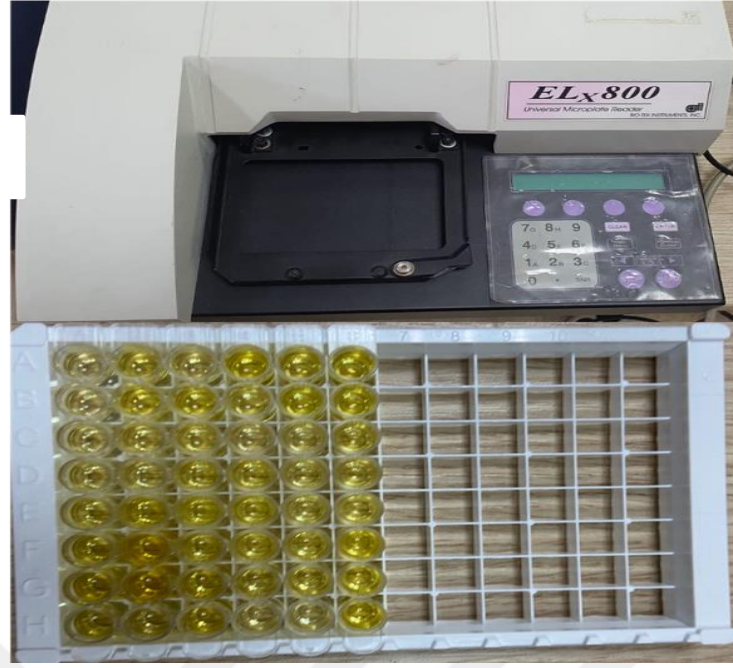
Antikoagülanlı tüplere alınan kan örnekleri 15 dakika süresince 3000 devir/dk hızda santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Elde edilen serum örnekleri ependorf tüplerine ayrılarak analizler gerçekleştirilinceye kadar -80 °C’de buzdolabında saklandı. Serum örnekleri Bovine Zonulin ELISA kiti (Cat No. MBS2609999) ile analizi yapıldı.

Çift antikor sandaviç tekniği prensine dayalı ELISA test kiti kullanılmıştır. İlk hazırlama adımı olarak numunelere, standartlara ve kontrollere biyotinlenmiş bir zonulin izleyici eklendi.

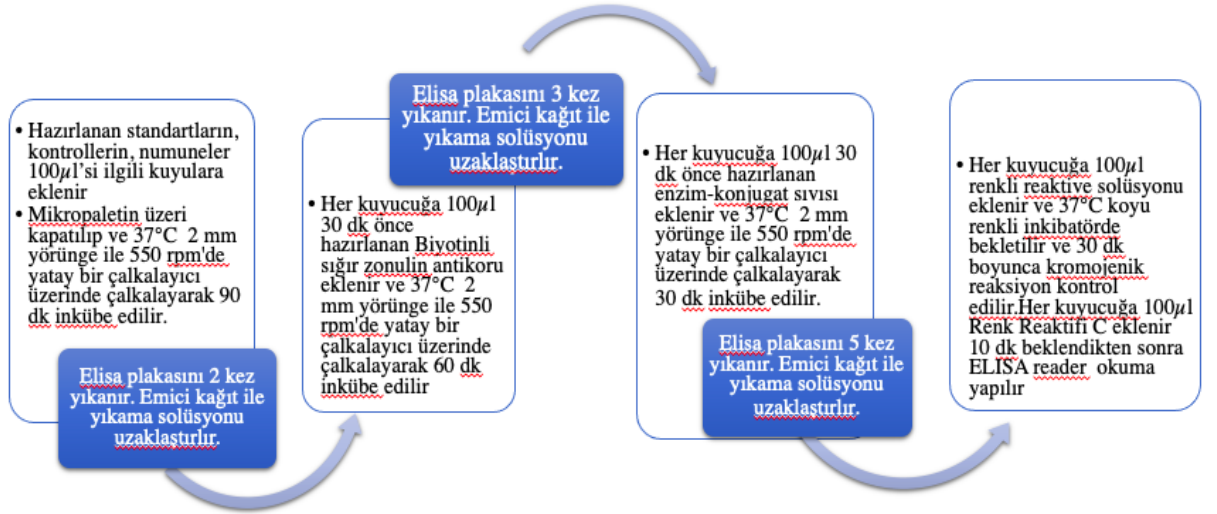
Daha sonra muamele edilmiş numunelerin, standartların ve kontrollerin poliklonal anti-zonulin antikorları ile kaplanmış mikrotitre plaka kuyularında inkübe edilir. İnkübasyon sırasında, numunelerdeki serbest hedef antijen, mikrotitre plaka kuyularında immobilize edilmiş poliklonal anti-zonulin antikorlarının bağlanması için biyotinlenmiş zonulin izleyici ile rekabet eder. Bağlanmayan bileşenler bir yıkama adımıyla uzaklaştırılır. İkinci bir inkübasyon adımı sırasında, biyotinlenmiş zonulin izleyicisine bağlanan peroksidaz etiketli Avidin-peroksidaz konjugatları, her mikrotitre kuyusuna eklenir. Bağlı olmayan bileşenleri çıkarmak için bir yıkama adımından sonra peroksidaz substratı tetrametilbenzidin (TMB) eklenir. Son olarak enzimatik reaksiyon, asidik bir durdurma solüsyonu ile sonlandırılır. Renk maviden sarıya döner ve absorbans fotometrede 450 nm'de ölçülür. Sarı rengin yoğunluğu numunedeki zonulin konsantrasyonu ile ters orantılıdır; bu, numunedeki yüksek zonulin konsantrasyonunun, immobilize anti-zonulin antikorlarına bağlı biyotinlenmiş zonulin izleyicinin konsantrasyonunu azalttığı ve fotometrik sinyali düşürdüğü anlamına gelir. Standarttan elde edilen değerler kullanılarak absorbans biriminin (optik yoğunluk, 450 nm'de OD) konsantrasyona karşı bir doz yanıt eğrisi oluşturulur. Numunelerinde bulunan Zonulin, doğrudan bu eğriden belirlenir. Zonulin test kitinin algılama aralığı 100 ng/mL-1.56 ng/mL arasındadır.



Şekil 10. Zonulin standart konsantrasyon eğrisi



Resim 4. Tez kapsamında kullanılan ELISA reader



Şekil 11. Bovine ELISA Zonulin test kiti uygulama prosedürü



Resim 5. Araştırmacı laboratuvar şartlarında serum zonulin ölçümü esnasında

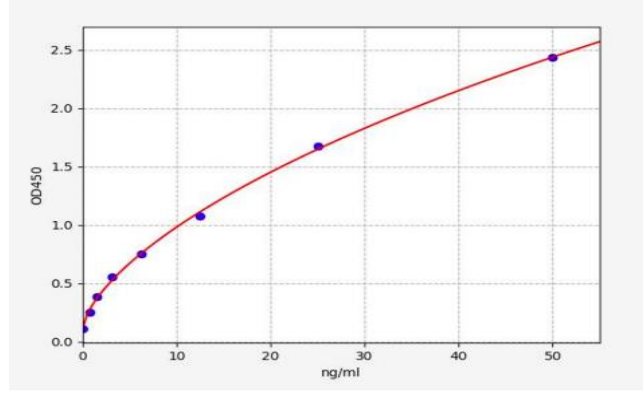
3.2.2.3. Serum Diamin Oksidaz Ölçümü

Ependorf tüplerine ayrılarak analizler gerçekleştirilinceye kadar -80°C ' de buzdolabında saklanan serum örnekleri Bovine Diamin Oksidaz ELISA (Cat No. MBS738088) ile analizi yapıldı.

Diamin Oksidaz ELISA kiti, bir poliklonal anti-dAo antikoru ve bir dAo-HRP konjugatı kullanan rekabetçi enzim immünoassay tekniğini prensibine dayanmaktadır. Algılama 20 ng/ml - $0,312\text{ ng/ml}$ arasında bulunmaktadır. Serum numunesi ve tampon, dAo-HRP konjugatı ile birlikte önceden kaplanmış plakada bir saat süreyle inkübe edilir. Kuluçka süresinden sonra kuyucuklar boşaltılır ve beş kez yıkanır. Kuyucuklar daha sonra HRP enzimi için bir substrat ile inkübe edilir. Enzim-substrat reaksiyonunun ürünü mavi renkli bir kompleks oluşturur. Son olarak, reaksiyonu durdurmak için bir durdurma solüsyonu eklenir ve bu solüsyon daha sonra mavi renkli enzim substrat kompleksini sarıya çevirir. Rengin yoğunluğu, bir mikropłaka okuyucuda 450 nm 'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

Numunelerden alınan dAo ve dAo-HRP konjugatı anti-dAo antikoru bağlanma bölgesi için rekabet ettiğinden, rengin yoğunluğu dAo konsantrasyonuyla ters orantılıdır. Bölge sayısı sınırlı olduğundan, numuneden dAo tarafından daha fazla bölge işgal edildiğinden, dAo-HRP konjugatını bağlamak için daha az bölge kalır.

Optik yoğunluk (O.D.) standartların konsantrasyonuyla ilişkilendiren standart bir eğri çizilir. Her numunedeki dAo konsantrasyonu, bu standart eğriden enterpolasyona tabi tutulur.



Şekil 12:dAo standart eğrisi



Şekil 13.Bovine ELISA dAo test kiti uygulama prosedürü

3.2.3. İstatistiksel Değerlendirme

Elde edilen verilerin tamamlayıcı istatistikleri gerçekleştirildikten sonra, sağlıklı ve farklı etiyolojik ajanlarla ishali buzağuların dAo ve zonulin değerleri arasındaki karşılaştırmaları yapmak için Kruskal-Wallis ANOVA non-parametrik testi kullanıldı. Tüm ishali buzağuların dAo ve zonulin değerleri ise sağlıklı hayvanlarla karşılaştırılmak için Mann-Whitney U testinden yararlanıldı. İstatistiksel analiz ve grafiklerin çiziminde GraphPad Prism programı kullanıldı ve p değeri 0,005'ten küçük olan durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Klinik değerlendirme ile elde edilen skorların ortalamaları ve standart hata değerleri belirlenerek gruplar arasındaki karşılaştırmalar Kruskal-Wallis ANOVA ile gerçekleştirildi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

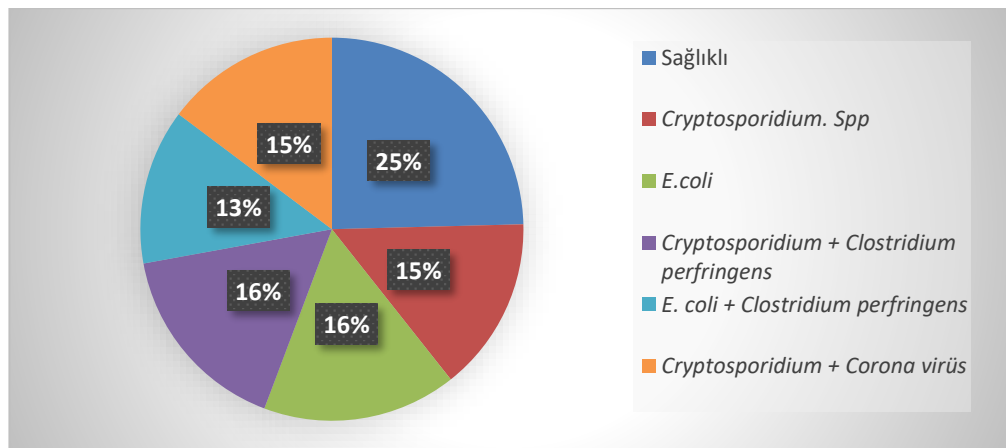
Çalışmaya dahil edilen sağlıklı grup (n=15) anamnez, klinik ve laboratuvar bulgular temelinde neonatal dönemdeki (1-28 gün) buzağılardan seçilerek oluşturuldu.

İshalli buzağılar Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı büyük hayvan kliniğine getirilen daha öncesinde sağaltım geçmişi bulunmayan 1-28 gün yaş grubunda bulunan buzağılar arasından sepsis parametreleri değerlendirilerek ishal bulguları gözlemlenen buzağılardan seçilerek oluşturuldu.

Bovid-5 katı fazlı immunokromatografi yöntemi ile çalışan hızlı test kitleri aracılığıyla tanı konulan olgular mono-enfekte (n=19) ve ko-enfekte (n=27) olarak ana iki gruba ayrıldı.

Mono-enfekte grup kendi arasında *Cryptosporidium. Spp* ve *E.coli* olmak üzere iki alt gruba ayrıldı.

Ko-enfekte grup kendi arasında *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens*, *E. coli* + *Clostridium perfringens* ve *Cryptosporidium* + *Coronavirus* olmak üzere üç alt gruba ayrıldı.



Şekil 14.Çalışmaya dahil edilen buzağuların daire dilim grafiği

İshalli ve sağlıklı buzağı grupları ortalama hidrasyon değerleri (min-maks.) sepsis parametrelerine göre incelendiğinde 0,4 ile 1,5 arasında değiştiği buna bağlı olarak en düşük hidrasyona sahip grubun *Cryptosporidium* + *Coronavirus* ile ko-enfekte grup olduğu tespit edildi. *Cryptosporidium* + *Coronavirus* ile enfekte buzağılar sağlıklı gruptaki buzağılara göre daha yüksek dehidrasyon görüldüğü belirlendi. *Cryptosporidium* + *Coronavirus* enfekte buzağı grubunda mental durum ve emme refleksi sırasıyla 1,66 /2,16 en yüksek tespit edilmiştir. *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens* ile ko-enfekte buzağılarının sağlıklı gruptaki buzağılara göre beden ısı ve kalp frekansı değerlerinde anlamlı düzeyde ($P<0,005$) düşük olduğu belirlendi.

Tablo 3. Enfeksiyon ve sağlıklı etkenlere göre klinik bulguların değerlendirilmesi.

	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>E.coli</i>	<i>Cryptosporidium</i> m + <i>Clostridium perfringens</i>	<i>E. coli</i> + <i>Clostridium perfringens</i>	<i>Cryptosporidium</i> m + <i>Coronavirus</i>	Sağlıklı
Hidrasyon	0,4±0,24 ^{ab}	1,4±0,20 ^{ac}	0,83±0,16 ^d	1,33±0,33 ^{be}	1,5±0,22 ^f	0 ^{cdef}
Mental durum	0,6±0,24	1,4±0,20 ^a	1±0	1,33±0,33 ^b	1,66±0,21 ^c	0 ^{abc}
Emme Refleksi	1,2±0,2	1,8±0,26 ^a	1,66±0,33 ^b	1,83±0,47 ^c	2,16±0,16 ^d	0 ^{abcd}
Kalp Frekansı	76±2,3 ^a	82±1,6	72±0,80 ^b	75,5±1,64 ^c	73,83±2,12 ^d	96,2±047 ^{abcd}
Beden ısı	38,24±0,05 ^a	37±0,18	37,9±0,06 ^b	37,9±0,20 ^c	37,9±0,076	38,7±010 ^{abc}

a,b,c,d,e,f: Her değişkene ait alt gruplar arasında aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir.

İshalli gruptaki buzağılarının dışkıları yumuşak kıvamdan sulu tarza değişimler gösterdi. Neden olan etkene bağlı olarak dışkı kokusu ile renkte değişimler görüldü. Açık sarıdan gri beyaza değişen aynı zaman içerisinde kan bulunan dışkılar görüldü. Enfekte gruplar arasındaki fekal skorlamada 2,66 ile 1,4 arasında değiştiği en yüksek skorlamasının *Cryptosporidium* + *Coronavirus* ile ko-enfekte buzağılarda belirlendi. Mono-enfekte buzağılar değerlendirildiğinde *E.coli* ile enfekte buzağılar en yüksek skorlamaya sahiptir.

Tablo 4. Enfeksiyon ve sağlıklı grupların fekal skorlamaya göre klinik bulguların değerlendirilmesi

	<i>Cryptosporidium</i> spp.	<i>E.coli</i>	<i>Cryptosporidium</i> + <i>Clostridium perfringens</i>	<i>E. coli</i> + <i>Clostridium perfringens</i>	<i>Cryptosporidium</i> + Corona virus	Sağlıklı
Fecal skorlama	1,4±0,24 ^a	2,14±0,14 _b	1,5±0,4 ^{cd}	2,16±0,30 ^e	2,66±0,21 ^{acf}	0 ^{bdef}

a,b,c,d,e,f: Her değişkene ait alt gruplar arasında aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir.

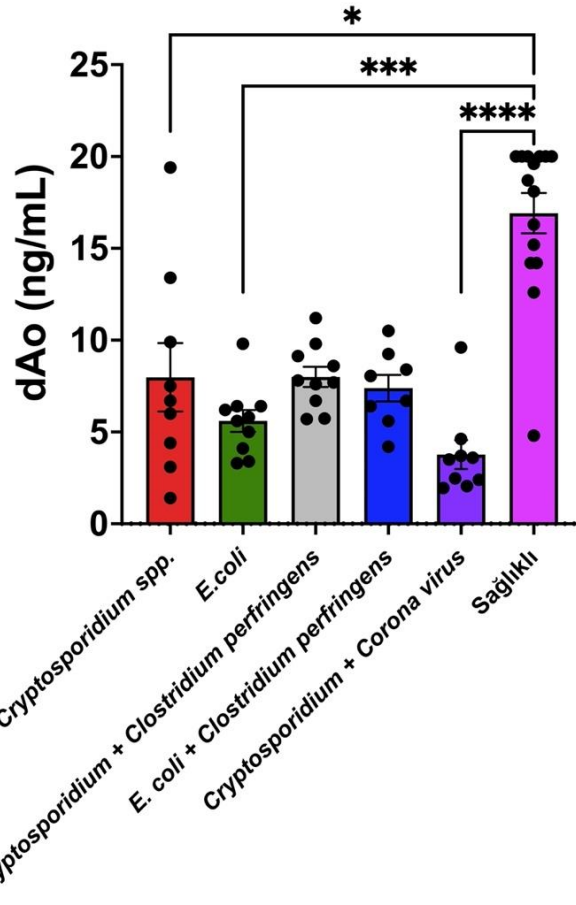
4.2. Kan Parametrelerinin Analizi

4.2.1. Serum Diamin Oksidaz ve Zonulin ölçümü

Serum dAo düzeyleri (ng/mL) değerlendirildiğinde gruplar arasında en düşük ortalama değerine (7.99± 0,55) sahip grup *Cryptosporidium* + *Coronavirus* olarak belirlendi. Serum zonulin düzeyleri (ng/mL) değerlendirildiği ortalama en yüksek değere (76,64± 2,80) *E.coli* ile enfekte grup olduğu belirlendi.

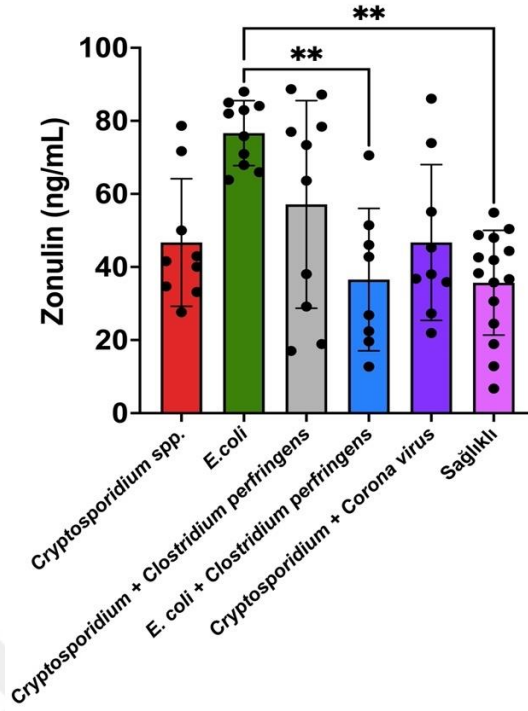
Tablo 5. Enfekte ve sağlıklı gruplarda serum Zonulin ve dAo ortalama ve standart hata değeri

GRUPLAR	SERUM dAo DÜZEYİ (ng/mL) $\bar{X} \pm SH$	SERUM ZONULİN DÜZEYİ (ng/mL) $\bar{X} \pm SH$
<i>Cryptosporidium</i> spp.	7,97± 1,860	46,71± 5,810
<i>E.coli</i>	5,6± 0,590	76,64± 2,800
<i>Cryptosporidium</i> + <i>Clostridium perfringens</i>	7,99 ± 0,550	57,14± 8,980
<i>E. coli</i> + <i>Clostridium perfringens</i>	7,38± 0,720	36,56± 6,880
<i>Cryptosporidium</i> + Corona virus	3,767± 0,780	46,71± 7,110
Sağlıklı	16,91± 1,090	35,69± 3,690



Şekil 15.Serum dAo düzeylerine ait ortalama sütun grafiği.

