

İshal Semptomu Belirlenen Buzağlarda Serum Sialik Asit ile Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Araştırılması

Erdoğan UZLU¹ Mahmut KARAPEHLİVAN² Mehmet ÇİTİL¹
Erhan GÖKÇE¹ Hidayet Metin ERDOĞAN¹

¹ Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD., Kars, Türkiye

² Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya AD., Kars, Türkiye

Geliş tarihi: 26.03.2010

Kabul Tarihi: 11.04.2010

ÖZET

Bu çalışmada, ishalleri belirlenen buzağlarda bazı biyokimyasal parametreler ile serum sialik asit düzeylerinin (total ve lipid bağlı) belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla 25 adet ishalleri ve 15 adet klinik olarak sağlıklı, yaşları 1-30 gün arasında değişen buzağı kullanıldı. Çalışmada değerlendirilen tüm hayvanların serumlarında total sialik asit ve lipid bağlı sialik asit konsantrasyonları, Ca, P, Mg, Fe, albümin ve total protein düzeyleri belirlendi. Gruplar arasında total sialik asit düzeyi ile lipid bağlı sialik asit düzeyleri için ($p<0.01$), serum P ve total protein değerleri için ($p<0.05$) ve Fe için ($p<0.001$) düzeyinde istatistiksel olarak farklılık belirlendi. Serum Ca, Mg ve albümin değerlerinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı. Sonuçta serum SA konsantrasyonlarının ishalleri olgularında incelenen birçok rutin parametre gibi istatistiksel olarak önemli farklılıklar gösterdiği ve bu farklılığın ishal vakalarında dikkate alınması gerektiği kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler

İshal, Buzağı, Sialik asit, Ca, P, Mg, Fe

Investigation of Serum Sialic Acid and some Biochemical Parameters in Calf with Diarrhea Symptoms

SUMMARY

This study was aimed to determine some biochemical parameters and serum sialic acid (total and lipid bound SA) in diarrhoeic calves. The study involved 25 diarrhoeic, 15 clinically healthy Swiss Brown calves aged between 1-30 days. Total sialic acid and lipid bound sialic acid, Ca, P, Mg, Fe, albumin and total protein concentrations of the studied animals were evaluated. Between groups in total sialic acid and lipid-bound sialic acid levels for the ($p<0.01$), serum P and total protein values for ($p<0.05$) and for Fe ($p<0.001$) at the level of statistical difference was determined. Serum Ca, Mg and albumin values were not statistically different. In conclusion, serum SA concentrations of diarrhoeic cases statistically differed from control cases similar to many other parameters and thus this finding may be of value in evaluating diarrhoeic cases.

Key Words

Diarrhoea, Calf, Sialic acid, Ca, P, Mg, Fe

GİRİŞ

Buzağı ishalleri yüksek morbidite ve mortalite ile seyreden, dünyada ve ülkemizde tedavi masraflarının yüksek olması performans düşüklüğü ve ölüm nedeni ile önemli ekonomik kayıplara yol açan bir problemdir (İmren 1983; Gül 1990; Aslan 1994; Çitil ve ark. 2003). Buzağı ishalleri karmaşık bir etiyolojiye sahip olup hastalarda dehidrasyon, elektrolit dengesizliği ve asidoz gibi ciddi metabolik değişikliklere yol açar. Buzağı ishallerin oluşumunda bakteri, virus, parazit ve mantar gibi enfeksiyöz nedenlerin yanı sıra sevk-idare hataları, hijyen ve çevresel ve iklim koşulları gibi non enfeksiyöz faktörlerde etkilidir (Gül 1990; İmren 1983; Aslan 1994; Allen ve White 1995; Bendali ve ark. 1999).

Sialik asit (SA), nöraminik asidin açillenmiş türevlerinin ismidir. Sialik asitlerin en yaygın olanı N-asetil nöraminik asit (NANA)'tir (Blix ve ark. 1957) ve çeşitli dokularda ve vücut sıvılarında glikoproteinler, glikolipitler, oligosakkaritler ve polisakkaritlerin komponentleri olarak buldukları için çok küçük miktarları serbest haldedir.