Gruplar arasında serum dAo düzeyleri değerlendirildiğinde *Cryptosporidium spp.* ile sağlıklı grup , *Cryptosporidium* + *Coronavirus* ile sağlıklı ve *E.coli* ile sağlıklı grup arasında istatistik olarak ($p<0,005$) önemli fark belirlendi.

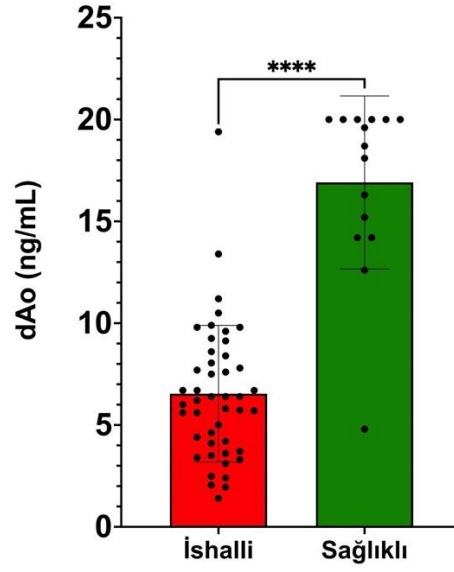


Şekil 16.Serum zonulin düzeylerine ait ortalama sütun grafiği.

Monoenfekte, koenfekte ve sağlıklı gruplar içerisinde değerlendirilen buzağların Zonulin değerlerinin *E.coli* grubunda bulunan buzağların sağlıklı ve *E. coli* + *Clostridium perfringens* grubunda bulunan buzağlara göre istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) olduğu belirlendi.

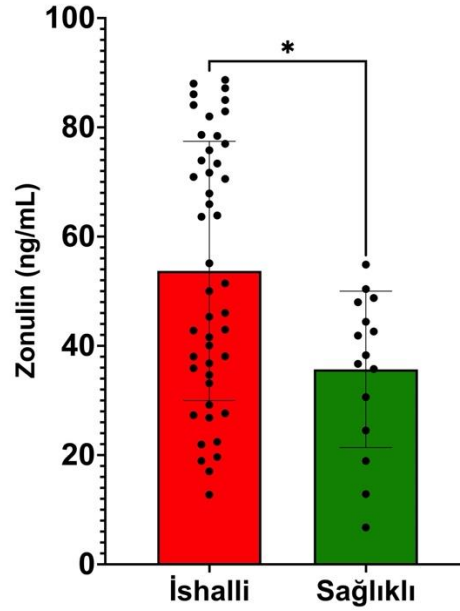
Tablo 6.İshalli ve sağlıklı buzağların ortalama zonulin ve dAo değerleri.

	İshalli buzağlar $\bar{X} \pm SH$	Sağlıklı buzağlar $\bar{X} \pm SH$	p değeri
Zonulin (ng/mL)	53,72±23,72	35,69±14,31	0,021
dAo (ng/mL)	6,54±3,36	16,91±4,27	0,001



Şekil 17.İshalli ve sağlıklı buzağların serum dAo düzeylerine ait ortalama sütun grafiği.

Sağlıklı buzağların ishalli buzağı gruplarına göre serum dAo istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p < 0,001$) yüksek bulunmuştur.



Şekil 18.İshalli ve sağlıklı buzağların serum zonulin düzeylerine ait ortalama sütun grafiği.

Sağlıklı buzağların ishalli buzağı gruplarına göre serum zonulin istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p < 0,021$) düşük bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Buzağı ishali, neonatal dönemde yaygın olarak rapor edilen ve dünya çapındaki sığır üreticileri için hala önemli bir verimlilik ekonomik kayıp nedenleri arasında bulunmaktadır (Cho ve Yoon, 2014). ABD süt sığırları için NAHMS (2007) süttten kesilen buzağı ölümlerinin %57'sinin ishale bağılı olduğunu ve çoğu vakanın 1 aylıktan küçük buzağılarda meydana geldiğini bildirmiştir. Birçok yeni müdahale stratejisi (örn., aşı, ilaçlar ve sürü yönetimi) ekonomik kaybı en aza indirecek şekilde geliştirilmiş ve uygulanmıştır, ancak sahadaki bu önemli sorunun devam etmesi, bulaşıcı hastalıkların permütasyonları, hastalık ekolojisinin net bir şekilde anlaşılmaması, zayıf çevre hijyeni ve yanlı epidemiyolojik veriler dahil olmak üzere buzağı ishalinin çok faktörlü doğasına bağılı olarak sorunun güncelliğini korumasında önemli nedenlerdir (Cho ve Yoon, 2014). Genetik çeşitlilik, sürekli evrim, ortaya çıkan patojenler ve/veya patojenlerin çevresel olarak her yerde bulunması, hastalığın etkin kontrolünü engelleyen faktörlerdir (Cho ve Yoon, 2014). Bu tez çalışmasında Aydın İli Neonatal dönem ve diğer dönemdeki buzağılarda ileride oluşturulacak sağaltım protokollerine klavuzluk etmesi adına etkin sindirim sistemi problemlerinin kontrollerine yönelik araştırmalarda bulunulmuştur. Şöyle ki çalışma gruplarımızda *Cryptosporidium* Spp, *E.coli*, *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens*, *E. coli* + *Clostridium perfringens* , *Cryptosporidium* + *Coronavirus* olarak belirlendi. Sahada bu problemlerin yaygınlığının tespiti yıllardır araştırılmakta ise de anılan patojenlerin intestinal permabilite ile intestinal epitelyal bariyer fonksiyonların nasıl etkilendiğine dair veri bulunmadığından, bu tezden elde edilecek çıkarımların hem bakış açısını hem de ileride oluşturulacak sağaltım protokollerini değiştirebilme potansiyallerine sahiptir.

İnce bağırsakta, mikro organizmaların yoğun olarak bulunduğu lümeni, vücuttaki en büyük bağışıklık bölmesinden yalnızca bir hücre tabakası ayırılmaktadır. Bu tek katmanlı epitel hücreleri, bakteriyel enfeksiyonları ve istenmeyen unsurların sızmasını önlemek için yeterli bir bağışıklık tepkisi oluşturma yeteneğini korurken, besinleri emme ve diyet antijenlerine karşı toleransı sürdürme gibi muazzam bir görevle karşı karşıyadır ve böylece dış ve iç çevre arasında koruyucu bir bariyer oluşturmaktadır (Mani ve diğerleri, 2012). Bu bariyerde meydana gelen değişiklikler, birçok bağırsak bozukluğunun ilerlemesini ve patogenezi büyük ölçüde etkilemektedir. Bağırsak bariyeri tehlikeye girdiğinde, toksik luminal antijenlerin ve bakterilerin infiltrasyonu, sürekli sistemik inflamasyona yol açan agresif immün aktivasyonu

ortaya çıkarabilmektedir. Bu tür enflamasyon; büyümeyi ve üretkenliği olumsuz yönde etkileyen bağışıklık sisteminin artan enerji talebini desteklemek için hayvanın metabolik önceliklerini nihai olarak değiştiren doku işlevinde değişikliklere neden olmaktadır (Kvidera ve diğerleri, 2017a; Liehr ve diğerleri, 2017). Mide öncesi fermantasyon bölmelerinden gelen mikrobiyal antijenlere yüksek oranda maruz kalma nedeniyle ruminantlarda bağırsak bariyer fonksiyonunun önemi artmaktadır (Mani ve diğerleri, 2012). Mevcut yönetim uygulamalarına dahil olan çeşitli faktörler, hayvanın bağırsak sağlığında bozulmalar, bariyer işlevini tehlikeye atabilir ve "geçirgen bağırsak" olarak bilinen bir duruma yol açabilmektedir (Cangiano ve diğerleri, 2022). Bu faktörler arasında süten kesme (Moeser ve diğerleri, 2007; Wood ve diğerleri, 2015), ısı stresi (Baumgard ve Rhoads, 2013; Pearce ve diğerleri, 2013), ruminal asidozis (Emmanuel ve diğerleri, 2007), azaltılmış yem alımı (Zhang ve diğerleri, 2013) ve süt ineklerinin erken laktasyonunda geçiş dönemi (Abuajamieh ve diğerleri, 2016) yer almaktadır. Bununla birlikte, geçirgen bağırsağa katkıda bulunan faktörleri incelemek zordur. Çünkü bağırsak bariyer bütünlüğünün azalmasından sorumlu koşullar, diğer dokuların metabolizmasını ve bağışıklık tepkisini de etkileyebilmektedir (Kvidera ve diğerleri, 2017b). Geçirgen bağırsağın fizyolojik ve fenotipik sonuçlarını tek başına değerlendirmek, yaygın çiftlik içi bozuklukların patofizyolojisine katkısı hakkında bilgi sağlamaktadır (Cangiano ve diğerleri, 2022). Daha yüksek paraselüler ve intraselüler geçirgenliği sahip makromoleküller, bozulmuş bağırsak bariyeri fonksiyonunun ve geçirgen bağırsağın değerlendirilmesinde iyi bir göstergedir (Pederzoli ve diğerleri, 2018; Wood ve diğerleri, 2015). Büyük moleküllerin paraselüler taşınması, mukozal hasarın yoğunluğu ile artarken, küçük moleküllerin emilimi, çoğunlukla emilim yüzeyinin azalmasından etkilenmektedir (Hall, 1999; Klein ve diğerleri, 2007). İshal sonucunda şekillenen metabolik asidozis perfüzyon yetersizliği sonucu dokularda hipoksi gelişmektedir (Yağcı ve Parlatur, 2018). Enterositler özellikle hipoksiya ve besin kısıtlamasına duyarlıdır (Rollwagen ve diğerleri, 2006), bu da ATP'nin tükenmesine ve artan oksidatif ve nitroztatif strese neden olmaktadır (Hall ve diğerleri, 2001). Bu sıkı bağlantı disfonksiyonuna ve nihai olarak bağırsak bariyer fonksiyonunu azaltan büyük morfolojik değişikliklere katkıda bulunmaktadır (Lambert ve diğerleri, 2002; Pearce ve diğerleri, 2013) ki bu durum lümen içeriğinin portal ve sistemik kana geçişinde artışa neden olmaktadır (Hall ve diğerleri., 2001; Pearce ve diğerleri, 2013). Lipopolisakkarit olarak da adlandırılan endotoksin, Gram negatif bakterilerin dış zarına gömülmüş, lümen içeriğinde bol ve üretken olan ve birçok türde iyi karakterize edilmiş güçlü bir bağışıklık uyarıcısı olan bir glikolipiddir (Berczi ve diğerleri, 1966; Giri ve diğerleri, 1990; Tough ve diğerleri, 1997). Güncel literatür kortikotropin

salma faktörü (CRF) sisteminin stres kaynaklı sızdıran bağırsakta yer alan mekanizma olabileceğini göstermektedir (Vanuytsel ve diğerleri, 2014; Wallon ve diğerleri, 2008). Bu tez çalışmasında sızıntılı (sızdıran ve/veya geçirgen) bağırsağa neden olabilecek bakteriyel protozoel ve viral etmenlere yönelik analizlerde bulunulmuş olup sağlıklı kontrol grubuna göre *Cryptosporidium spp*, *E.coli*, *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens*, *Cryptosporidium* + *Coronavirus* gruplarında sağlıklı kontrollere göre istatistiksel ($p<0,005$) önemi olan veya olmayan artışlar belirlenmiştir.

İlk olarak Fasano ve arkadaşları tarafından tanımlanan bu çalışmada ise serum proteini zonulin, bağırsak geçirgenliğini değerlendirmek için periferik bir belirteç olarak kullanılabilmektedir (Fasano ve diğerleri, 2000; Sturgeon ve Fasano, 2016). Zonulin proteini geri dönüşümlü olarak sıkı bağlantıları parçalama yeteneğine sahiptir ve bu nedenle mukozal geçirgenliğin düzenlenmesinde rol almaktadır (Tripathi ve diğerleri, 2009; Wang ve diğerleri, 2000). Zonulin ilk olarak bağırsak bakterisi *Vibrio cholera* tarafından üretilen bakteriyel enterotoksin, *zonula occludens* toksininin endojen bir insan analogu olarak keşfedilmiştir (Fasano ve diğerleri, 1991; Wang ve diğerleri, 2000). Bizim bu tez çalışmamızda bilginiz dahilinde ülkemiz sathında zonulin düzeyleri viral, bakteriyel, protozoel etkenlerle ilişkili olarak ilk kez irdelenmiş olup anılan hastalıklar ile geçirgen bağırsak arasındaki ilişki detaylı olarak araştırılmıştır. Alttaaki paragraflarda zonulin ile ilgili yurdumuzda gerçekleştirilen araştırmalar tartışmaya açılacaktır.

Alıç Ural (2022) retrospektif saha araştırmasında, ısı stresine maruz kalan buzağların (özellikle yaz aylarında) gastrointestinal geçirgenliğini, serum zonulin düzeylerini ve bunların görünüşte sağlıklı buzağlar arasındaki mevsimsel dağılımla ilişkisi değerlendirilmiştir. Yapılan araştırmada iki farklı ay 2 mevsimi temsil ettiğinden, Ocak 2022 (20.00 öğleden sonra 4°C ve 08.00 sabah 10°C) ve Haziran 2022 (20.00 öğleden sonra 19°C ve 08.00 sabah 27°C) serum zonulin konsantrasyonları arasında önemli farklılıklar görülmüştür. Gruplar arası ve grup içi karşılaştırma farkı gündüz/gece saatlerinde hem mevsimsel dağılımda hem de mekânsal dağılımda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ($p=0,012$) görüldüğü rapor edilmiştir (Alıç Ural, 2022). Sunduğumuz bu tez çalışmamızda ortalama zonulin seviyeleri (ng/mL) ko-enfekte grupta bulunan *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens* ($57,14 \pm 8,98$) *E. coli* + *Clostridium perfringens* ($36,56 \pm 6,88$) ve *Cryptosporidium* + *Coronavirus* ($46,71 \pm 7,11$) ile enfekte buzağlarda belirlendi. *E.coli* ile mono-enfekte buzağı grubu *E. coli* + *Clostridium perfringens* ve sağlıklı gruba göre ortalama serum zonulin düzeyi anlamlı ($p<0,005$) olarak yüksek bulundu. Gerek transselüler, gerekse parasellüler yollarda antijen trafiğini sıkı şekilde kontrol etmek

amacı ile dinamik bariyer oluşturan gastrointestinal kanal (Fasano, 2012), zonulinin interselüler bağlantı noktaları açısından bilinen tek fizyolojik modülatörü zonulin salınımı ile bağırsak permabilitesini düzenlemektedir. İntestinal bariyer bütünlüğünün sağlanması, gerek otoimmünite gerekse inflamasyon mekanizmalarının daha iyi anlaşılmasına neden olacağından (Tazih ve diğerleri, 2020) intestinal sıkı bağlantılarının düzenleyicisi konumundaki zonulin artışlarının sızıntılı intestinal bariyer, disbiyozis ve inflamasyona eşlik edeceği (Tazih ve diğerleri, 2020) yine zonulinin intestinal bariyerle olan etkileşimi (Serek ve Oleksy-Waurzyniah, 2021) göz önünde bulundurulduğunda bu tez kapsamında alınan enfekte buzağılarda sağlıklı kontrollere göre istatistiksel önemi olan/olmayan zonulin ekspresyonu artışları dikkate alınmalıdır. Şöyle ki zonulin ekspresyonunun artışı, sıkı bağlantı proteinlerinin kaybına, buda büyük moleküllerin bağırsak iç astarını aşmasına neden olur (Carpes ve diğerleri, 2021; Stelfi ve diğerleri, 2022). Sözü edilen tüm mekanizmalar bu çalışma kapsamında alınan mono yada ko enfekte buzağılarda zonulin artışını açıklayabilir.

Yapılan prospektif saha çalışmasında neonatal dönem buzağı ishallerini tanımlamak için bağırsak bariyer fonksiyonunun invaziv olmayan seçilmiş bir biyobelirteç olarak zonulinin özgüllüğü değerlendirilmiştir. Bovine Zonulin ELISA test kitlerinin kullanılmasıyla 11 hastalıklı ve diğer sağlıklı buzağının tümü pozitif test sonuçları olduğu rapor edilmiştir. Dolaşımdaki zonulin seviyeleri (ng/mL) ($\pm$ SEM) olarak ifade edildiğinde, sağlıklı ($26,43 \pm 3,528$) ve ishallerli buzağılar ($57,97 \pm 4,250$) arasında önemli farklılıklar ($p < 0,001$) olduğunu bildirmektedirler (Ural, 2022). İshallerli buzağı gruplarında serum zonulin (ng/ml) değeri $53,72 \pm 23,72$ sağlıklı buzağılarda ise $35,69 \pm 14,31$ serum dAo değeri sırasıyla $6,54 \pm 3,36 / 16,91 \pm 4,27$ belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında ko-enfekte yada mono-enfekte buzağılarda her iki önemli parametre benzer metodoloji ile ölçülmüştür.

Alıç Ural ve diğerleri (2021) tarafından yapılan bir çalışmada Ağustos ayında (%36 nem ve ortalama $41,1^{\circ}\text{C}$) çiftlikte ELISA yöntemiyle değerlendirilen serum zonulin (ng/ml) seviyeleri gece 00.00'da gündüz değerlerine göre ($34,60 \pm 10,90$) artışı ($60,07 \pm 21,20$) ($p=0,018$) rapor edilmiştir. Buna bağlı olarak artan zonulin seviyesine bağlı bağırsak bariyerinin bozulmasına bağlı laktasyondaki sığırların süt veriminin düşmesinden etkilenebileceğini belirtilmektedir. Bizim bu tez çalışmamızda mevsimsel dağılıma bakılmamış olup iklim koşulların zonulin seviyesi üzerinde etkisi araştırılmamıştır. Bu yönü ile ilerideki çalışmalarda bunun aydınlatılması izahate muhtaçtır.

Alıç Ural'ın (2022) yaptığı bir çalışmada göre bir çok hayvan türünde görülebilen, malabsorbsiyon, diyareye neden olan giardiasis buzağılarda çalışılmıştır. Ruminantlarda artan

bağırsak geçirgenliği ve disbiosis hakkında çok az veri mevcut olması dolayısıyla sağlıklı kontrol grubu (n=11) ve giardia pozitif (n=11) ishallerli buzağılarda ELISA yöntemi ile serum zonulin seviyeleri ölçülmüştür. Giardia pozitif buzağıkların ortalama serum Zonulin konsantrasyonu, sağlıklı buzağıklarına göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($63,35 \pm 3,73$ ng/mL'ye karşılık $34,94 \pm 3,72$ ng/ ml). Bu tez kapsamında değerlendirilen buzağılarda sağlıklı grupta ortalama zonulin değerleri ng/ ml $35,69 \pm 3,69$ seviyesinde olduğu belirlenirken mono-enfekte grupta bulunan *Cryptosporidium spp.* ve *E.coli* ile enfekte buzağılarda sırasıyla $46,71 \pm 5,81/76,64 \pm 2,80$ olarak tespit edildi. Bizim çalışmamızda test kitleri ile giardia pozitifliği belirlenemediğinden bu yönüyle karşılaştırma yapılamamıştır.

Wang ve diğerleri (2000) tarafından yapılan çalışmada memeli ince bağırsaklarının, patojenik veya patojenik olmayan enterik bakterilere maruz kalmaya, ince bağırsak sıkı bağlantı geçirgenliğinin düzenlenmesinde yer alan bir sistem olan zonulin yolunu aktive ederek tepki verdiğini belirtilmiştir. Aynı çalışmada zonulin, enterik mikroorganizmalar tarafından üretilmediği, çünkü bakteri kültüründe zot genini bulundurmamış veya Zot/zonulin antikor reaksiyona giren proteinler salgılanmadığı tespit edilmiştir. Zonulin, yalnızca bakteriler ince bağırsağın serozal katmanına etkilediğinde değil, lümene eklendiğinde salgılanmaktadır. Bizim bu tez çalışmamız göz önüne alındığında enterik bakteri grubunda olan *E.coli* ile enfekte buzağılarda en yüksek serum zonulin düzeyinin görülmesi şaşırtıcı olmayacaktır. Nitekim sağlıklı grup ($35,69 \pm 3,69$) ile *E.coli* ($76,64 \pm 2,80$) grupları arasında ortalama zonulin seviyeleri açısından *E.coli* 'nin farklı suşlarının intestinal bariyer üzerinde değişken etkileri bulunmaktadır (Serek ve Oleksy-Waurzyniah, 2021) belirlenen istatistiksel ($p < 0,005$) farklılık bu durumu açıklayabilir. *E.coli* Nissle 1917 (probiyotik suşudur) sıkı bağlantı proteinlerinden Zo-2 protein üretimini artırırken (Everard ve diğerleri, 2013; Toscano ve diğerleri, 2007) C25 *E.coli* suşu permabilitiyi artırmaktadır (Schroeder, 2019).

İnce bağırsağın villuslarında üretilen dAo, kana salındıktan hemen sonra karaciğerde metabolize edildiğinden, serum dAo kandaki aktivite gerçek zamanlı olarak ince bağırsağın villusunun durumunun değerlendirilmesini sağlamaktadır (Bounous ve diğerleri, 1984). Bu nedenle, son yıllarda çeşitli klinik araştırmalar, bağırsak villuslarının durumunu yansıtan göstergeler bildirmiştir. Yapılan araştırmalar, serum veya plazma dAo aktivitesinin insanda bağırsak mukozal hasarı hakkında biyobelirteç olduğunu göstermiştir (Miyoshi ve diğerleri, 2015; Namikawa ve diğerleri, 2012). Fukuda ve diğerleri (2019) yapılan çalışmada ishallerli buzağılarda serum dAo aktivitesinin sağlıklı buzağıklarına göre önemli ölçüde düşük olduğunu belirtmiştir. Benzer şekilde bizim tez çalışmamızda da mono-enfekte ve ko-enfekte ishallerli

buzağılarda ortalama serum dAo seviyeleri sağlıklı grupta bulunan buzağılara göre düşük olması yukarıdaki çalışmayı desteklemektedir.

Plazma histidin konsantrasyonları ve dAo aktivitesindeki spesifik değişiklikler, son zamanlarda ishalli buzağılarda bağırsak mukozal hasarı için potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. Plazma histidin konsantrasyonunun, ishalli buzağılarda *Cryptosporidium parvum* ile ilişkili bağırsak mukozal hasar için spesifik bir biyobelirteç olan plazma dAo aktivitesinden daha spesifik olduğu görülmüştür (Tsukano ve diğerleri, 2020). Bu tez kapsamında gruplar kendi arasında değerlendirildiğinde ortalama serum dAo (ng/ml) değerleri sağlıklı grupta $16,91 \pm 1,09$ *Cryptosporidium spp.* $7,97 \pm 1,86$, *E.coli* $5,6 \pm 0,59$ *Cryptosporidium + Clostridium perfringens* $7,99 \pm 0,55$, *E. coli + Clostridium perfringens* $7,38 \pm 0,72$, *Cryptosporidium + Coronavirus* $3,767 \pm 0,78$ olarak belirlendi. Mono-enfekte ve ko-enfekte ishalli buzağılarda serum dAo seviyelerinin sağlıklı gruba karşın anlamlı derecede ($p < 0,005$) düşük olduğu görülmektedir

Geçtiğimiz üç yıla olumsuz yönde damga vuran Covid-19 enfeksiyonunun hastalık aktivitesi ile ilişkili olarak vücutta fazlaca histamin üretildiği bununda mast hücreleri aracıklı inflamasyon ile alerjiye sebep olduğu tespit edilmiştir. Histamin biyolojik bir amin olarak mast hücrelerinde depolanmakata ve bu hücreler aktive olduğunda salınmaktadır (Borriello ve diğerleri, 2017). Histaminin degradasyonundan sorumlu olan dAo (Schnedl ve diğerleri, 2017) histamin intoleransı pre-diyabetik dönem ya da diabetes ile ilişkilide artmaktadır (Wang ve diğerleri, 2010). Bunun yanı sıra diyabetik hastalarda histamin seviyeleri artarken (Pini ve diğerleri, 2016) dAo seviyeleri azalmaktadır (Fogel ve diğerleri, 1990) yine bizim bu tez çalışmamıza benzer olarak Covid -19 ile enfekte insanlarda histamin artışları rapor edilmiştir (Malone ve diğerleri, 2021). Covid -19 enfeksiyonu *coronavirus* tarafından gerçekleştirildiği göz önünde bulundurulursa bizim çalışmamışda *Cryptosporidium + Coronavirus* enfekte buzağılarda en düşük dAo konsantrasyonları şaşırtıcı olmayacaktır.

SARS-CoV-2 virusunun gastrointestinal kanalda oluşturduğu hasara ilişkin muhtemel mekanizmalar a (direkt virüs kaynaklı sitopatik etki sonucu ACE II (Anjiyotensin dönüştürücü enzim) resptörleri aracılığında hücreye direk giriş b (sistemik inflamatuvar cevaba ilişkin indirekt immun aracıklıklı hasarın tetiklenmesi, c (intestinal mikrobiyotik dengenin bozulması ile beraber hem bağırsak hem de akciğerde hiperenflamasyon şekillenmesi ile beraber ; tüm bu sebeplerle bağırsak akciğer ekseninde sitokin fırtınasının oluşagelmesi ve ilaç kullanımına ilişkin hasarlar öne sürülmektedir (Ghazanfar ve diğerleri, 2022). Özellikle son sözü edilen c şıkkı dikkate alındığında bu tez kapsamına dahil edilen buzağılarda *Cryptosporidium +*

Coronavirus ile efekte buzařılarda ortalama dAo seviyelerinin en dűűűk seviyede belirlenmesi iliűkide olabilir. *Coronavirus* ile efekte buzařılarda intestinal mukozal hasar oluűumuna dair daha fazla kanıta dayalı veriye ihtiyaç duyulmak ile birlikte eldeki verilerimiz ıűıđında sűűz konuűa ko-morbitite sahip buzařılarımızda en dűűűk dAo seviyeleri ile aıűkılanılabilir.

Clostridium perfringens tip B ve D tarafından oluűtural epsilon toksinin kasaplık hayvanlarda oldukça yűksek mortaliteye sebep olduđu bilinmektedir (McClane ve diđerleri, 2006). Bir protoksin olarak bađırsak lűműűűne sekrete edilen bu toksin konokı intestinal tripsin ya da *Clostridium perfringens* metalloproteinazın tarafından etkileűime girerek tam aktive olmaktadır (Minami ve diđerleri, 1997). Bu tam aktivasyon sonrası akciđer, bűűbrek ve beyin etkilenmektedir (Uzal, 2004). *Clostridium perfringens* tip D enterotoksemisine maruz kalan koyun ve keűilerde per-akut űlűmden nűrolojik bulgular hatta tez projesine konu olduđu űzere kronik bađırsak hastalıđına (hemorojik ishal ve kolitis, koyun ve keűilerde kolonik epitelyum nekrozu morfolojik hasar ve epitelyal bariyer fonkisyon kayıpları yaűanmaktadır (McClane ve diđerleri, 2006). Yine farelerde deneysel inokulasyon sonrası ince ve kalın bađırsakların bu eterotoksini emdikleri gűsterilmiűtir. Tűűm bu mekanizmalar *coronavirus* dıűında. *Clostridium perfringens* komorbitide etkeni olarak intestinal mukozal hasar oluűturabileceđini ve ıalışmamızdaki buzařılarda dAo seviyelerindeki deđiűimi tetikleyebileceđini gűstermektedir. Nitekim ortalama dAo (ng/ml) aıűısından *Cryptosporidium* + *Clostridium perfringens* $7,99 \pm 0,55$, *E. coli* + *Clostridium perfringens* $7,38 \pm 0,72$ deđerleri bulunmuűtur. *Clostridium perfringens* ile ko-enfekte gruplarda diđer gruplarla arasında dAo seviyesi istatistiksel olarak űneme haiz bulunmamıűtır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diamin oksidaz mitoz ve mayoz için vazgeçilmez bir madde olan poliaminin parçalanması yoluyla hücre çoğalmasını düzenler (Kusche ve diğerleri, 1975; Janne ve diğerleri, 1978). Diamin oksidaz ayrıca, histamin fazlalığının alerji benzeri semptomlarını önleyerek diyet histaminini hızla detoksifiye eder (Maintz ve Novak, 2007). dAo, periferik dolaşıma salındığı ve daha sonra karaciğerde inaktive olduğu (D'Agostino ve diğerleri, 1986), ince bağırsak villuslarının ucundaki (Baylin ve diğerleri, 1978) enterositlerde özellikle bol miktarda bulunmaktadır. dAo'nun en yüksek aktivitesi ince bağırsakta gözlenirken, daha düşük aktivite kalın bağırsak ve midede bulunmaktadır (Shakir ve diğerleri, 1977; Biegański, 1983). Plazma diamin oksidaz aktivitesinin seviyesi, ince bağırsak mukozasının olgunlaşması ve bütünlüğü ile ilişkilidir. Daha önce yapılan bir çalışma, erişkin sıçanlarda artan bağırsak dAo aktivitesinin, plazma dAo aktivitesinin artmasına yol açtığını ortaya konulmuştur (Luk ve diğerleri, 1980). Tersine, plazma dAo aktivitesi, hiperosmolar sodyum sülfat solüsyonunun perfüzyonunun neden olduğu bağırsak mukozal hasarı veya düşük lifli bir diyetin uygulanmasına bağlı atrofi ile azalmıştır (Luk ve diğerleri, 1980). Özellikle ince bağırsak mukozasının değerlendirilmesi zordur. Bu nedenle, gastrointestinal toksisitenin değerlendirilmesi için hassas bir serum biyobelirteğine ihtiyaç vardır. Ayrıca histolojik incelemeler, serum dAo aktivitesindeki düşüşün, villus yüksekliği ve villus yüzey alanındaki azalmalarla anlamlı şekilde ilişkili olduğunu ortaya koydu. Bu, insanlarda antikanser ilaçların uygulanmasına bağlı olarak ince bağırsağın villus hasarı sonucu serum dAo aktivitesinin azaldığını gösteren ilk rapordur. dAo aktivitesindeki azalma yüzdesi (1-14. gün) ile villusun uzunluk ve yüzey alanındaki azalma yüzdesi (1-14. gün) arasında önemli korelasyonların olması, serum dAo aktivitesinin kemoterapi sırasındaki mukozal hasarı hassas bir şekilde yansıttığını gösterir (Miyoshi ve diğerleri, 2015).

Önemli olarak, ishal gelişen tüm hastalarda ishal başlamadan önce (8. gün) serum dAo aktivitesi düşmüştür. İshal pozitif gruptaki dAo aktivitesindeki azalma, ishal negatif gruptakinden önemli ölçüde daha yüksekti. Ayrıca, dAo aktivitesi ishalin ciddiyeti ile bağlantılı olarak azalmıştır ve dAo aktivitesinde %9,7'den fazla bir azalma ishalin meydana geldiğini düşündürmüştür (Miyoshi ve diğerleri, 2015).

İntestinal mukozal hasarın önemli bir biyobelirteci olan dAo bu tez çalışmasında neonatal ishalli buzağılarda belirlenmiş olup ileride oluşturulacak sağaltım protollerinde değişime neden olacaktır.

Zonulin, hücreler arası bağlantıların bağırsak bütünlüğünü modüle etme yeteneğine sahiptir. Zonulin seviyeleri, çeşitli uyarılara, yani enfeksiyon/glüten alımına yanıt olarak artabilir. İkincisi meydana gelse bile, zonulin bağırsak mukozasının geçirgenliğini yükseltmek için vücuda sinyal göndererek daha büyük moleküllerin geçmesine izin verir.

Zonulin salınımını tetikleyebilen çeşitli potansiyel bağırsak uyarıları arasında, ince bağırsağın bakteri ve glütene maruz kalması, şimdiye kadar tanımlanan iki tetikleyicidir (Aapro ve diğerleri, 2014). Enterik enfeksiyonlar, bağırsak bariyerinin bozulmasına neden olarak alerjik, otoimmün ve enflamatuvar hastalıklar dahil olmak üzere birçok patolojik durumun patogeneğinde rol oynamaktadır. Enterik bakterilere maruz kalan ince bağırsakların zonulin salgıladığına dair kanıtlar ürettik (Aapro ve diğerleri, 2014). Bu salgı, test edilen mikroorganizmaların virülansından bağımsızdı, yalnızca ince bağırsak mukozasına maruz kalan bakterinin lümen kısmında meydana geldi ve bunu protein zonula okludens (ZO)-1'in bağırsaktan ayrılmasıyla çakışan bağırsak geçirgenliğinde bir artış görülmektedir (Aapro ve diğerleri, 2014).

Paraselüler yolun bu zonulin tarafından yönlendirilen açılması, mikroorganizmaları dışarı atarak, konağın ince bağırsağın bakteriyel kolonizasyonuna karşı doğuştan gelen bağışıklık tepkisine katkıda bulunan bir savunma mekanizmasını temsil etmektedir (Aapro ve diğerleri, 2014). Bu tez çalışmasında neonatal ishalli buzağılarda farklı etmenlere bağlı olarak intestinal permabilite değişim ve geçirgen bağırsak tablosu önemli şekilde ve derinine irdelenmiş olup sonuçların geçirgen bağırsağa ait viral bakteriyel ve protozoel değişimlerle ilişkili güncel sağaltım protokellerine yön vereceği aşikardır.

KAYNAKLAR

- Aapro, M., Arends, J., Bozzetti, F., Fearon, K., Grunberg, S. M., Herrstedt, J., Strasser, F. (2014). Early recognition of malnutrition and cachexia in the cancer patient: a position paper of a European School of Oncology Task Force. *Annals of Oncology*, 25(8), 1492-1499.
- Abdul, F. K., Gallicano, G. I., Mishra, L. (2010). Colon cancer stem cells. *Gastrointestinal Cancer Research: GCR*, (Suppl 1), S16-23.
- Abe, F., Ishibashi, N., Shimamura, S. (1995). Effect of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *Journal of Dairy Science*, 78(12), 2838-2846.
- Abuajamieh, M., Kvidera, S. K., Fernandez, M. V. S., Nayeri, A., Upah, N. C., Nolan, E. ABAumgard, L. H. (2016). Inflammatory biomarkers are associated with ketosis in periparturient Holstein cows. *Research in veterinary science*, 109, 81-85.doi: 10 .1016/ j .rvsc .2016 .09 .015.
- Acheson, D., Allos, B. M. (2001). Campylobacter jejuni infections: update on emerging issues and trends. *Clinical Infectious Diseases*, 32(8), 1201-1206. doi: 10.1086/319760
- Acres, S. D. (1985). Enterotoxigenic Escherichia coli infections in newborn calves: a review. *Journal of Dairy Science*, 68(1), 229-256.
- Akyüz, E., Naseri, A., Erkıılıç, E. E., Makav, M., Uzlu E., Kırmızıgül, A. H., Gökce, G. (2017). Neonatal Buzağı İshalleri ve Sepsis. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2), 181-191.
- Al, M., Balıkçı, E. (2012). Neonatal ishalli buzağılarda rotavirus, coronavirus, E. coli K99 ve Cryptosporidium parvum'un hızlı test kitleri ile teşhisi ve enteropatojen ile maternal immünite ilişkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 26(2), 73-78.
- Aldridge, B., Garry, F., Adams, R. (1992). Role of colostral transfer in neonatal calf management: failure of acquisition of passive immunity. *The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian (USA)*.

- Alharthi, A. S., Lopreiato, V., Dai, H., Bucktrout, R., Abdelmegeid, M., Batistel, F., Loor, J. J. (2019). Supply of methionine during late pregnancy enhances whole-blood innate immune response of Holstein calves partly through changes in mRNA abundance in polymorphonuclear leukocytes. *Journal of dairy science*, 102(11), 10599-10605.
- Aliç, D., Erdoğan, S., Erdoğan, H., Ural, K. (2021). Heat stress, intestinal barrier disruption and calves: multidisciplinary perspective field study. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 6(3), 265-269
- Alican, I., Kubes, P. (1996). A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 270(2), G225-G237.doi: 10.1152/ajpgi.1996.270.2.G225
- Amadesi, S., Bunnett, N. (2004). Protease-activated receptors: protease signaling in the gastrointestinal tract. *Current Opinion in Pharmacology*, 4(6), 551-556.
- Amin, N., Seifert, J. (2021). Dynamic progression of the calf's microbiome and its influence on host health. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 989-1001.
- Anderson, A. D. G., Poon, P., Greenway, G. M., MacFie, J. (2005). A simple method for the analysis of urinary sucralose for use in tests of intestinal permeability. *Annals of Clinical Biochemistry*, 42(3), 224-226.doi: 10.1258/0004563053857923
- Anderson, B. W., Levine, A. S., Levitt, D. G., Kneip, J. M., Levitt, M. D. (1988). Physiological measurement of luminal stirring in perfused rat jejunum. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 254(6), G843-G848.
- Anderson, J. M., Van Itallie, C. M. (2009). Physiology and function of the tight junction. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(2), a002584.
- Andrade, M. E. R., Araújo, R. S., de Barros, P. A. V., Soares, A. D. N., Abrantes, F. A., de Vasconcelos Generoso, S., ... Cardoso, V. N. (2015). The role of immunomodulators on intestinal barrier homeostasis in experimental models. *Clinical nutrition*, 34(6), 1080-1087.
- Andre, F., Andre, C., Feknous, M., Colin, L., Cavagna, S. (1991, September). Digestive permeability to different-sized molecules and to sodium cromoglycate in food allergy. In *Allergy and Asthma Proceedings* (Vol. 12, No. 5, p. 293). OceanSide Publications.