Hücredeki SA'ler, %65-70 oranında membran glikolipitleri ile glikoproteinlere bağlı olarak bulunurlar (Gottschalk 1972; Rosenberg ve Schengrund 1976). Diğer taraftan SA'ler biyolojik membranların önemli yapılarından biri olup, glikolipitlerin, polisakkaritlerin, glikoproteinlerin ve mukoproteinlerin yapısına girerek bakterilerde ve hayvan dokularında yaygın bir şekilde bulunurlar (Schauer 1982).

Serum SA düzeylerindeki yükselmelerin mekanizması tam açık olmamakla birlikte AFP'ler, özellikle α_1 -asit glikoproteinlerinin sialoglikoprotein yapısında olması ve AFP'nin birçoğunda mevcut oligosakkarit zincirinin son halkasında bulunan SA düzeylerinin, AFP'nin bir belirleyici olduğunu birçok araştırmacı belirtmiştir (Taniuchi ve ark. 1981; Stefenelli ve ark. 1985; Crook 1993; Haq ve ark. 1993). Akut faz reaktanları glikoprotein yapısında olduğundan bu proteinlerin artışları serum TSA düzeylerini etkilediği (Taniuchi ve ark. 1981), ancak glikolipit yapısında bulunan SA artışlarını tam olarak yansıtmadığı belirtilmiştir (Stefenelli ve ark. 1985).

Yangısal reaksiyonların veya yaralanmanın başlangıcından

itibaren SA konsantrasyonunun hızla arttığı bildirilmektedir (Haq ve ark 1993). Bu nedenle serum SA düzeylerinin özellikle lipit bağlı sialik asit (LSA) düzeylerinin belirlenmesi yangısal hastalıkların tanısı (Çitil ve ark. 2004; Karapehlivan ve ark. 2007a; Karapehlivan ve ark. 2007b; Erdoğan ve ark. 2008) ve sığırlarda post operatif prognozunda bir gösterge olabileceği bildirilmiştir (Motoi 1984). Araştırmacılar tarafından son yıllarda septisemi (Çitil ve ark. 2004), dermatofitoz (Karapehlivan ve ark. 2007a), kronik tüberküloz (Carter ve Martin 1962), meningitis (Sharma ve Sur 1967), pnömoni (Gottschalk 1972; Sydow ve ark. 1986; Karapehlivan ve ark. 2007b;), *Tropanozoma vivax* enfeksiyonu (Esievo ve ark. 1982), kronik bovine-hematuri (Singh ve ark. 1980), distemper (Altıntaş ve ark. 1989), sığır lökozu (Sydow ve ark. 1988), theileriozis, anaplazmozis (Ertekin ve ark. 2000), sığır leptospirozisi (Keleş ve ark. 2000; Erdoğan ve ark. 2008) gibi hastalıklarda serum SA düzeylerinde önemli değişimler olduğu da bildirilmiştir.

Noenatal buzağların önemli bir sağlık sorunu olan ishalin hematolojik ve biyokimyasal parametrelerde değişikliğe neden olabileceği sıklıkla bildirilmişken (Başoğlu 1989, Turgut ve ark 1992; Şahal ve ark 1994; Özkan ve Akgül 2004) serum SA düzeylerinin belirlendiği çalışmalar sınırlı sayıda bulunmaktadır. Bu çalışmada klinik olarak ishalin belirlendiği vakalarda serum SA (total ve lipit bağlı), total protein (TP), albumin, globulin, demir, magnezyum, kalsiyum ve fosfor düzeylerindeki değişikliklerin araştırılması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Bu çalışmada, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Kliniği'ne getirilen ve yaşları 1-30 gün arasında değişen 15'i sağlıklı, 25'i ishalleri toplam 40 Montofon ırkı buzağı kullanıldı.

Klinik muayene ve kan örnekleri

Hasta hayvanların teşhisi klinik bulgular temel alınarak yapıldı. Tüm hayvanların rutin klinik muayeneleri yapıp ishal teşhisi konulduktan sonra serum analizleri için vena

jugularisten antikoagülsüz tüplere 10 ml kan alındı. Alınan kanlar oda ısısında 1 saat bekletildikten sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar analize kadar -20°C'de saklandı.

Biyokimyasal analizler

Serum TSA analizleri Sydow'un metoduna (Sydow 1985), LSA analizleri ise Katapodis ve ark. (1980)'nin metoduna göre kolorimetrik olarak spektrofotometrede (UV-1201, Shimadzu, Japan) ölçüldü. Ca, Mg, P, Fe, TP ve albümin parametreleri ticari kitlerle (IBL, Ankara-Türkiye) spektrofotometrik olarak belirlendi.