- Angeli, D., Ferrell, J. E., Sontag, E. D. (2004). Detection of multistability, bifurcations, and hysteresis in a large class of biological positive-feedback systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(7), 1822-1827.
- Antalis, T. M., Shea-Donohue, T., Vogel, S. N., Sears, C., Fasano, A. (2007). Mechanisms of disease: protease functions in intestinal mucosal pathobiology. *Nature Clinical Practice Gastroenterology Hepatology*, 4(7), 393-402.
- Argenzio, R. A. (1985). Pathophysiology of neonatal calf diarrhea. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 1(3), 461-469. doi:10.1016/S0749-0720(15)31296-2
- Argenzio, R. A., Liacos, J. A., Levy, M. L., Meuten, D. J., Lecce, J. G., Powell, D. W. (1990). Villous atrophy, crypt hyperplasia, cellular infiltration, and impaired glucose-Na absorption in enteric cryptosporidiosis of pigs. *Gastroenterology*, 98(5), 1129-1140.
- Avila, J. (1992). Microtubule functions. *Life Sciences*, 50(5), 327-334.
- Balatbat, A. B., Jordan, G. W., Tang, Y. J., Silva, J. R. (1996). Detection of *Cryptosporidium parvum* DNA in human feces by nested PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(7), 1769-1772. doi: 10.1128/JCM.34.7.1769-1772.1996
- Ball, J. M., Mitchell, D. M., Gibbons, T. F., Parr, R. D. (2005). Rotavirus NSP4: a multifunctional viral enterotoxin. *Viral Immunology*, 18(1), 27-40. doi: 10.1089/vim.2005.18.27
- Ballweber, L. R. (2006). Diagnostic methods for parasitic infections in livestock. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 22(3), 695-705. doi: 10.1016/j.cvfa.2006.06.001
- Banan, A., Choudhary, S., Zhang, Y., Fields, J. Z., Keshavarzian, A. (2000). Oxidant-induced intestinal barrier disruption and its prevention by growth factors in a human colonic cell line: role of the microtubule cytoskeleton. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(5), 727-738. doi: 10.1016/S0891-5849(00)00160-X
- Banan, A., Choudhary, S., Zhang, Y., Fields, J. Z., Keshavarzian, A. (1999). Ethanol-induced barrier dysfunction and its prevention by growth factors in human intestinal monolayers: evidence for oxidative and cytoskeletal mechanisms. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291(3), 1075-1085.
- Banan, A., Smith, G. S., Rieckenberg, C. L., Kokoska, E. R., Miller, T. A. (1998). Protection against ethanol injury by prostaglandin in a human intestinal cell line: role of

microtubules. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 274(1), G111-G121. doi: 10.1152/ajpgi.1998.274.1.G111

Banan, A., Zhang, Y., Losurdo, J., Keshavarzian, A. (2000). Carbonylation and disassembly of the F-actin cytoskeleton in oxidant induced barrier dysfunction and its prevention by epidermal growth factor and transforming growth factor α in a human colonic cell line. *Gut*, 46(6), 830-837.

Barclay, G. R., Turnberg, L. A. (1988). Effect of moderate exercise on salt and water transport in the human jejunum. *Gut*, 29(6), 816-820.

Barker, I.K., van Dreumel, A.A., Palmer, N. (1993). The alimentary system. In: K.V.F. Jubb, P.C. Kennedy, N. Palmer N. (Eds.), *Pathology of Domestic Animals* (pp. 1-300). doi: 10.1016/B978-0-12-391602-0.50007-4

Barnett, S. C., Sisco, W. M., Moore, D. A., Reynolds, J. P. (2003). Evaluation of flunixin meglumine as an adjunct treatment for diarrhea in dairy calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223(9), 1329-1333. doi: 10.2460/javma.2003.223.1329

Barrington, G. M., Parish, S. M. (2001). Bovine neonatal immunology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 17(3), 463-476. doi: 10.1016/s0749-0720(15)30001-3

Bartels, C. J., Holzhauer, M., Jorritsma, R., Swart, W. A., Lam, T. J. (2010). Prevalence, prediction and risk factors of enteropathogens in normal and non-normal faeces of young Dutch dairy calves. *Preventive Veterinary Medicine*, 93(2-3), 162-169. doi: 10.1016/j.prevetmed.2009.09.020

Başoğlu, A., Aydoğdu, U. (2013). Terminal atrial standstill with ventricular escape rhythm in a neonatal calf with acute diarrhea. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37(3), 362-365.

Başoğlu, A., Sevinç, M., Maden, M. (1996). Idioventricular rhythm in a calf suffering from diarrhea. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 20(5), 375-377.

Baumgard, L. H., Rhoads Jr, R. P. (2013). Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Annual Review of Animal Biosciences*, 1(1), 311-337.

Baylin, S. B., Stevens, S. A., Shakir, K. M. (1978). Association of diamine oxidase and ornithine decarboxylase with maturing cells in rapidly proliferating epithelium. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 541(3), 415-419.

- Bennett, J. W. (2003). KlichM. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 497-516.
- Berczi, I., Bertok, L., Bereznai, T. (1966). Comparative studies on the toxicity of *Escherichia coli* lipopolysaccharide endotoxin in various animal species. *Canadian journal of Microbiology*, 12(5), 1070-1071.
- Berg, R. D. (1995). Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends in Microbiology*, 3(4), 149-154.
- Berin, M. C., Kiliaan, A. J., Yang, P. C., Groot, J. A., Kitamura, Y., Perdue, M. H. (1998). The influence of mast cells on pathways of transepithelial antigen transport in rat intestine. *The Journal of Immunology*, 161(5), 2561-2566.
- Berkes, J., Viswanathan, V. K., Savkovic, S. D., Hecht, G. (2003). Intestinal epithelial responses to enteric pathogens: effects on the tight junction barrier, ion transport, and inflammation. *Gut*, 52(3), 439-451.
- Besser, T. E., Gay, C. C. (1994). The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 10(1), 107-117.
- Beutheu, S., Ghouzali, I., Galas, L., Déchelotte, P., Coëffier, M. (2013). Glutamine and arginine improve permeability and tight junction protein expression in methotrexate-treated Caco-2 cells. *Clinical Nutrition*, 32(5), 863-869. doi: 10.1016/j.clnu.2013.01.014
- Biegański, T. (1983). Biochemical, physiological and pathophysiological aspects of intestinal diamine oxidase. *Acta Physiologica Polonica*, 34(1), 139-154.
- Biegański, T. (1983). Biochemical, physiological and pathophysiological aspects of intestinal diamine oxidase. *Acta Physiologica Polonica*, 34(1), 139-154.
- Bischoff, S. C., Barbara, G., Buurman, W., Ockhuizen, T., Schulzke, J. D., Serino, M., Wells, J. M. (2014). Intestinal permeability—a new target for disease prevention and therapy. *BMC gastroenterology*, 14(1), 1-25.
- Bolin, S. R., Mc Clurkin, A. W., Cutlip, R. C., Coria, M. F. (1985). Severe clinical disease induced in cattle persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus by superinfection with cytopathic bovine viral diarrhea virus. *American Journal of Veterinary Research*, 46(3), 573-576.

- Booth, A. J., Naylor, J. M. (1987). Correction of metabolic acidosis in diarrheal calves by oral administration of electrolyte solutions with or without bicarbonate. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 191(1), 62-68.
- Borriello, F., Iannone, R., Marone, G. (2017). Histamine release from mast cells and basophils. *Histamine and histamine receptors in health and disease*, 121-139.
- Boshi, Y., Nezu, R., Cui, L., Chen, K., Khan, J., Yoshida, H., Okada, A. (1996). Adhesive mucous gel layer and mucus release as intestinal barrier in rats. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 20(2), 98-104. doi: 10.1177/014860719602000298
- Bounous, G., Echavé, V., Vobecky, S. J., Navert, H., Wollin, A. (1984). Acute necrosis of the intestinal mucosa with high serum levels of diamine oxidase. *Digestive diseases and sciences*, 29(9), 872-874.
- Bounous, G., Echavé, V., Vobecky, S. J., Navert, H., Wollin, A. (1984). Acute necrosis of the intestinal mucosa with high serum levels of diamine oxidase. *Digestive diseases and sciences*, 29, 872-874.
- Bragg, L. E., Thompson, J. S., West, W. W. (1991). Intestinal diamine oxidase levels reflect ischemic injury. *Journal of Surgical Research*, 50(3), 228-233.
- Brandt, C. D., Kim, H. W., Rodriguez, W. J., Thomas, L., Yolken, R. H., Arrobio, J. O., Chanock, R. M. (1981). Comparison of direct electron microscopy, immune electron microscopy, and rotavirus enzyme-linked immunosorbent assay for detection of gastroenteritis viruses in children. *Journal of Clinical Microbiology*, 13(5), 976-981. doi: 10.1128/JCM.13.5.976-981.1981
- Bruewer, M., Luegering, A., Kucharzik, T., Parkos, C. A., Madara, J. L., Hopkins, A. M., Nusrat, A. (2003). Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanisms. *The Journal of Immunology*, 171(11), 6164-6172. doi: 10.4049/jimmunol.171.11.6164
- Buhner, S., Buning, C., Genschel, J., Kling, K., Herrmann, D., Dignass, A., ... Lochs, H. (2006). Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut*, 55(3), 342-347.
- Busato, A., Hofer, D., Lentze, T., Gaillard, C., Burnens, A. (1999). Prevalence and infection risks of zoonotic enteropathogenic bacteria in Swiss cow-calf farms. *Veterinary Microbiology*, 69(4), 251-263. doi: 10.1016/s0378-1135(99)00119-4

- Bush, L. J., Staley, T. E. (1980). Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. *Journal of Dairy Science*, 63(4), 672-680.
- Bywater, R. J. (1983). Diarrhoea treatments-fluid replacement and alternatives. In *Annales De Recherches Veterinaires* (Vol. 14, No. 4, pp. 556-560).
- Cangiano, L. R., Villot, C., Renaud, J., Ipharraguerre, I. R., McNeil, B., DeVries, T. J., Steele, M. A. (2022). Induction of leaky gut by repeated intramuscular injections of indomethacin to preweaning Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 105(8), 7125-7139.
- Cangiano, L. R., Yohe, T. T., Steele, M. A., Renaud, D. L. (2020). Invited Review: Strategic use of microbial-based probiotics and prebiotics in dairy calf rearing. *Applied Animal Science*, 36(5), 630-651.
- Carden, D. L. (2000). Granger DN. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury. *The Journal of Pathology*, 190, 255-266.
- Carroll, J. A., Forsberg, N. E. (2007). Influence of stress and nutrition on cattle immunity. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(1), 105-149. doi: 10.1016/j.cvfa.2007.01.003
- Carpes, L. S., Nicoletto, B. B., Canani, L. H., Rheinheimer, J., Crispim, D., & Souza, G. C. (2021). Could serum zonulin be an intestinal permeability marker in diabetes kidney disease?. *PloS one*, 16(6), e0253501.
- Casemore, D. P. (1990). Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiology Infection*, 104(1), 1-28.
- Catassi, C., Fabiani, E., Rätsch, I. M., Bonucci, A., Dotti, M., Coppa, G. V., Giorgi, P. L. (1997). Is the sugar intestinal permeability test a reliable investigation for coeliac disease screening? *Gut*, 40(2), 215-217. doi: 0.1136/gut.40.2.215
- Cenac, N., Chin, A. C., Garcia-Villar, R., Salvador-Cartier, C., Ferrier, L., Vergnolle, N., Bueno, L. (2004). PAR2 activation alters colonic paracellular permeability in mice via IFN- γ -dependent and-independent pathways. *The Journal of Physiology*, 558(3), 913-925. doi: 10.1113/jphysiol.2004.061721
- Ceponis, P. J., Botelho, F., Richards, C. D., McKay, D. M. (2000). Interleukins 4 and 13 increase intestinal epithelial permeability by a phosphatidylinositol 3-kinase pathway: lack of evidence for STAT 6 involvement. *Journal of Biological Chemistry*, 275

- Cheng, H., Leblond, C. P. (1974). Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine V. Unitarian theory of the origin of the four epithelial cell types. *American Journal of Anatomy*, 141(4), 537-561. doi: 10.1002/aja.1001410407
- Cho, K. O., Hasoksuz, M., Nielsen, P. R., Chang, K. O., Lathrop, S., Saif, L. J. (2001). Cross-protection studies between respiratory and calf diarrhea and winter dysentery coronavirus strains in calves and RT-PCR and nested PCR for their detection. *Archives of Virology*, 146(12), 2401-2419. doi: 10.1007/s007050170011
- Cho, Y. I., Han, J. I., Wang, C., Cooper, V., Schwartz, K., Engelken, T., Yoon, K. J. (2013). Case-control study of microbiological etiology associated with calf diarrhea. *Veterinary Microbiology*, 166(3-4), 375-385. doi: 0.1016/j.vetmic.2013.07.001
- Cho, Y. I., Kim, W. I., Liu, S., Kinyon, J. M., Yoon, K. J. (2010). Development of a panel of multiplex real-time polymerase chain reaction assays for simultaneous detection of major agents causing calf diarrhea in feces. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22(4), 509-517. doi: 10.1177/104063871002200403
- Cho, Y. I., Kim, W. I., Liu, S., Kinyon, J. M., Yoon, K. J. (2010). Development of a panel of multiplex real-time polymerase chain reaction assays for simultaneous detection of major agents causing calf diarrhea in feces. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*
- Cho, Y. I., Yoon, K. J. (2014). An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, 15(1), 1. doi: 10.4142/jvs.2014.15.1.1
- Chow, J., Tang, H., Mazmanian, S. K. (2011). Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease. *Current Opinion in Immunology*, 23(4), 473-480.
- Clarke, I. N., Lambden, P. R. (2000). Organization and expression of calicivirus genes. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(Supplement_2), S309-S316. doi: 10.1086/315575
- Clayburgh, D. R., Shen, L., Turner, J. R. (2004). A porous defense: the leaky epithelial barrier in intestinal disease. *Laboratory investigation*, 84(3), 282-291.
- Collard, C. D., Gelman, S. (2001). Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 94(6), 1133-1138. doi: 10.1097/00000542-200106000-00030

- Collazo, C. M., Galán, J. E. (1997). The invasion-associated type III system of *Salmonella typhimurium* directs the translocation of Sip proteins into the host cell. *Molecular Microbiology*, 24(4), 747-756 doi: 10.1046/j.1365-2958.1997.3781740.x
- Constable PD, (2003). Fluids and electrolyte therapy in ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 19, 1-40.
- Constable, P. D. (1999). Clinical assessment of acid-base status: strong ion difference theory. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 15(3), 447-471.
- Constable, P. D. (2000). Clinical assessment of acid-base status: comparison of the Henderson-Hasselbalch and strong ion approaches. *Veterinary Clinical Pathology*, 29(4), 115-128.
- Constable, P. D. (2004). Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18(1), 8-17 doi: 10.1892/0891-6640(2004)18<8:auitto>2.0.co;2
- Constable, P. D., Grünberg, W. (2013). Hyperkalemia in diarrheic calves: Implications for diagnosis and treatment. *Veterinary Journal*, 195(3), 271-272.
- Constable, P. D., Walker, P. G., Morin, D. E., Foreman, J. H. (1998). Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212(7), 991-996.
- Cortese, V. S. (2009). Neonatal immunology. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1), 221-227.
- Costa, M. C., Silva, G., Ramos, R. V., Staempfli, H. R., Arroyo, L. G., Kim, P., Weese, J. S. (2015). Characterization and comparison of the bacterial microbiota in different gastrointestinal tract compartments in horses. *The Veterinary Journal*, 205(1), 74-80. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.03.018
- Coverdale, J. A. (2016). horse species symposium: Can the microbiome of the horse be altered to improve digestion? *Journal of Animal Science*, 94(6), 2275-2281. doi: 10.2527/jas.2015-0056
- Cummings, K. J., Divers, T. J., McDonough, P. L., Warnick, L. D. (2009). Fecal shedding of *Salmonella* spp among cattle admitted to a veterinary medical teaching hospital. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234(12), 1578-1585. doi: 10.2460/javma.234.12.1578

- Çakmaz, R., Buyukasik, O., Kahramansoy, N., Erkol, H., Col, C., Boran, Ç., Bugdayci, G. (2013). A combination of plasma dAo and citrulline levels as a potential marker for acute mesenteric ischemia. *Libyan Journal of Medicine*, 8(1).
- D'Agostino, L., Ciacci, C., Capuano, G., Daniele, B., D'Argenio, G., Barone, M. V., Mazzacca, G. (1986). Metabolic fate of plasma diamine oxidase: evidence of isolated and perfused rat liver uptake. *Digestion*, 34(4), 243-250.
- D'Inca, R., Di Leo, V., Corrao, G., Martines, D., D'Odorico, A., Mestriner, C., ... Sturniolo, G. C. (1999). Intestinal permeability test as a predictor of clinical course in Crohn's disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 94(10), 2956-2960.
- De Fombelle, A., Julliand, V., Drogoul, C., Jacotot, E. (2001). Feeding and microbial disorders in horses: 1-Effects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profile and activities. *Journal of Equine Veterinary Science*, 21(9), 439-445.
- De la Fuente, R., Luzon, M., Ruiz-Santa-Quiteria, J. A., Garcia, A., Cid, D., Orden, J. A., Gomez-Bautista, M. (1999). Cryptosporidium and concurrent infections with other major enteropathogens in 1 to 30-day-old diarrheic dairy calves in central Spain. *Veterinary Parasitology*, 80(3), 179-185.
- De Oliveira, E. P., Burini, R. C., Jeukendrup, A. (2014). Gastrointestinal complaints during exercise: prevalence, etiology, and nutritional recommendations. *Sports Medicine*, 44(1), 79-85.
- Decaro, N., Martella, V., Elia, G., Campolo, M., Mari, V., Desario, C., ... Buonavoglia, C. (2008). Biological and genetic analysis of a bovine-like coronavirus isolated from water buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. *Virology*, 370(1), 213-222. doi: 10.1016/j.virol.2007.08.031
- Delahunty, T., Hollander, D. (1986). Liquid-chromatographic method for estimating urinary sugars: applicability to studies of intestinal permeability. *Clinical Chemistry*, 32(8), 1542-1544. doi:10.1093/clinchem/32.8.1542
- Desselberger U, J G, Estes MK. (2005) Rotaviruses. In: Mahy BWJ, ter Meulen V (eds). *Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 10th ed. (pp. 946-958), Washington, ASM press.

- Dhama, K., Chauhan, R. S., Mahendran, M., Malik, S. V. S. (2009). Rotavirus diarrhea in bovines and other domestic animals. *Veterinary Research Communications*, 33(1), 1-23. doi: 10.1007/s11259-008-9070-x
- Di Leo, V., D'inca, R., Barollo, M., Tropea, A., Fries, W., Mazzon, E., ... Sturniolo, G. C. (2001). Effect of zinc supplementation on trace elements and intestinal metallothionein concentrations in experimental colitis in the rat. *Digestive and Liver Disease*, 33(2), 135-139.
- Di Leo, V., D'incà, R., Diaz-Granado, N., Fries, W., Venturi, C., D'odorico, A., ... Sturniolo, G. C. (2003). Lactulose/mannitol test has high efficacy for excluding organic causes of chronic diarrhea. *The American Journal of Gastroenterology*, 98(10), 2245-2252. doi: 10.1016/S0002-9270(03)00703-2
- Diker, K. S., Diker, S., Özlem, M. B. (1990). Bovine diarrhea associated with *Campylobacter hyointestinalis*. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 37(1-10), 158-162. doi: 10.1111/j.1439-0450.1990.tb01040.x
- Donowitz, M., Asarkof, N. (1982). Calcium dependence of basal electrolyte transport in rabbit ileum. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 243(1), G28-G35. doi:10.1152/ajpgi.1982.243.1.G28
- Duckmanton, L., Carman, S., Nagy, É., Petric, M. (1998). Detection of bovine torovirus in fecal specimens of calves with diarrhea from Ontario farms. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(5), 1266-1270. doi: 10.1128/JCM.36.5.1266-1270.1998
- Duerksen, D. R., Wilhelm-Boyles, C., Parry, D. M. (2005). Intestinal permeability in long-term follow-up of patients with celiac disease on a gluten-free diet. *Digestive Diseases and Sciences*, 50(4), 785.
- Dunlop, S. P., Hebden, J., Campbell, E., Naesdal, J., Olbe, L., Perkins, A. C., Spiller, R. C. (2006). Abnormal intestinal permeability in subgroups of diarrhea-predominant irritable bowel syndromes. *Official Journal of the American College of Gastroenterology| ACG*, 101(6), 1288-1294.
- Dupont, C., Barau, E., Molkhou, P., Raynaud, F., Barbet, J. P., Dehennin, L. (1989). Food-induced alterations of intestinal permeability in children with cow's milk-sensitive enteropathy and atopic dermatitis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 8(4), 459-465.

- Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., ... Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308(5728), 1635-1638.doi: 10.1126/science.1110591
- Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J. P., Druart, C., Bindels, L. B., Cani, P. D. (2013). Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proceedings of the national academy of sciences*
- Einarsson, E., Ma'ayeh, S., Svard, S. G. (2016). An up-date on *Giardia* and giardiasis. *Current Opinion in Microbiology*, 34, 47-52.
- El Asmar, R., Paningrahi, P., Bamford, P., Berti, I., Not, T., Catassi, C., ... Fasano, A. (2000). Zonulin is involved in the impairment of the gut barrier function following small intestinal bacterial colonization. *Gastroenterology*, 4(118), A815.
- Emmanuel, D. G. V., Madsen, K. L., Churchill, T. A., Dunn, S. M., Ametaj, B. N. (2007). Acidosis and lipopolysaccharide from *Escherichia coli* B: 055 cause hyperpermeability of rumen and colon tissues. *Journal of Dairy Science*, 90(12), 5552-5557.doi: 10.3168/jds.2007-0257.
- Espy, M. J., Uhl, J. R., Sloan, L. M., Buckwalter, S. P., Jones, M. F., Vetter, E. A., Smith, T. F. (2006). Real-time PCR in clinical microbiology: applications for routine laboratory testing. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 165-256. doi: 10.1128/CMR.19.1.165-256.2006
- Fagerland, J. A., Pohlenz, J. F., Woode, G. N. (1986). A morphological study of the replication of Breda virus (proposed family Toroviridae) in bovine intestinal cells. *Journal of General Virology*, 67(7), 1293-1304. doi: 10.1099/0022-1317-67-7-1293
- Farhadi, A., Banan, A. L. I., Fields, J., Keshavarzian, A. L. I. (2003). Intestinal barrier: an interface between health and disease. *Journal of gastroenterology and Hepatology*, 18(5), 479-497.doi: 10.1046/j.1440-1746.2003.03032.x
- Farhadi, A., Keshavarzian, A., Holmes, E. W., Fields, J., Zhang, L., Banan, A. (2003). Gas chromatographic method for detection of urinary sucralose: application to the assessment of intestinal permeability. *Journal of Chromatography B*, 784(1), 145-154.doi: 10.1016/S1570-0232(02)00787-0

- Farmer, J., Davis, B. R. (1985). H7 antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157: H7 associated with hemorrhagic colitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(4), 620-625.
- Fasano, A. (2011). Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiological reviews*.
- Fasano, A. (2012). Leaky gut and autoimmune diseases. *Clinical Reviews in Allergy Immunology*, 42(1), 71-78.
- Fasano, A. (2012). Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 10(10), 1096-1100.
- Fasano, A., Baudry, B., Pumphlin, D. W., Wasserman, S. S., Tall, B. D., Ketley, J. M., Kaper, J. B. (1991). *Vibrio cholerae* produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(12), 5242-5246. doi: 10.1073/pnas.88.12.5242
- Fasano, A., Fiorentini, C., Donelli, G., Uzzau, S., Kaper, J. B., Margaretten, K., ... Goldblum, S. E. (1995). Zonula occludens toxin modulates tight junctions through protein kinase C-dependent actin reorganization, in vitro. *The Journal of Clinical Investigation*, 96(2), 710-720. doi: 10.1172/JCI118114
- Fasano, A., Not, T., Wang, W., Uzzau, S., Berti, I., Tommasini, A., Goldblum, S. E. (2000). Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *The Lancet*, 355(9214), 1518-1519.
- Fasano, A., Not, T., Wang, W., Uzzau, S., Berti, I., Tommasini, A., Goldblum, S. E. (2000). Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *The Lancet*, 355(9214), 1518-1519. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02169-3
- Fava, F., Danese, S. (2011). Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe? *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 17(5), 557. doi: 10.3748/wjg.v17.i5.557
- Fecteau, G., Van Metre, D. C., Pare, J., Smith, B. P., Higgins, R., Holmberg, C. A., ... Guterbock, W. (1997). Bacteriological culture of blood from critically ill neonatal calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 38(2), 95.
- Fernandes, K. A., Kittelmann, S., Rogers, C. W., Gee, E. K., Bolwell, C. F., Bermingham, E. N., Thomas, D. G. (2014). Faecal microbiota of forage-fed horses in New Zealand and

- the population dynamics of microbial communities following dietary change. *PloS One*, 9(11), e112846.doi: 10.1371/journal.pone.0112846
- Ferrarezi, M. C., Cardoso, T. C., Dutra, I. S. (2008). Genotyping of *Clostridium perfringens* isolated from calves with neonatal diarrhea. *Anaerobe*, 14(6), 328-331. doi: <http://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2008.12.001>
- Ferreira, T. M., Leonel, A. J., Melo, M. A., Santos, R. R., Cara, D. C., Cardoso, V. N., ... Alvarez-Leite, J. I. (2012). Oral supplementation of butyrate reduces mucositis and intestinal permeability associated with 5-fluorouracil administration. *Lipids*, 47(7), 669-678.doi: 10.1007/s11745-012-3680-3
- Fischer, A. J., Song, Y., He, Z., Haines, D. M., Guan, L. L., Steele, M. A. (2018). Effect of delaying colostrum feeding on passive transfer and intestinal bacterial colonization in neonatal male Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 3099-3109.doi: 10.3168/jds.2017-13397
- Fisher EW, 1967. Death in neonatal calf diarrhea. *British Veterinary Journal* 121, 132-138.
- Fleming, S. C., Kynaston, J. A., Laker, M. F., Pearson, A. D. J., Kapembwa, M. S., Griffin, G. E. (1993). Analysis of multiple sugar probes in urine and plasma by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed electrochemical detection: Application in the assessment of intestinal permeability in human immunodeficiency virus infection. *Journal of Chromatography A*, 640(1-2), 293-297doi: 10.1016/0021-9673(93)80193-
- Flores, E. F., Ridpath, J. F., Weiblen, R., Vogel, F. S., Gil, L. H. (2002). Phylogenetic analysis of Brazilian bovine viral diarrhea virus type 2 (BVDV-2) isolates: evidence for a subgenotype within BVDV-2. *Virus research*, 87(1), 51-60. doi: 10.1016/s0168-1702(02)00080-1
- Fogel, W. A., Chmielecki, C., Gralek, M., Maslinski, C. (1990). Histamine metabolism in diabetic rats. *Agents and Actions*, 30, 243-246.
- Ford, R. P., Menzies, I. S., Phillips, A. D., Walker-Smith, J. A., Turner, M. W. (1985). Intestinal sugar permeability: relationship to diarrhoeal disease and small bowel morphology. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 4(4), 568-574.
- Fossler, C. P., Wells, S. J., Kaneene, J. B., Ruegg, P. L., Warnick, L. D., Bender, J. B., ... Halbert, L. W. (2005). Herd-level factors associated with isolation of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms: I. *Salmonella* shedding in

cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 70(3-4), 257-277. doi: 10.1016/j.prevetmed.2005.04.002

- Foster, D. M., Smith, G. W. (2009). Pathophysiology of diarrhea in calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1), 13-36. doi: 10.1016/j.cvfa.2008.10.013
- Francis, D. H., Allen, S. D., White, R. D. (1989). Influence of bovine intestinal fluid on the expression of K99 pili by *Escherichia coli*. *American Journal of Veterinary Research*, 50(6), 822-826.
- Frydendahl, K. (2002). Prevalence of serogroups and virulence genes in *Escherichia coli* associated with postweaning diarrhoea and edema disease in pigs and a comparison of diagnostic approaches. *Veterinary Microbiology*, 85(2), 169-182. doi: 10.1016/s0378-1135(01)00504-1
- Fujisaki, J., Fujimoto, K., Oohara, A., Sakata, T., Hirano, M., Ohyama, T., ... Yamaguchi, M. (1993). Roles of histamine and diamine oxidase in mucosa of rat small intestine after ischemia-reperfusion. *Digestive diseases and sciences*, 38(7), 1195-1200.
- Fukuda, T., Otsuka, M., Nishi, K., Nishi, Y., Tsukano, K., Noda, J., Suzuki, K. (2019). Evaluation of probiotic therapy for calf diarrhea with serum diamine oxidase activity as an indicator. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 67(4), 305-311.
- Fukuda, T., Tsukano, K., Nakatsuji, H., Suzuki, K. (2019). Plasma diamine oxidase activity decline with diarrhea severity in calves indicating systemic dysfunction related to intestinal mucosal damage. *Research in veterinary science*, 126, 127-130. doi: 10.1016/j.rvsc.2019.08.027
- Garcia-Lafuente, A., Antolin, M., Guarner, F., Crespo, E., Malagelada, J. R. (2001). Modulation of colonic barrier function by the composition of the commensal flora in the rat. *Gut*, 48(4), 503-507.
- Garcia-Lafuente, A., Antolin, M., Guarner, F., Crespo, E., Salas, A., Forcada, P., Malagelada, J. (1998). Derangement of mucosal barrier function by bacteria colonizing the rat colonic mucosa. *European journal of Clinical Investigation*, 28(12), 1019-1026. doi: 10.1046 / j.1365-2362.1998.00405.x
- German, A. J., Hall, E. J., Day, M. J. (2003). Chronic intestinal inflammation and intestinal disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(1), 8-20. doi: 10.1111/j.1939-1676.2003.tb01318.x

- Ghazanfar, H., Kandhi, S., Shin, D., Muthumanickam, A., Gurjar, H., Qureshi, Z. A., Muthumanickam, A. M. A. (2022). Impact of COVID-19 on the gastrointestinal tract: a clinical review. *Cureus*, 14(3).
- Ghosh, S., Varghese, V., Sinha, M., Kobayashi, N., Naik, T. N. (2007). Evidence for interstate transmission and increase in prevalence of bovine group B rotavirus strains with a novel VP7 genotype among diarrhoeic calves in Eastern and Northern states of India. *Epidemiology Infection*, 135(8), 1324-1330. doi: 10.1017/S0950268806007813
- Giangaspero, M., Apicella, C., Harasawa, R. (2013). Numerical taxonomy of the genus Pestivirus: New software for genotyping based on the palindromic nucleotide substitutions method. *Journal of Virological Methods*, 192(1-2), 59-67. doi: 10.1016/j.jviromet.2013.04.023
- Giri, S. N., Emau, P., Cullor, J. S., Stabenfeldt, G. H., Bruss, M. L., Bondurant, R. H., Osburn, B. I. (1990). Effects of endotoxin infusion on circulating levels of eicosanoids, progesterone, cortisol, glucose and lactic acid, and abortion in pregnant cows. *Veterinary Microbiology*, 21(3), 211-231.
- Go, L. L., Healey, P. J., Watkins, S. C., Simmons, R. L., Rowe, M. I. (1995). The effect of endotoxin on intestinal mucosal permeability to bacteria in vitro. *Archives of Surgery*, 130(1), 53-58.
- Gomez, D. E., Arroyo, L. G., Costa, M. C., Viel, L., Weese, J. S. (2017). Characterization of the fecal bacterial microbiota of healthy and diarrheic dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(3), 928-939. doi: 10.1111/jvim.14695.
- Gonzalez, L. M. (2015). The mother of a gut cell: Intestinal epithelial stem cells. *Equine Veterinary Education*, 11(27), 559-560. doi: 10.1111/eve.12456
- Gonzalez, L. M., Moeser, A. J., Blikslager, A. T. (2015). Porcine models of digestive disease: the future of large animal translational research. *Translational Research*, 166(1), 12-27. doi: 10.1016/j.trsl.2015.01.004
- Gookin, J. L., Nordone, S. K., Argenzio, R. A. (2002). Host responses to Cryptosporidium infection. *Journal of veterinary internal medicine*, 16(1), 12-21.
- Graziani, C., Talocco, C., De Sire, R., Petito, V., Lopetuso, L. R., Gervasoni, J., ... Scaldaferri, F. (2019). Intestinal permeability in physiological and pathological conditions: Major

- determinants and assessment modalities. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 23, 795-810.
- Greco, L., d'Adamo, G., Truscelli, A., Parrilli, G., Mayer, M., Budillon, G. (1991). Intestinal permeability after single dose gluten challenge in coeliac disease. *Archives of Disease in Childhood*, 66(7), 870-872.doi: 0.1136/adc.66.7.870
- Greenwood, P. L., Cafe, L. M. (2007). Prenatal and pre-weaning growth and nutrition of cattle: long-term consequences for beef production. *Animal*, 1(9), 1283-1296. doi: 10.1016/j.jviromet.2013.04.023
- Groschwitz, K. R., Hogan, S. P. (2009). Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 124(1), 3-20.doi: /10.1016/j.jaci.2009.05.038
- Gulati, B. R., Deepa, R., Singh, B. K., Rao, C. D. (2007). Diversity in Indian equine rotaviruses: identification of genotype G10, P6 [1] and G1 strains and a new VP7 genotype (G16) strain in specimens from diarrheic foals in India. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(3), 972-978. doi: 10.1128/JCM.00900-07
- Guslandi, M., Mezzi, G., Sorghi, M., Testoni, P. A. (2000). *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 45(7), 1462-1464.
- Gutteridge, J. M. (1987). The antioxidant activity of haptoglobin towards haemoglobin-stimulated lipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 917(2), 219-223.
- Guzelbektes, H., Coskun, A., Sen, I. (2007). Relationship between the degree of dehydration and the balance of acid-based changes in dehydrated calves with diarrhoea. *Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy*, 51(1), 83.
- Haas, V., Büning, C., Buhner, S., Von Heymann, C., Valentini, L., Lochs, H. (2009). Clinical relevance of measuring colonic permeability. *European Journal of Clinical Investigation*, 39(2), 139-144.
- Hall, D. M., Buettner, G. R., Oberley, L. W., Xu, L., Matthes, R. D., Gisolfi, C. V. (2001). Mechanisms of circulatory and intestinal barrier dysfunction during whole body hyperthermia. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 280(2), H509-H521.

- Hall, E. J. 1999. Clinical laboratory evaluation of small intestinal function. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 29:441–469.doi:10.1016/S0195-5616(99)50030-2.
- Hall, G. A., Bridger, J. C., Brooker, B. E., Parsons, K. R., Ormerod, E. (1984). Lesions of gnotobiotic calves experimentally infected with a calicivirus-like (Newbury) agent. *Veterinary Pathology*, 21(2), 208-215. doi: 10.1177/030098588402100213
- Harding, M. J., Cao, X., Shams, H., Johnson, A. F., Vassilev, V. B., Gil, L. H., ... Donis, R. O. (2002). Role of bovine viral diarrhea virus biotype in the establishment of fetal infections. *American Journal of Veterinary Research*, 63(10), 1455-1463. doi: 10.2460/ajvr.2002.63.1455
- Harmsen, H. J., Wildeboer-Veloo, A. C., Raangs, G. C., Wagendorp, A. A., Klijn, N., Bindels, J. G., Welling, G. W. (2000). Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 30(1), 61-67.
- Hartsock, A., Nelson, W. J. (2008). Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1778(3), 660-669.doi: 10.1016/j.bbamem.2007.07.012
- Heath, S. E., Naylor, J. M., Guedo, B. L., Petrie, L., Rousseaux, C. G., Radostits, O. M. (1989). The effects of feeding milk to diarrheic calves supplemented with oral electrolytes. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 53(4), 477.
- Hills, B. A., Butler, B. D., Lichtenberger, L. M. (1983). Gastric mucosal barrier: hydrophobic lining to the lumen of the stomach. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 244(5), G561-G568.
- Hintz, H. F., Argenzio, R. A., Schryver, H. F. (1971). Digestion coefficients, blood glucose levels and molar percentage of volatile acids in intestinal fluid of ponies fed varying forage-grain ratios. *Journal of Animal Science*, 33(5), 992-995.doi: 10.2527/jas1971.335992x
- Hoet, A. E., Cho, K. O., Chang, K. O., Loerch, S. C., Wittum, T. E., Saif, L. J. (2002). Enteric and nasal shedding of bovine torovirus (Breda virus) in feedlot cattle. *American Journal of Veterinary Research*, 63(3), 342-348. doi: 10.2460/ajvr.2002.63.342

- Hoet, A. E., Saif, L. J. (2004). Bovine torovirus (Breda virus) revisited. *Animal Health Research Reviews*, 5(2), 157-171. doi: 10.1079/ahr200498
- Hollander, D. (1992). The intestinal permeability barrier: a hypothesis as to its regulation and involvement in Crohn's disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 27(9), 721-726. doi: 10.3109/00365529209011172
- Holt, P. S. (2000). C. Wray, and A. Wray (Ed.) *Salmonella in domestic animals :Host Susceptibility, Resistance and Immunity to Salmonella in animals* (pp. 73-87).
- Hou, Y., Wang, L., Yi, D., Ding, B., Chen, X., Wang, Q., ...Wu, G. (2014). Dietary supplementation with tributyrin alleviates intestinal injury in piglets challenged with intrarectal administration of acetic acid. *British Journal of Nutrition*, 111(10), 1748-1758.
- Hughes, L. E., Gibson, E. A., Roberts, H. E., Davies, E. T., Davies, G., Sojka, W. J. (1971). Bovine salmonellosis in England and Wales. *British Veterinary Journal*, 127(5), 225-238. doi: 10.1016/S0007-1935(17)37588-7
- Immerseel, F. V., Buck, J. D., Pasmans, F., Huyghebaert, G., Haesebrouck, F., Ducatelle, R. (2004). Clostridium perfringens in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathology*, 33(6), 537-549. doi: 10.1080/03079450400013162
- Ivanov, A. I., Parkos, C. A., Nusrat, A. (2010). Cytoskeletal regulation of epithelial barrier function during inflammation. *The American Journal of Pathology*, 177(2), 512-524. doi: 10.2353/ajpath.2010.100168
- Izzo, M. M., Kirkland, P. D., Mohler, V. L., Perkins, N. R., Gunn, A. A., House, J. K. (2011). Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhoea. *Australian Veterinary Journal*, 89(5), 167-173. doi: 10.1111/j.1751-0813.2011.00692.x
- Jacob, C., Yang, P. C., Darmoul, D., Amadesi, S., Saito, T., Cottrell, G. S., Bunnett, N. W. (2005). Mast cell tryptase controls paracellular permeability of the intestine: role of protease-activated receptor 2 and β -arrestins. *Journal of Biological Chemistry*, 280(36), 31936-31948.
- Jacometo, C. B., Osorio, J. S., Socha, M., Corrêa, M. N., Piccioli-Cappelli, F., Trevisi, E., Loor, J. J. (2015). Maternal consumption of organic trace minerals alters calf systemic and neutrophil mRNA and microRNA indicators of inflammation and oxidative stress. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7717-7729.