İstatistiksel analiz

Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak gösterilmiştir. İstatistiksel analizlerde gruplar arasındaki farklılıkların önem derecelerini belirlemek için SPSS programında paired one-tailed student t-testi kullanıldı.

BULGULAR

Bu çalışmada buzağlarda oldukça sık görülen ishal vakalarında serum TSA ve LSA, kalsiyum, fosfor ve magnezyum, demir, albümin ve total protein düzeyleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

İshalleri buzağlarda ortalama TSA düzeyi 846.79 \pm 56.58 mg/L ve LSA düzeyi 280.36 \pm 24.41 mg/L olarak belirlenirken, kontrol grubunda TSA düzeyi 626.86 \pm 25.83 mg/L, LSA ise 161.04 \pm 19.40 mg/L olarak tespit edildi. Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak önemli bulundu (p<0.01).

Serum P ve TP değerleri ishalleri hayvanlarda sırasıyla 81.68 \pm 3.77 mg/l ve 52.65 \pm 5.55 g/L, kontrol grubundaki hayvanlarda ise 99.03 \pm 8.87 g/L ile 65.63 \pm 3.3 g/L olarak belirlenirken iki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli bulunurken (p<0.05) serum Ca, Mg ve albümin değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak bir farklı bulunmadı.

Kontrol grubundaki Fe miktarı 1.6 \pm 0.31 mg/L olarak belirlenirken ishalleri hayvanlarda 0.74 \pm 0.06 mg/L olarak tespit edildi ve iki grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulundu (p<0.001).

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen buzağlardan elde edilen serum sialik asit ve biyokimyasal parametre düzeyleri (ortalama \pm Standart hata)

Table 1. Included in the study were obtained from calf serum sialic acid and biochemical parameter levels (mean \pm standart error)

Parametre	Kontrol (n=15)	İshalleri (n=25)	P
TSA (mg/L)	626.86 \pm 25.83b	846.79 \pm 56.58a	P<0.01
LSA (mg/L)	161.04 \pm 19.40b	280.36 \pm 24.41a	P<0.01
Ca (mg/L)	90.98 \pm 9.44	89.18 \pm 5.79	ns
P (mg/L)	99.03 \pm 8.87a	81.68 \pm 3.77b	P<0.05
Mg (mg/L)	22.93 \pm 2.01	21.29 \pm 1.06	ns
Fe (mg/L)	1.60 \pm 0.31a	0.74 \pm 0.06b	P<0.001
Alb (g/L)	30.79 \pm 3.70	28.52 \pm 1.85	ns
TP (g/L)	52.65 \pm 5.55b	65.63 \pm 3.30a	P<0.05

ns: istatistiksel fark yok,

ab: aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki istatistiksel fark önemlidir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

İshal, buzağılarda gelişme geriliği ile yüksek morbidite ve mortaliteye yol açtığından ülkemizde önemli ekonomik kayıplara neden olan bir problemdir (Çitil ve ark 2003; Özkan ve Akgül 2004). Bu çalışmada Kars ve yöresindeki buzağılarda da oldukça sık rastlanılan ishal vakalarında ve klinik olarak sağlıklı buzağılarda serum sialik asit ve diğer bazı biyokimyasal parametre düzeyleri belirlenmiştir.

Serum TSA seviyelerinin belirlenmesi, Veteriner hekimlikte birçok hastalığın tanısı ve prognozu hakkında fikir edinmek için gün geçtikçe artan bir oranda kullanılmaktadır (Singh ve ark. 1980; Motoi ve ark. 1984; Sydow ve ark. 1988; Altıntaş ve ark. 1989; Ertekin ve ark. 2000; Keleş ve ark. 2000; Çitil ve ark. 2004; Karapehlivan ve ark. 2007a; Karapehlivan ve ark. 2007b; Erdoğan ve ark. 2008). Sığırlarda yapılan bir çalışmanın kontrol grubunda TSA düzeyleri sağlıklı buzağılarda 2.9 ± 0.5 mmol/l (89.75 ± 15.5 mg/dl) ve sağlıklı gebe sığırlarda 2.4 ± 0.3 mmol/l (74.25 ± 9.2 mg/dl) olduğu bildirilmiştir (Sydow ve ark. 1988). Çalışmamızda kontrol grubundaki buzağılardan elde edilen serum TSA değerleri Sydow ve ark. (1988)'nin bildirdiği bu değerler ile benzerlik göstermektedir. Serum SA düzeylerinde yaş (Sydow ve ark. 1988), ırk (Kinsella 1968), cinsiyet ve gebeliğe (Sydow 1988) bağlı olarak değişimler gözlenebileceği de bildirilmektedir.