- Jacometo, C. B., Zhou, Z., Luchini, D., Trevisi, E., Corrêa, M. N., Loor, J. J. (2016). Maternal rumen-protected methionine supplementation and its effect on blood and liver biomarkers of energy metabolism, inflammation, and oxidative stress in neonatal Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6753-6763
- Jalonen, T. (1991). Identical intestinal permeability changes in children with different clinical manifestations of cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 88(5), 737-742.
- Jänne, J., Pösö, H., Raina, A. (1978). Polyamines in rapid growth and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 473(3-4), 241-293.
- Jarvie, B. D., Trotz-Williams, L. A., McKnight, D. R., Leslie, K. E., Wallace, M. M., Todd, C. G., Peregrine, A. S. (2005). Effect of halofuginone lactate on the occurrence of *Cryptosporidium parvum* and growth of neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 88(5), 1801-1806. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72854-X
- Jor, E., Myrmel, M., Jonassen, C. M. (2010). SYBR Green based real-time RT-PCR assay for detection and genotype prediction of bovine noroviruses and assessment of clinical significance in Norway. *Journal of Virological Methods*, 169(1), 1-7. doi: 10.1016/j.jviromet.2010.03.028
- Julliand, V., Grimm, P. (2016). horse species symposium: The microbiome of the horse hindgut: History and current knowledge. *Journal of Animal Science*, 94(6), 2262-2274. doi: 10.2527/jas.2015-0198
- Kalck KA. (2009) Inflammatory bowel disease in horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 25:303–15.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., Mobley, H. L. (2004). Pathogenic escherichia coli. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140.
- Kaplon, J., Guenau, E., Asdrubal, P., Pothier, P., Ambert-Balay, K. (2011). Possible novel nebovirus genotype in cattle, France. *Emerging Infectious Diseases*, 17(6), 1120. doi: 10.3201/eid1706.100038
- Kararli, T. T. (1995). Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. *Biopharmaceutics Drug Disposition*, 16(5), 351-380. doi: 10.1002/bdd.2510160502

- Kasari, T. R., Naylor, J. M. (1985). Clinical evaluation of sodium bicarbonate, sodium L-lactate, and sodium acetate for the treatment of acidosis in diarrheic calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 187(4), 392-397.
- Kaske M, Kunz H. (2003) Pathophysiological changes in neonatal diarrhea. In: Kaske M, Kunz HJ. (Ed.): *Handbook of diarrheal diseases in calves* (p.37-44). Kamlage Verlag, Osnabrück.
- Katouli, M., Melin, L., Jensen-Waern, M., Wallgren, P., Möllby, R. (1999). The effect of zinc oxide supplementation on the stability of the intestinal flora with special reference to composition of coliforms in weaned pigs. *Journal of Applied Microbiology*, 87(4), 564-573.
- Khafipour, E., Krause, D. O., Plaizier, J. C. (2009). A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. *Journal of Dairy Science*, 92(3), 1060-1070.doi: 10.3168/jds.2008-1389
- Khan, A., Khan, M. Z. (1991). Aetiopathology of neonatal calf mortality. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, 4(2), 159-165.
- Kitanaka, J., Kitanaka, N., Tsujimura, T., Terada, N., Takemura, M. (2002). Expression of diamine oxidase (histaminase) in guinea-pig tissues. *European Journal of Pharmacology*, 437(3), 179-185.doi: 10.1016/S0014-2999(02)01302-X
- Klein, P., Kleinová, T., Volek, Z., Šimůnek, J. (2008). Effect of *Cryptosporidium parvum* infection on the absorptive capacity and paracellular permeability of the small intestine in neonatal calves. *Veterinary Parasitology*, 152(1-2), 53-59.
- Klein, P., Moravcová, J., Kleinová, T., Volek, Z., Skrivanova, V. (2007). Assessment of intestinal permeability in preruminant calves by lactulose/mannitol test. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 16(1), 43.doi: 10.22358/jafs/66725/2007.
- Knochel, J. P. (1989). Heat stroke and related heat stress disorders. *Disease-a-Month*, 35(5), 301-377.
- Kong, S. E., Blennerhassett, L. R., Heel, K. A., McCauley, R. D., Hall, J. C. (1998). Ischaemia-reperfusion injury to the intestine. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*, 68(8), 554-561.doi: 10.1111/j.1445-2197.1998.tb02099.x
- Koopmans, M., Horzinek, M. C. (1994). Toroviruses of animals and humans: a review. *Advances in Virus Research*, 43, 233-273. doi: 10.1016/s0065-3527(08)60050-0

- Korjamo, T., Heikkinen, A. T., Mönkkönen, J. (2009). Analysis of unstirred water layer in in vitro permeability experiments. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98(12), 4469-4479. doi: 10.1002/jps.21762
- Krishna Rao, R., Samak, G. (2013). Protection and restitution of gut barrier by probiotics: nutritional and clinical implications. *Current Nutrition Food Science*, 9(2), 99-107.
- Kroneman, A., Cornelissen, L. A. H. M., Horzinek, M. C., De Groot, R. J., Egberink, H. F. (1998). Identification and characterization of a porcine torovirus. *Journal of Virology*, 72(5), 3507-3511. doi: 10.1128/JVI.72.5.3507-3511.1998
- Kusche, J., Lorenz, W., Schmidt, J. (1975). Oxidative deamination of biogenic amines by intestinal amine oxidases: histamine is specifically inactivated by diamine oxidase. *Physical Chemistry Bd. 356*, S. 1485 - 1496
- Kvidera, S. K., Dickson, M. J., Abuajamieh, M., Snider, D. B., Fernandez, M. S., Johnson, J. S., Baumgard, L. H. (2017a). Intentionally induced intestinal barrier dysfunction causes inflammation, affects metabolism, and reduces productivity in lactating Holstein cows. *Journal of dairy science*, 100(5), 4113-4127.
- Kvidera, S. K., Horst, E. A., Abuajamieh, M., Mayorga, E. J., Fernandez, M. S., Baumgard, L. H. (2017b). Glucose requirements of an activated immune system in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 2360-2374. doi: 10.3168/jds.2016-12001.
- Laissue, J. A., Chappuis, B., Müller, C., Reubi, J. C., Gebbers, J. O. (1993). The intestinal immune system and its relation to disease. *Digestive Diseases*, 11(4-5), 298-312. doi: 10.1159/000171421
- Lambert, G. P. (2009). Stress-induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *Journal of Animal Science*, 87(14), E101-E108.
- Lambert, G. P., Gisolfi, C. V., Berg, D. J., Moseley, P. L., Oberley, L. W., Kregel, K. C. (2002). Selected contribution: Hyperthermia-induced intestinal permeability and the role of oxidative and nitrosative stress. *Journal of Applied Physiology*, 92(4), 1750-1761.
- Langlois, M. R., Delanghe, J. R. (1996). Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans. *Clinical Chemistry*, 42(10), 1589-1600.
- Lanz Uhde, F., Kaufmann, T., Sager, H., Albini, S., Zanoni, R., Schelling, E., Meylan, M. (2008). Prevalence of four enteropathogens in the faeces of young diarrhoeic dairy calves in Switzerland. *Veterinary Record*, 163(12), 362-366. doi: 10.1136/vr.163.12.362

- Larson, R. L. (2007). Heifer development: reproduction and nutrition. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 23(1), 53-68. doi: 10.1016/j.cvfa.2006.11.003
- Larson, R. L., Tyler, J. W. (2005). Reducing calf losses in beef herds. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 21(2), 569-584. doi: 10.1016/j.cvfa.2005.02.009
- Larson, R. L., Tyler, J. W., Schultz, L. G., Tessman, R. K., Hostetler, D. E. (2004). Management strategies to decrease calf death losses in beef herds. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(1), 42-48. doi: 10.2460/javma.2004.224.42
- Laudat, A., Arnaud, P., Napoly, A., Brion, F. (1994). The intestinal permeability test applied to the diagnosis of food allergy in paediatrics. *The West Indian Medical Journal*, 43(3), 87-88.
- Li, R. W., Connor, E. E., Li, C., Baldwin, VI, R. L., Sparks, M. E. (2012). Characterization of the rumen microbiota of pre-ruminant calves using metagenomic tools. *Environmental Microbiology*, 14(1), 129-139. doi:10.1111/j.1462-2920.2011.02543.x
- Liehr, M., Mereu, A., Pastor, J. J., Quintela, J. C., Staats, S., Rimbach, G., Ipharraguerre, I. R. (2017). Olive oil bioactives protect pigs against experimentally-induced chronic inflammation independently of alterations in gut microbiota. *PLoS One*, 12(3), e0174239.
- Lin, X. Q., O'reilly, K. L., Storz, J., Purdy, C. W., Loan, R. W. (2000). Antibody responses to respiratory coronavirus infections of cattle during shipping fever pathogenesis. *Archives of Virology*, 145(11), 2335-2349. doi: 10.1007/s007050070024
- Liu, L., Hägglund, S., Hakhverdyan, M., Alenius, S., Larsen, L. E., Belák, S. (2006). Molecular epidemiology of bovine coronavirus on the basis of comparative analyses of the S gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(3), 957-960. doi: 10.1128/JCM.44.3.957-960.2006
- Liu, S. M., Sundqvist, T. (1997). Nitric oxide and cGMP regulate endothelial permeability and F-actin distribution in hydrogen peroxide-treated endothelial cells. *Experimental Cell Research*, 235(1), 238-244. doi: 10.1006/excr.1997.3675
- Lodha, A., De Silva, N., Petric, M., Moore, A. M. (2005). Human torovirus: a new virus associated with neonatal necrotizing enterocolitis. *Acta Paediatrica*, 94(8), 1085-1088. doi: 10.1111/j.1651-2227.2005.tb02049.x
- Lofstedt, J., Dohoo, I. R., Duizer, G. (1999). Model to predict septicemia in diarrheic calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 13(2), 81-88.

- Lopetuso, L. R., Scaldaferri, F., Bruno, G., Petito, V., Franceschi, F., Gasbarrini, A. (2015). The therapeutic management of gut barrier leaking: the emerging role for mucosal barrier protectors. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 19(6), 1068-76.
- Lorenz I, Klee W, 2007. Neonatal calf diarrhea-something old, something new. *BCVA*, 15, 146-151.
- Lorenz, I., Fagan, J., More, S. J. (2011). Calf health from birth to weaning. II. Management of diarrhoea in pre-weaned calves. *Irish Veterinary Journal*, 64(1), 1-6. doi: 10.1186/2046-0481-64-9
- Lostia, A. M., Lionetto, L., Principessa, L., Evangelisti, M., Gamba, A., Villa, M. P., Simmaco, M. (2008). A liquid chromatography/mass spectrometry method for the evaluation of intestinal permeability. *Clinical Biochemistry*, 41(10-11), 887-892. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.03.016
- Lozupone, C. A., Stombaugh, J. I., Gordon, J. I., Jansson, J. K., Knight, R. (2012). Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*, 489(7415), 220-230.
- Lugea, A., Antolin, M., Mourelle, M., Guarner, F., Malagelada, J. R. (1997). Deranged hydrophobic barrier of the rat gastroduodenal mucosa after parenteral nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Gastroenterology*, 112(6), 1931-1939. 105.
- Lugea, A., Salas, A., Casalot, J., Guarner, F., Malagelada, J. R. (2000). Surface hydrophobicity of the rat colonic mucosa is a defensive barrier against macromolecules and toxins. *Gut*, 46(4), 515-521.
- Luk, G. D., Bayless, T. M., Baylin, S. B. (1980). Diamine oxidase (histaminase). A circulating marker for rat intestinal mucosal maturation and integrity. *The Journal of clinical investigation*, 66(1), 66-70.
- Macfarlane, S. R., Seatter, M. J., Kanke, T., Hunter, G. D., Plevin, R. (2001). Proteinase-activated receptors. *Pharmacological Reviews*, 53(2), 245-282.
- Madara, J. L. (1983). Increases in guinea pig small intestinal transepithelial resistance induced by osmotic loads are accompanied by rapid alterations in absorptive-cell tight-junction structure. *The Journal of Cell Biology*, 97(1), 125-136. doi: 10.1083/jcb.97.1.125
- Madara, J. L. (1990). Warner-Lambert/Parke-Davis Award lecture. Pathobiology of the intestinal epithelial barrier. *The American journal of pathology*, 137(6), 1273.

- Madara, J. L., Nash, S., Moore, R., Atisook, K. (1990). Structure and function of the intestinal epithelial barrier in health and disease. *Monographs in Pathology*, (31), 306-324.
- Madara, J. L., Stafford, J. (1989). Interferon-gamma directly affects barrier function of cultured intestinal epithelial monolayers. *The Journal of Clinical Investigation*, 83(2), 724-727. doi: 10.1172/JCI113938
- Magi, B., Canocchi, V., Tordini, G., Cellesi, C., Barberi, A. (2006). Cryptosporidium infection: diagnostic techniques. *Parasitology Research*, 98(2), 150-152.
- Maintz, L., Novak, N. (2007). Histamine and histamine intolerance. *The American journal of Clinical Nutrition*, 85(5), 1185-1196.
- Malaviya, R., Ikeda, T., Ross, E., Abraham, S. N. (1996). Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infection through TNF- α . *Nature*, 381(6577), 77-80.
- Mallick, I. H., Yang, W., Winslet, M. C., Seifalian, A. M. (2004). Ischemia reperfusion injury of the intestine and protective strategies against injury. *Digestive Diseases and Sciences*, 49(9), 1359-1377.
- Malmuthuge, N., Chen, Y., Liang, G., Goonewardene, L. A. (2015). Heat-treated colostrum feeding promotes beneficial bacteria colonization in the small intestine of neonatal calves. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 8044-8053. doi: 10.3168/jds.2015-9607
- Malone, R. W., Tisdall, P., Fremont-Smith, P., Liu, Y., Huang, X. P., White, K. M., Ricke, D. O. (2021). COVID-19: famotidine, histamine, mast cells, and mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 633680.
- Mancini, N. L., Rajeev, S., Jayme, T. S., Wang, A., Keita, Å. V., Workentine, M. L., McKay, D. M. (2021). Crohn's disease pathobiont adherent-invasive E coli disrupts epithelial mitochondrial networks with implications for gut permeability. *Cellular and molecular gastroenterology and hepatology*, 11(2), 551-571.
- Mani, V., Weber, T. E., Baumgard, L. H., Gabler, N. K. (2012). Growth and development symposium: endotoxin, inflammation, and intestinal function in livestock. *Journal of animal Science*, 90(5), 1452-1465.
- Marchbank, T., Davison, G., Oakes, J. R., Ghatei, M. A., Patterson, M., Moyer, M. P., Playford, R. J. (2011). The nutraceutical bovine colostrum truncates the increase in gut permeability

- caused by heavy exercise in athletes. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal And Liver Physiology*, 300(3), G477-G484.
- Maret, W. (2013). Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life. *Advances In Nutrition*, 4(1), 82-91.
- Marquez, J. C. (2014). *Calf intestinal health: assessment and dietary interventions for its improvement*. University of Illinois at Urbana-Champaign.
- Marsilio, R., D'Antiga, L., Zancan, L., Dussini, N., Zacchello, F. (1998). Simultaneous HPLC determination with light-scattering detection of lactulose and mannitol in studies of intestinal permeability in pediatrics. *Clinical Chemistry*, 44(8), 1685-1691.
- Martella, V., Bányai, K., Matthijnssens, J., Buonavoglia, C., Ciarlet, M. (2010). Zoonotic aspects of rotaviruses. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 246-255. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.08.028
- Martella, V., Ciarlet, M., Banyai, K., Lorusso, E., Arista, S., Lavazza, A., ... Buonavoglia, C. (2007). Identification of group A porcine rotavirus strains bearing a novel VP4 (P) genotype in Italian swine herds. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(2), 577-580. doi: 10.1128/JCM.02262-06
- Martin, J. L., Vonnahme, K. A., Adams, D. C., Lardy, G. P., Funston, R. N. (2007). Effects of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. *Journal of Animal Science*, 85(3), 841-847. doi: 10.2527/jas.2006-337
- Maxton, D. G., Bjarnason, I., Reynolds, A. P., Catt, S. D., Peters, T. J., Menzies, I. S. (1986). Lactulose 51Cr-labelled ethylenediaminetetra-acetate, L-rhamnose and polyethyleneglycol 500 as probe markers for assessment in vivo of human intestinal permeability. *Clinical Science*, 71(1), 71-80. doi: 10.1042/cs0710071
- Maynou, G., Migura-Garcia, L., Subirats, J., Chester-Jones, H., Ziegler, D., Bach, A., Terre, M. (2016). Impact of milk-feeding programs on fecal bacteria population and antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* isolated from feces in preweaned calves. *Journal of Animal Science*, 94, 593-593. doi: 10.2527/jam2016-1232
- Mazmanian, S. K., Liu, C. H., Tzianabos, A. O., Kasper, D. L. (2005). An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*, 122(1), 107-118. doi: 10.1016/j.cell.2005.05.007.

- McClane, B. A. (2001). The complex interactions between *Clostridium perfringens* enterotoxin and epithelial tight junctions. *Toxicon*, 39(11), 1781-1791. doi: 10.1016/s0041-0101(01)00164-7
- McClane, B. A., Uzal, F. A., Fernandez-Miyakawa, M. E., Lyster, D. M., Wilkins, T. (2006). *The enterotoxigenic clostridia*, p 698–752. The procaryotes, 3rd ed. Springer-Verlag, New York, NY. https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3_22. f
- Mcsweegan, E. Walker, R. I. (1986). Identification and characterization of two *Campylobacter jejuni* adhesins for cellular and mucous substrates. *Infection and Immunity*, 53(1), 141-148. doi: 10.1128/IAI.53.1.141-148.1986
- Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Tauxe, R. V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 5(5), 607. doi: 10.3201/eid0505.990502
- Meale, S. J., Li, S. C., Azevedo, P., Derakhshani, H., DeVries, T. J., Plaizier, J. C., ... Khafipour, E. (2017). Weaning age influences the severity of gastrointestinal microbiome shifts in dairy calves. *Scientific Reports*, 7(1), 1-13. doi: 10.1038/s41598-017-00223-7.
- Meas, S., Usui, T., Ohashi, K., Sugimoto, C., Onuma, M. (2002). Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Veterinary Microbiology*, 84(3), 275-282. doi: 10.1016/S0378-1135(01)00458-8
- Mee, J. F. (2004). Managing the dairy cow at calving time. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 20(3), 521-546. doi: 10.1016/j.cvfa.2004.06.001
- Mee, J. F., Rogers, P. A., O'Farrell, K. J. (1995). Effect of feeding a mineral-vitamin supplement before calving on the calving performance of a trace element deficient dairy herd. *The Veterinary Record*, 137(20), 508-512. doi: 10.1136/vr.137.20.508
- Menzies, I. S., Mount, J. N., Wheeler, M. J. (1978). Quantitative estimation of clinically important monosaccharides in plasma by rapid thin layer chromatography. *Annals of Clinical Biochemistry*, 15(1-6), 65-76.
- Michielan, A., D'Inca, R. (2015). Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut. *Mediators of Inflammation*, 2015. doi: 10.1155/2015/628157
- Mijovski, J. Z., Poljšak-Prijatelj, M., Steyer, A., Barlič-Maganja, D., Koren, S. (2010). Detection and molecular characterisation of noroviruses and sapoviruses in asymptomatic

swine and cattle in Slovenian farms. *Infection, Genetics and Evolution*, 10(3), 413-420.
doi: <http://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.11.010>

- Minami, J., Katayama, S., Matsushita, O., Matsushita, C., Okabe, A. (1997). Lambda-toxin of *Clostridium perfringens* activates the precursor of epsilon-toxin by releasing its N- and C-terminal peptides. *Microbiology and immunology*, 41(7), 527-535.
- Mishima, S., Xu, D., Deitch, E. A. (1999). Increase in endotoxin-induced mucosal permeability is related to increased nitric oxide synthase activity using the Ussing chamber. *Critical Care Medicine*, 27(5), 880-886.
- Mishra, A., Makharia, G. K. (2012). Techniques of functional and motility test: how to perform and interpret intestinal permeability. *Journal of Neurogastroenterology And Motility*, 18(4), 443.
- Miyauchi, E., Morita, H., Tanabe, S. (2009). *Lactobacillus rhamnosus* alleviates intestinal barrier dysfunction in part by increasing expression of zonula occludens-1 and myosin light-chain kinase in vivo. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2400-2408. doi: 10.3168/jds.2008-1698
- Miyoshi, J., Miyamoto, H., Goji, T., Taniguchi, T., Tomonari, T., Sogabe, M., Takayama, T. (2015). Serum diamine oxidase activity as a predictor of gastrointestinal toxicity and malnutrition due to anticancer drugs. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 30(11), 1582-1590.
- Miyoshi, J., Miyamoto, H., Goji, T., Taniguchi, T., Tomonari, T., Sogabe, M., Takayama, T. (2015). Serum diamine oxidase activity as a predictor of gastrointestinal toxicity and malnutrition due to anticancer drugs. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 30(11), 1582-1590.
- Moeser, A. J., Klok, C. V., Ryan, K. A., Wooten, J. G., Little, D., Cook, V. L., Blikslager, A. T. (2007). Stress signaling pathways activated by weaning mediate intestinal dysfunction in the pig. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 292(1), G173-G181. doi: 10.1152/ajpgi.00197.2006.
- Mondello, S., Galuppo, M., Mazzon, E., Domenico, I., Mondello, P., Carmela, A., Cuzzocrea, S. (2010). Glutamine treatment attenuates the development of ischaemia/reperfusion injury of the gut. *European Journal of Pharmacology*, 643(2-3), 304-315.

- Moore, M., Tyler, J. W., Chigerwe, M., Dawes, M. E., Middleton, J. R. (2005). Effect of delayed colostrum collection on colostral IgG concentration in dairy cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(8), 1375-1377. doi: 10.2460/javma.2005.226.1375
- Moreno-Navarrete, J. M., Sabater, M., Ortega, F., Ricart, W., Fernandez-Real, J. M. (2012). Circulating zonulin, a marker of intestinal permeability, is increased in association with obesity-associated insulin resistance. *Plos One*, 7(5), e37160. doi: 10.1371/journal.pone.0037160
- Morris, A. I., Turnberg, L. A., Hall, L., Pimblett, K. (1980). The influence of a parasympathetic agonist and antagonist on human intestinal transport in vivo. *Gastroenterology*, 79(5), 861-866. doi: 10.1016/0016-5085(80)90442-4
- Muccio, J. L., Grooms, D. L., Mansfield, L. S., Wise, A. G., Maes, R. K. (2004). Evaluation of two rapid assays for detecting *Cryptosporidium parvum* in calf feces. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(7), 1090-1092. doi: 10.2460/javma.2004.225.1090
- Myers, L. L., Guinee, P. A. (1976). Occurrence and characteristics of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea. *Infection and Immunity*, 13(4), 1117-1119.
- Naciri, M., Lefay, M. P., 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. *Veterinary Parasitology*, 85(4), 245-257.
- NAHMS (National Animal Health Monitoring System). 2007. Dairy 2007. Part 1: Reference of Dairy Health and Management in the United States. USDA–Anim. Plant Health Insp. Serv.–Vet. Serv., Ft. Collins, CO.
- Namikawa, T., Fukudome, I., Kitagawa, H., Okabayashi, T., Kobayashi, M., Hanazaki, K. (2012). Plasma diamine oxidase activity is a useful biomarker for evaluating gastrointestinal tract toxicities during chemotherapy with oral fluorouracil anti-cancer drugs in patients with gastric cancer. *Oncology*, 82(3), 147-152.
- Nash, S., Stafford, J., Madara, J. L. (1987). Effects of polymorphonuclear leukocyte transmigration on the barrier function of cultured intestinal epithelial monolayers. *The Journal of Clinical Investigation*, 80(4), 1104-1113.

- Nataro, J. P., Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(1), 142-201.
- Naylor, J. M. (1992). Effects of electrolyte solutions for oral administration on clotting of milk. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 201(7), 1026-1029.
- Northrop, C. A., Lunn, P. G., Behrens, R. H. (1990). Automated enzymatic assays for the determination of intestinal permeability probes in urine. 1. Lactulose and lactose. *Clinica Chimica Acta*, 187(2), 79-87.
- Nylander, O., Sababi, M., Bark, J. (1991). Characterization of ⁵¹Cr-EDTA as a marker of duodenal mucosal permeability. *Acta Physiologica Scandinavica*, 143(1), 117-126. doi: 10.1111/j.1748-1716.1991.tb09206.x
- O'Leary, J., Corcoran, D., Lucey, B. (2009). Comparison of the EntericBio multiplex PCR system with routine culture for detection of bacterial enteric pathogens. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(11), 3449-3453. doi: 10.1128/JCM.01026-09
- O'sullivan, M., Clayton, N., Breslin, N. P., Harman, I., Bountra, C., McLaren, A., O'Morain, C. A. (2000). Increased mast cells in the irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterology and Motility*, 12(5), 449-458.
- Ochman, H., Soncini, F. C., Solomon, F., Groisman, E. A. (1996). Identification of a pathogenicity island required for *Salmonella* survival in host cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(15), 7800-7804. doi: 10.1073/pnas.93.15.7800
- Odde, K. C. (1988). Survival of the neonatal calf. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 4(3), 501-508 doi: 10.1016/s0749-0720(15)31027-6
- Oehler, R., Pusch, E., Dungel, P., Zellner, M., Eliassen, M. M., Brabec, M., Roth, E. (2002). Glutamine depletion impairs cellular stress response in human leucocytes. *British Journal Of Nutrition*, 87(S1), S17-S21.
- Ohta, H., Sunden, Y., Yokoyama, N., Osuga, T., Lim, S. Y., Tamura, Y., ... Takiguchi, M. (2014). Expression of apical junction complex proteins in duodenal mucosa of dogs with inflammatory bowel disease. *American Journal of Veterinary Research*, 75(8), 746-751. doi: 10.2460/ajvr.75.8.746
- Oikonomou, G., Teixeira, A. G. V., Foditsch, C., Bicalho, M. L., Machado, V. S., Bicalho, R. C. (2013). Fecal microbial diversity in pre-weaned dairy calves as described by

- pyrosequencing of metagenomic 16S rDNA. Associations of Faecalibacterium species with health and growth. *Plos One*, 8(4), e63157. doi: 10.1371/journal.pone.0063157.
- Oliver, S. L., Asobayire, E., Dastjerdi, A. M., Bridger, J. C. (2006). Genomic characterization of the unclassified bovine enteric virus Newbury agent-1 (Newbury1) endorses a new genus in the family Caliciviridae. *Virology*, 350(1), 240-250. doi: 10.1016/j.virol.2006.02.027
- Oliver, S. L., Batten, C. A., Deng, Y., Elschner, M., Otto, P., Charpilienne, A., ... Lambden, P. R. (2006). Genotype 1 and genotype 2 bovine noroviruses are antigenically distinct but share a cross-reactive epitope with human noroviruses. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(3), 992-998. doi: 0.1128/JCM.44.3.992-998.2006
- Olson, M. E., McAllister, T. A., Deselliers, L., Morck, D. W., Cheng, K. J., Buret, A. G., Ceri, H. (1995). Effects of giardiasis on production in a domestic ruminant (lamb) model. *American journal of veterinary research*, 56(11), 1470-1474.
- Ontsouka, E. C., Albrecht, C., Bruckmaier, R. M. (2016). Invited review: Growth-promoting effects of colostrum in calves based on interaction with intestinal cell surface receptors and receptor-like transporters. *Journal of dairy science*, 99(6), 4111-4123
- Osorio, J. (2020). Gut health, stress, and immunity in neonatal dairy calves: the host side of host-pathogen interactions. *Journal of animal science and biotechnology*, 11(1), 1-15.
- Osorio, J. S., Trevisi, E., Ballou, M. A., Bertoni, G., Drackley, J. K., Loores, J. J. (2013). Effect of the level of maternal energy intake prepartum on immunometabolic markers, polymorphonuclear leukocyte function, and neutrophil gene network expression in neonatal Holstein heifer calves. *Journal of dairy science*, 96(6), 3573-3587.
- Otto, P. H., Clarke, I. N., Lambden, P. R., Salim, O., Reetz, J., Liebler-Tenorio, E. M. (2011). Infection of calves with bovine norovirus GIII. 1 strain Jena virus: an experimental model to study the pathogenesis of norovirus infection. *Journal of Virology*, 85(22), 12013-12021. doi: 10.1128/JVI.05342-11
- Özkan, C., Akgül, Y. (2004). Neonatal ishalleri buzağılarda hematolojik, biyokimyasal ve elektrokardiyografik bulgular. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 123-129.

- Pascual, S., Such, J., Esteban, A., Zapater, P., Casellas, J. A., Aparicio, J. R., ...Pérez-Mateo, M. (2003). Intestinal permeability is increased in patients with advanced cirrhosis. *Hepato-Gastroenterology*, 50(53), 1482-1486.
- Pearce, S. C., Mani, V., Weber, T. E., Rhoads, R. P., Patience, J. F., Baumgard, L. H., Gabler, N. K. (2013). Heat stress and reduced plane of nutrition decreases intestinal integrity and function in pigs. *Journal of Animal Science*, 91(11), 5183-5193.doi: 10.2527/jas.2013-6759
- Pederzoli, R. L. A., Van Kessel, A. G., Campbell, J., Hendrick, S., Wood, K. M., Penner, G. B. (2018). Effect of ruminal acidosis and short-term low feed intake on indicators of gastrointestinal barrier function in Holstein steers. *Journal of Animal Science*, 96(1), 108-125.
- Pérez, E., Kummeling, A., Janssen, M. M. H., Jiménez, C., Alvarado, R., Caballero, M., Dwinger, R. H. (1998). Infectious agents associated with diarrhoea of calves in the canton of Tilarán, Costa Rica. *Preventive Veterinary Medicine*, 33(1-4), 195-205. doi: 10.1016/s0167-5877(97)00038-x
- Pérez, M., Barber, A., Ponz, F. (1996). Effect of osmolarity on the epithelial paracellular permeability in rat jejunum. *Revista Espanola De Fisiologia*, 52(2), 103-112.doi: 10.1113/jphysiol.1977. sp011750
- Peterson, D. A., McNulty, N. P., Guruge, J. L., Gordon, J. I. (2007). IgA response to symbiotic bacteria as a mediator of gut homeostasis. *Cell Host Microbe*, 2(5), 328-339.doi: 10.1016/j.chom.2007.09.013.
- Peterson, L. W., Artis, D. (2014). Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nature Reviews Immunology*, 14(3), 141-153.
- Petit, L., Gibert, M., Popoff, M. R. (1999). Clostridium perfringens: toxinotype and genotype. *Trends in Microbiology*, 7(3), 104-110. doi: 10.1016/s0966-842x(98)01430-9
- Pham, C. T. (2006). Neutrophil serine proteases: specific regulators of inflammation. *Nature Reviews Immunology*, 6(7), 541-550.
- Philippe, D., Heupel, E., Blum-Sperisen, S., Riedel, C. U. (2011). Treatment with Bifidobacterium bifidum 17 partially protects mice from Th1-driven inflammation in a chemically induced model of colitis. *International Journal of Food Microbiology*, 149(1), 45-49.doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.020

- Pignata, C., Budillon, G., Monaco, G., Nani, E., Cuomo, R., Parrilli, G., Ciccimarra, F. (1990). Jejunal bacterial overgrowth and intestinal permeability in children with immunodeficiency syndromes. *Gut*, 31(8), 879-882. doi: 0.1136/gut.31.8.879
- Pini, A., Obara, I., Battell, E., Chazot, P. L., Rosa, A. C. (2016). Histamine in diabetes: is it time to reconsider?. *Pharmacological research*, 111, 316-324.
- Podolsky DK. (2002) Inflammatory bowel disease. *New England Journal of Medicine* 347: 417–29.
- Pohlenz, J. F. L., Cheville, N. F., Woode, G. N., Mokresh, A. H. (1984). Cellular lesions in intestinal mucosa of gnotobiotic calves experimentally infected with a new unclassified bovine virus (Breda virus). *Veterinary Pathology*, 21(4), 407-417. doi: 10.1177/030098588402100407
- Popow-Kraupp, T., Aberle, J. H. (2011). Suppl 2: Diagnosis of Respiratory Syncytial Virus Infection. *The Open Microbiology Journal*, 5, 128. doi: 10.2174/1874285801105010128
- Quigley Iii, J. D., Drewry, J. J. (1998). Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre- and postcalving. *Journal of Dairy Science*, 81(10), 2779-2790.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., Constable, P. D. (2007). *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats and horses*. Saunders Ltd. London, UK.
- Rao, M. B., Tanksale, A. M., Ghatge, M. S., Deshpande, V. V. (1998). Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 597-635.
- Rao, R., Samak, G. (2012). Role of glutamine in protection of intestinal epithelial tight junctions. *Journal of Epithelial Biology Pharmacology*, 5(Suppl 1-M7), 47.
- Reber, A. J., Lockwood, A., Hippen, A. R., Hurley, D. J. (2006). Colostrum induced phenotypic and trafficking changes in maternal mononuclear cells in a peripheral blood leukocyte model for study of leukocyte transfer to the neonatal calf. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 109(1-2), 139-150. doi:10.1016/j.vetimm.2005.08.014
- Reis, B. P., Zhang, S., Tsolis, R. M., Bäuml, A. J., Adams, L. G., Santos, R. L. (2003). The attenuated sopB mutant of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium has the same tissue distribution and host chemokine response as the wild type in bovine Peyer's patches. *Veterinary Microbiology*, 97(3-4), 269-277 doi: 10.1016/j.vetmic.2003.09.019

- Reisinger, N., Schürer-Waldheim, S., Mayer, E., Debevere, S., Antonissen, G., Sulyok, M., Nagl, V. (2019). Mycotoxin occurrence in maize silage—A neglected risk for bovine gut health?. *Toxins*, 11(10), 577.
- Reuter G, Pankovics P, Egyed L. (2009). Detection of genotype 1 and 2 bovine noroviruses in Hungary. *Veterinary Record*, 165, 537-538. doi: 10.1136/vr.165.18.537
- Ribes, J. A., Seabolt, J. P., Overman, S. B. (2002). Performance characteristics of VIDAS and Directigen respiratory syncytial virus (RSV) antigen detection assays and culture for the identification of RSV in respiratory specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(5), 1818-1820. doi: 10.1128/JCM.40.5.1818-1820.2002
- Rigor, R. R., Shen, Q., Pivetti, C. D., Wu, M. H., Yuan, S. Y. (2013). Myosin light chain kinase signaling in endothelial barrier dysfunction. *Medicinal Research Reviews*, 33(5), 911-933.
- Rings, D. M. (2004). Clostridial disease associated with neurologic signs: tetanus, botulism, and enterotoxemia. *The Veterinary Clinics of North America. Food animal practice*, 20(2), 379-91. doi: 10.1016/j.cvfa.2004.02.006
- Robertson, L. J., Campbell, A. T., Smith, H. V. (1992). Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures. *Applied and environmental microbiology*, 58(11), 3494-3500.
- Rollwagen, F. M., Madhavan, S., Singh, A., Li, Y. Y., Wolcott, K., Maheshwari, R. (2006). IL-6 protects enterocytes from hypoxia-induced apoptosis by induction of bcl-2 mRNA and reduction of fas mRNA. *Biochemical and biophysical research communications*, 347(4), 1094-1098.
- Rothenbacher, H. (1965). Mortality and morbidity in calves with salmonellosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 147(11), 1211-1214.
- Salzman, A. L., Menconi, M. J., Unno, N. A. O. K. I., Ezzell, R. M., Casey, D. M., Gonzalez, P. K., Fink, M. P. (1995). Nitric oxide dilates tight junctions and depletes ATP in cultured Caco-2BBE intestinal epithelial monolayers. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 268(2), G361-G373.
- Salzman, A. L., Wang, H., Wollert, P. S., Vandermeer, T. J., Compton, C. C., Denenberg, A. G., Fink, M. P. (1994). Endotoxin-induced ileal mucosal hyperpermeability in pigs: role

- of tissue acidosis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 266(4), G633-G646.doi: 10.1152/ajpgi.1994.266.4.G633
- Sancho, E., Batlle, E., Clevers, H. (2003). Live and let die in the intestinal epithelium. *Current Opinion in Cell Biology*, 15(6), 763-770.doi: 10.1016/j.ceb.2003.10.012
- Santos, J., Yang, P. C., Söderholm, J. D., Benjamin, M., Perdue, M. H. (2001). Role of mast cells in chronic stress induced colonic epithelial barrier dysfunction in the rat. *Gut*, 48(5), 630-636.
- Saunders, P. R., Kosecka, U., McKay, D. M., Perdue, M. H. (1994). Acute stressors stimulate ion secretion and increase epithelial permeability in rat intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 267(5), G794-G799.
- Scaldaferri, F., Pizzoferrato, M., Gerardi, V., Lopetuso, L., Gasbarrini, A. (2012). The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *Journal Of Clinical Gastroenterology*, 46, S12-S17.doi: 10.1097/MCG.0b013e31826ae849
- Schietroma, M., Pessia, B., Carlei, F., Amicucci, G. (2017). Intestinal permeability changes, systemic endotoxemia, inflammatory serum markers and sepsis after Whipple's operation for carcinoma of the pancreas head. *Pancreatology*, 17(5), 839-846.doi: 10.1016/j.pan.2017.07.190
- Schnedl, W. J., Schenk, M., Lackner, S., Enko, D., Mangge, H., Forster, F. (2019). Diamine oxidase supplementation improves symptoms in patients with histamine intolerance. *Food science and biotechnology*, 28, 1779-1784.
- Schoster, A., Weese, J. S., Guardabassi, L. (2014). Probiotic use in horses—what is the evidence for their clinical efficacy? *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(6), 1640-1652.
- Schultze, B., Gross, H. J., Brossmer, R., Herrler, G. (1991). The S protein of bovine coronavirus is a hemagglutinin recognizing 9-O-acetylated sialic acid as a receptor determinant. *Journal of Virology*, 65(11), 6232-6237.
- Schulze, F. (1992). Campylobacter as the cause of diarrhea in calves. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 99(11), 458-461.
- Schroeder B.O. Fight them or feed them: How the intestinal mucus layer manages the gut microbiota. *Gastroenterol. Rep.* 2019;7:3–12. doi: 10.1093/gastro/goy052.

- Scipioni, A., Mauroy, A., Vinje, J., Thiry, E. (2008). Animal noroviruses. *The Veterinary Journal*, 178(1), 32-45. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.11.012
- Sen, I., Constable, P. D. (2013). General overview to treatment of strong ion (metabolic) acidosis in neonatal calves with diarrhea. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences* 29(3), 114-20.
- Serek, P., Oleksy-Wawrzyniak, M. (2021). The effect of bacterial infections, probiotics and zonulin on intestinal barrier integrity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11359.
- Shakir, K. M., Margolis, S., Baylin, S. B. (1977). Localization of histaminase (diamine oxidase) in rat small intestinal mucosa: site of release by heparin. *Biochemical pharmacology*, 26(24), 2343-2347.
- Shen, Q., Rigor, R. R., Pivetti, C. D., Wu, M. H., Yuan, S. Y. (2010). Myosin light chain kinase in microvascular endothelial barrier function. *Cardiovascular Research*, 87(2), 272-280.
- Sherwood, D., Snodgrass, D. R., Lawson, G. H. (1983). Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* in calves in Scotland and northern England. *The Veterinary Record*, 113(10), 208-212. doi: 10.1136/vr.113.10.208
- Simon, H. B. (1994). Hyperthermia and heatstroke. *Hospital Practice*, 29(8), 65-80.
- Smecuol, E., Bai, J. C., Sugai, E., Vazquez, H., Niveloni, S., Pedreira, S., ... Meddings, J. (2001). Acute gastrointestinal permeability responses to different non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Gut*, 49(5), 650-655.
- Smecuol, E., Vazquez, H., Sugai, E., Niveloni, S., Pedreira, S., Cabanne, A., Bai, J. C. (1999). Sugar tests detect celiac disease among first-degree relatives. *The American Journal of Gastroenterology*, 94(12), 3547-3552.
- Smiley, J. R., Chang, K. O., Hayes, J., Vinje, J., Saif, L. J. (2002). Characterization of an enteropathogenic bovine calicivirus representing a potentially new calicivirus genus. *Journal of Virology*, 76(20), 10089-10098. doi: 10.1128/JVI.76.20.10089-10098.2002
- Smithson, K. W., Millar, D. B., Jacobs, L. R., Gray, G. M. (1981). Intestinal diffusion barrier: unstirred water layer or membrane surface mucous coat? *Science*, 214(4526), 1241-1244. doi: 10.1126/science.7302593

- Sojka, W. J., Wray, C., Shreeve, J., Benson, A. J. (1977). Incidence of Salmonella infection in animals in England and Wales, 1968–1974. *Epidemiology Infection*, 78(1), 43-56. doi: 10.1017/s0022172400055923
- Songer, J. G. (1997). Bacterial phospholipases and their role in virulence. *Trends in microbiology*, 5(4), 156-161 doi: 10.1016/S0966-842X(97)01005-6
- Söderholm, J. D., Olaison, G., Lindberg, E., Hannestad, U., Vindels, A., Tysk, C., Sjö Dahl, R. (1999). Different intestinal permeability patterns in relatives and spouses of patients with Crohn's disease: an inherited defect in mucosal defence?. *Gut*, 44(1), 96-100.
- Spangler, B. D. (1992). Structure and function of cholera toxin and the related Escherichia coli heat-labile enterotoxin. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 56(4), 622-647.
- Steele AD, Geyer A, Gerdes GH. (2004) Rotavirus infections. In: Coetzer JAW, Tustin RC (eds). *Infectious Diseases of Livestock*. 2nd ed. (pp. 1256-1264), Oxford University Press Southern Africa, Cape Town, .
- Steele, M. A., Penner, G. B., Chaucheyras-Durand, F. (2016). Development and physiology of the rumen and the lower gut: Targets for improving gut health. *Journal of dairy science*, 99(6), 4955-4966.
- Stewart, A. S., Pratt-Phillips, S., Gonzalez, L. M. (2017). Alterations in intestinal permeability: the role of the “leaky gut” in health and disease. *Journal of Equine Veterinary Science*, 52, 10-22. doi: 10.1016/j.jevs.2017.02.009
- Streeter, R. N., Hoffsis, G. F., Bech-Nielsen, S., Shulaw, W. P., Rings, D. M. (1995). Isolation of Mycobacterium paratuberculosis from colostrum and milk of subclinically infected cows. *American journal of Veterinary Research*, 56(10), 1322-1324.
- Sturgeon, C., Fasano, A. (2016). Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue barriers*, 4(4), e1251384.
- Stolfi, C., Maresca, C., Monteleone, G., Laudisi, F. (2022). Implication of intestinal barrier dysfunction in gut dysbiosis and diseases. *Biomedicines*, 10(2), 289.
- Suenaert, P., Bulteel, V., Den Hond, E., Geypens, B., Monsuur, F., Luypaerts, A., ... Rutgeerts, P. (2003). In vivo influence of nicotine on human basal and NSAID-induced gut barrier function. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 38(4), 399-408.

- Sukhotnik, I., Mogilner, J., Krausz, M. M., Lurie, M., Hirsh, M., Coran, A. G., Shiloni, E. (2004). Oral arginine reduces gut mucosal injury caused by lipopolysaccharide endotoxemia in rat. *Journal of Surgical Research*, 122(2), 256-262.
- Sun, Z. W., Wang, X. D., Deng, X. M., Wallen, R., Gefors, L., Hallberg, E., Andersson, R. (1997). The influence of circulatory and gut luminal challenges on bidirectional intestinal barrier permeability in rats. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 32(10), 995-1004.
- Suzuki, T. (2013). Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 70(4), 631-659. doi: 10.1007/s00018-012-1070-x
- Tao, S., Dahl, G. E. (2013). Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves. *Journal of Dairy Science*, 96(7), 4079-4093.
- Toscano, M., De Grandi, R., Grossi, E., Drago, L. (2017). Role of the human breast milk-associated microbiota on the newborns' immune system: a mini review. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2100.
- Tajik, N., Frech, M., Schulz, O., Schäfter, F., Lucas, S., Azizov, V., Zaiss, M. M. (2020). Targeting zonulin and intestinal epithelial barrier function to prevent onset of arthritis. *Nature Communications*, 11(1), 1995.
- Teshima, C. W., Dieleman, L. A., Meddings, J. B. (2012). Abnormal intestinal permeability in Crohn's disease pathogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1258(1), 159-165. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06612.x
- Thomson, A. B. R., Schoeller, C., Keelan, M., Smith, L., Clandinin, M. T. (1993). Lipid absorptions passing through the unstirred layers, brush-border membrane, and beyond. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 71(8), 531-555. doi: 10.1139/y93-078
- Thomson, S., Hamilton, C. A., Hope, J. C., Katzer, F., Mabbott, N. A., Morrison, L. J., Innes, E. A. (2017). Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. *Veterinary Research*, 48(1), 1-16.
- Tough, D. F., Sun, S., Sprent, J. (1997). T cell stimulation in vivo by lipopolysaccharide (LPS). *The Journal of experimental medicine*, 185(12), 2089-2094.

- Toyokuni, S. (1999). Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathology International*, 49(2), 91-102.doi: 10.1046/j.1440-1827.1999.00829.x
- Treuer, R., Haydel, S. E. (2011). Acid-fast staining and Petroff Hausser chamber counting of mycobacterial cells in liquid suspension. *Current Protocols in Microbiology*, Unit10A-6. doi: 10.1002/9780471729259.mc10a06s20
- Tripathi, A., Lammers, K. M., Goldblum, S., Shea-Donohue, T., Netzel-Arnett, S., Buzza, M. S., Fasano, A. (2009). Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaaptoglobin-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(39), 16799-16804.
- Tsolis, R. M., Adams, L. G., Ficht, T. A., Bäumlér, A. J. (1999). Contribution of *Salmonella typhimurium* virulence factors to diarrheal disease in calves. *Infection and Immunity*, 67(9), 4879-4885. doi: 10.1128/IAI.67.9.4879-4885.1999
- Tsukano, K., Lakritz, J., Suzuki, K. (2020). Plasma histidine concentrations as a specific biomarker for intestinal mucosal damage in calves with cryptosporidiosis. *Research in Veterinary Science*, 132, 78-80.
- Tsunemitsu, H., Jiang, B., Saif, L. J. (1992). Detection of group C rotavirus antigens and antibodies in animals and humans by enzyme-linked immunosorbent assays. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(8), 2129-2134.
- Turner, J. R. (2009). Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews Immunology*, 9(11), 799-809.doi: 10.1038/nri2653
- Tzipori, S. (1985). The relative importance of enteric pathogens affecting neonates of domestic animals. *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine*, 29, 103-206.
- Ueno, N., Fujiya, M., Segawa, S., Nata, T., Moriichi, K., Tanabe, H., Kohgo, Y. (2011). Heat-killed body of *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function. *Inflammatory Bowel Diseases*, 17(11), 2235-2250.doi: 10.1002/ibd.21597
- Uil, J. J., Van Elburg, R. M., Van Overbeek, F. M., Mulder, C. J., VanBerge-Henegouwen, G. P., Heymans, H. S. (1997). Clinical implications of the sugar absorption test: intestinal permeability test to assess mucosal barrier function. *Scandinavian Journal Of Gastroenterology*. Supplement, 223, 70-78.

- Ural, D. A. (2022). Heat Stress and Seasonal Dissipation of Circulating Zonulin Levels Among Calves in Aydın Region. *International Journal of Veterinary and Animal Research*, 5(2), 47-49.
- Ural, D. A. (2022). Zonulin as a Noninvasive Selected Biomarker of Gut Barrier Function Identify and Debug Calves Suffering from Diarrhea. *International Journal of Veterinary and Animal Research* 5(3), 159-161.
- Urie, N. J., Lombard, J. E., Shivley, C. B., Kopral, C. A., Adams, A. E., Earleywine, T. J., Garry, F. B. (2018). Preweaned heifer management on US dairy operations: Part V. Factors associated with morbidity and mortality in preweaned dairy heifer calves. *Journal of Dairy Science*, 101(10), 9229-9244. doi: 10.3168/jds.2017-14019
- USDA. Dairy 2007 Part II: Changes in the U.S. Dairy Cattle industry, 1991-2007. Pp. 57-61, USDA-APHIS-VS, CEAH, Fort Collins, 2008.
- Uzal, F. A. (2004). Diagnosis of *Clostridium perfringens* intestinal infections in sheep and goats. *Anaerobe*, 10(2), 135-143.
- Van Elburg, R. M., Uil, J. J., Van Aalderen, W. M., Mulder, C. J., Heymans, H. S. (1996). Intestinal permeability in exocrine pancreatic insufficiency due to cystic fibrosis or chronic pancreatitis. *Pediatric Research*, 39(6), 985-991.
- Van Spaendonk, H., Ceuleers, H., Witters, L., Patteet, E., Joossens, J., Augustyns, K., ... De Winter, B. Y. (2017). Regulation of intestinal permeability: the role of proteases. *World Journal of Gastroenterology*, 23(12), 2106.
- Van Vleck Pereira, R., Lima, S., Siler, J. D., Foditsch, C., Warnick, L. D., Bicalho, R. C. (2016). Ingestion of milk containing very low concentration of antimicrobials: longitudinal effect on fecal microbiota composition in preweaned calves. *PLoS One*, 11(1), e0147525. doi: 10.1371/journal.pone.0147525.
- Van Wijck, K., Lenaerts, K., Van Loon, L. J., Peters, W. H., Buurman, W. A., Dejong, C. H. (2011). Exercise-induced splanchnic hypoperfusion results in gut dysfunction in healthy men. *Plos One*, 6(7), e22366.
- Vanuytsel, T., Van Wanrooy, S., Vanheel, H., Vanormelingen, C., Verschueren, S., Houben, E., Tack, J. (2014). Psychological stress and corticotropin-releasing hormone increase intestinal permeability in humans by a mast cell-dependent mechanism. *Gut*, 63(8), 1293-1299.

- Vergnolle, N. (2000). proteinase-activated receptors-novel signals for gastrointestinal pathophysiology. *Alimentary Pharmacology Therapeutics*, 14(3), 257-266.doi: 10.1046 / j.1365-2036.2000.00690.x
- Vergnolle, N. (2016). Protease inhibition as new therapeutic strategy for GI diseases. *Gut*, 65(7), 1215-1224.
- Vi, R. B., McLeod, K. R., Klotz, J. L., Heitmann, R. N. (2004). Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *Journal Of Dairy Science*, 87, E55-E65.doi: 10.3168/jds. S0022-0302(04)70061-2Get
- Vieira, E. L., Leonel, A. J., Sad, A. P., Beltrão, N. R., Costa, T. F., Ferreira, T. M., ... Alvarez-Leite, J. I. (2012). Oral administration of sodium butyrate attenuates inflammation and mucosal lesion in experimental acute ulcerative colitis. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*, 23(5), 430-436.
- Villacorta, I., Peeters, J. E., Vanopdenbosch, E., Ares-Mazas, E., Theys, H. (1991). Efficacy of halofuginone lactate against *Cryptosporidium parvum* in calves. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 35(2), 283-287. doi: 10.1136/vr.d1492
- Villena, J., Aso, H., Rutten, V. P., Takahashi, H., Van Eden, W., Kitazawa, H. (2018). Immunobiotics for the bovine host: their interaction with intestinal epithelial cells and their effect on antiviral immunity. *Frontiers in immunology*, 9, 326.
- Voetsch, A. C., Van Gilder, T. J., Angulo, F. J., Farley, M. M., Shallow, S., Marcus, R., Emerging Infections Program FoodNet Working Group. (2004). FoodNet estimate of the burden of illness caused by nontyphoidal *Salmonella* infections in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 38(Supplement_3), S127-S134. doi: 10.1086/381578
- Vogelsang, H., Wyatt, J., Penner, E., Lochs, H. (1995). Screening for celiac disease in first-degree relatives of patients with celiac disease by lactulose/mannitol test. *American Journal of Gastroenterology* (Springer Nature), 90(10).
- Wallon, C., Yang, P. C., Keita, Å. V., Ericson, A. C., McKay, D. M., Sherman, P. M., Söderholm, J. D. (2008). Corticotropin-releasing hormone (CRH) regulates macromolecular permeability via mast cells in normal human colonic biopsies in vitro. *Gut*, 57(1), 50-58.
- Walton, K. D., Freddo, A. M., Wang, S., Gumucio, D. L. (2016). Generation of intestinal surface: an absorbing tale. *Development*, 143(13), 2261-2272.

- Wang, J., Chen, L., Li, P., Li, X., Zhou, H., Wang, F., Wu, G. (2008). Gene expression is altered in piglet small intestine by weaning and dietary glutamine supplementation. *The Journal of Nutrition*, 138(6), 1025-1032.doi: 10.1093/jn/138.6.1025
- Wang, K. Y., Tanimoto, A., Yamada, S., Guo, X., Ding, Y., Watanabe, T., Sasaguri, Y. (2010). Histamine regulation in glucose and lipid metabolism via histamine receptors: model for nonalcoholic steatohepatitis in mice. *The American journal of pathology*, 177(2), 713-723.
- Wang, W. W., Qiao, S. Y., Li, D. F. (2009). Amino acids and gut function. *Amino Acids*, 37(1), 105-110.
- Wang, W., Uzzau, S., Goldblum, S. E., Fasano, A. (2000). Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *Journal of Cell Science*, 113(24), 4435-4440.doi: 10.1242/jcs.113.24.4435
- Wasilewski, A., Zielińska, M., Storr, M., Fichna, J. (2015). Beneficial effects of probiotics, prebiotics, synbiotics, and psychobiotics in inflammatory bowel disease. *Inflammatory Bowel Diseases*, 21(7), 1674-1682.
- Watt, J. G. (1965). The use of fluid replacement in the treatment of neonatal diseases in calves. *Veterinary Record*, 77(49), 1474-1482.
- Weber, L. P., Seto, M., Sasaki, Y., Swärd, K., Walsh, M. P. (2000). The involvement of protein kinase C in myosin phosphorylation and force development in rat tail arterial smooth muscle. *Biochemical Journal*, 352(2), 573-582.doi: 10.1042/bj3520573
- Weese, J. S. (2002). Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Journal of Equine Veterinary Science*, 22(8), 357-360.
- Wells, J. M., Brummer, R. J., Derrien, M., MacDonald, T. T., Troost, F., Cani, P. D., ... Garcia-Rodenas, C. L. (2017). Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 312(3), G171-G193.doi: 10.1152/ajpgi.00048.2015
- Wershil, B. K. (2000). IX. Mast cell-deficient mice and intestinal biology. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 278(3), G343-G348.
- Wicher, K. B., Fries, E. (2004). Prohaptoglobin is proteolytically cleaved in the endoplasmic reticulum by the complement C1r-like protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(40), 14390-14395.doi: 10.1073/pnas.0405692101

- Wisner, D. M., Harris III, L. R., Green, C. L., Poritz, L. S. (2008). Opposing regulation of the tight junction protein claudin-2 by interferon- γ and interleukin-4. *Journal of Surgical Research*, 144(1), 1-7.
- Wolvekamp, M. C. J., De Bruin, R. W. F. (1994). Diamine oxidase: an overview of historical, biochemical and functional aspects. *Digestive Diseases*, 12(1), 2-14.
- Wood, K. M., Palmer, S. I., Steele, M. A., Metcalf, J. A., Penner, G. B. (2015). The influence of age and weaning on permeability of the gastrointestinal tract in Holstein bull calves. *Journal of Dairy Science*, 98(10), 7226-7237.doi: 10.3168/jds.2015-9393.
- Woode, G. N., Bridger, J. C. (1978). Isolation of small viruses resembling astroviruses and caliciviruses from acute enteritis of calves. *Journal of Medical Microbiology*, 11(4), 441-452.doi: 10.1099/00222615-11-4-441
- Woode, G. N., Saif, L. J., Quesada, M., Winand, N. J., Pohlenz, J. F., Gourley, N. K. (1985). Comparative studies on three isolates of Breda virus of calves. *American Journal of Veterinary Research*, 46(5), 1003-1010.
- Wu, G., Bazer, F. W., Wallace, J. M., Spencer, T. E. (2006). Board-invited review: intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. *Journal of animal science*, 84(9), 2316-2337.
- Wu, G., Meier, S. A., Knabe, D. A. (1996). Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. *The Journal of nutrition*, 126(10), 2578-2584.
- Wu, G., Morris Jr, S. M. (1998). Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochemical Journal*, 336(1), 1-17.doi: 10.1042/bj3360001
- Wu, Y., Cheng, Z., Bai, Y., Ma, X. (2019). Epigenetic mechanisms of maternal dietary protein and amino acids affecting growth and development of offspring. *Current Protein and Peptide Science*, 20(7), 727-735.
- Yağcı, B. B., Parlatur, Y. (2018). Neonatal İshalli Buzağlarda Sıvı-Elektrolit Denge Bozuklukları ve Sağaltımı. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 58(3), 50-55.
- Ye, D., Ma, I., Ma, T. Y. (2006). Molecular mechanism of tumor necrosis factor- α modulation of intestinal epithelial tight junction barrier. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 290(3), G496-G504.doi: 10.1152/ajpgi.00318.2005

- Ylioja, C. M., Rolf, M. M., Mamedova, L. K., Bradford, B. J. (2019). Associations between body condition score at parturition and microRNA profile in colostrum of dairy cows as evaluated by paired mapping programs. *Journal of Dairy Science*, 102(12), 11609-11621.
- Yoo, D., Parker, M. D., Babiuk, L. A. (1991). The S2 subunit of the spike glycoprotein of bovine coronavirus mediates membrane fusion in insect cells. *Virology*, 180(1), 395-399. doi: 10.1016/0042-6822(91)90045-D
- Yoshioka, H., Iseki, K. I., Fujita, K. (1983). Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. *Pediatrics*, 72(3), 317-321.
- Zambriski, J. A., Nydam, D. V., Wilcox, Z. J., Bowman, D. D., Mohammed, H. O., Liotta, J. L. (2013). *Cryptosporidium parvum*: Determination of ID50 and the dose–response relationship in experimentally challenged dairy calves. *Veterinary Parasitology*, 197(1-2), 104-112.
- Zeng, B., Chen, T., Xie, M. Y., Luo, J. Y., He, J. J., Xi, Q. Y., Zhang, Y. L. (2019). Exploration of long noncoding RNA in bovine milk exosomes and their stability during digestion in vitro. *Journal of dairy Science*, 102(8), 6726-6737.
- Zhang, S., Alborno, RI, Aschenbach, JR, Barreda, DR ve Penner, GB (2013). Kısa süreli yem kısıtlaması, besi sığırlarında retikülo-rumen emilim fonksiyonunu ve toplam yol bariyer fonksiyonunu bozar. *Journal of Animal Science* , 91 (4), 1685-1695doi: 10 .2527/ jas .2012 -5669.
- Zhang, Y., Lee, B., Thompson, M., Glass, R., Lee, R. C., Figueroa, D., Stephenson, C. (2000). Lactulose–mannitol intestinal permeability test in children with diarrhea caused by rotavirus and cryptosporidium. *Journal of Pediatric Gastroenterology And Nutrition*, 31(1), 16-21.
- Zolotarevsky, Y., Hecht, G., Koutsouris, A., Gonzalez, D. E., Quan, C., Tom, J., ... Turner, J. R. (2002). A membrane-permeant peptide that inhibits MLC kinase restores barrier function in in vitro models of intestinal disease. *Gastroenterology*, 123(1), 163-172.doi: 10.1053/gast.2002.34235
- Zünd, G., Madara, J. L., Dzús, A. L., Awtrey, C. S., Colgan, S. P. (1996). Interleukin-4 and Interleukin-13 Differentially Regulate Epithelial Chloride Secretion. *Journal of Biological Chemistry*, 271(13), 7460-7464.