Çalışmada ishalleri buzağılardan elde edilen serum TSA düzeylerinde sağlıklı buzağılara göre istatistiksel olarak önemli seviyede artışlar tespit edildi. Bu artışlar, ishal olguları ile birlikte hayvanlarda yoğun doku hasarı ve yangısal bozuklukların görüldüğünü düşündürmektedir. Serum TSA düzeylerindeki bu artışın araştırmacıların bildirdiğine uygun olarak yangısal süreçte oluşan doku harabiyeti sonucu savunma mekanizmasına bağlı karaciğerde sialoprotein sentezinin artmasından da kaynaklanabilir (Carter ve Martin 1962; Thougard ve ark. 1998). Serum TSA düzeyleri, özellikle LSA düzeyinin belirlenmesinin yangısal hastalıkların tanısı ile sığırlarda postoperatif durumun prognozunda bir gösterge olacağı bildirilmiştir (Abramjan ve ark. 1968; Tsolov ve ark. 1973; Motoi 1984).

İshalleri hayvanların serum TP düzeyinin sağlıklılardan önemli derecede yüksek olduğu belirlendi. Sağlıklı buzağılarda elde edilen serum TP, albumin, değerleri sığırlar için bildirilen referans değer aralığındadır (Roussel ve ark. 1997; Turgut 2000). İshalleri buzağılara ait serumlarda ise TP değerinde artış, albumin değerinde düşüş tespit edildi. Total protein düzeyindeki artışın, serum SA değerlerindeki artışa bağlı olarak yangısal süreçte doku harabiyeti sonucu savunma mekanizmasına bağlı globulin artışı ile birlikte karaciğerde sialoprotein sentezinin hızlanmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Zira dolaşımdaki SA'lerde oluşabilecek herhangi bir artışın SA bağlayan proteinlerin sentezini uyardığı da bildirilmiştir (Carter ve Martin 1962; Thougard ve ark. 1998). Ayrıca TP düzeyindeki artış ile albumin düzeyindeki düşüşün yangının bir göstergesi olabileceği ve TP'deki bu artışın özellikle hiperfibrinogenemiden kaynaklanabileceği de rapor edilmiştir (Kaneko ve ark. 1997).

Çalışmada P ve Fe ishalleri buzağılarda düşük olarak belirlenmiştir. Buzağılarda deneysel olarak *Salmonella dublin* ile oluşturulan ishallerde, ilk 24 saat içerisinde demir bağlama kapasitesini orta derecede arttırdığı ve bunu müteakiben serum Fe seviyesinin hızlı bir şekilde düşerek akut ve önemli seviyede bir hipoferrininin oluştuğu

bildirilmiştir (Piercy 1979). Benzer şekilde yeni doğan buzağılarda doğal şartlarda oluşan şiddetli ishalleri takiben Fe yutmezliğinin görüldüğü de rapor edilmiştir (Yoshimi 2006). İshalleri buzağılarda serumlarında düşük P ve Fe değerinin malabsorbsiyon ve anoreksiden kaynaklanabileceği de (Kraft ve Dürr 1999, Turgut 2000) araştırmacılar tarafından bildirilmektedir.

Bu çalışmada ishalleri buzağılarda belirlenen serum SA düzeyleri ile yangının varlığını destekleyen TP ve albumin bulguları yangısal olayların tespiti ve prognozunda serum SA düzeylerini belirleyen daha ileri çalışmalara temel oluşturabileceği kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- Abramjan ET, Kamaljan VG (1968).** Biochemical aspects in investigation of mastitis in cows. *V. International meeting on diseases of cattle*. September 13-17, Opatija, Yugoslavia.
- Allen SD, White RD (1995).** Dairy calf diarrhoea. *Agri-Pract*, 4 (4), 23.
- Altıntaş A, Kurtdede A, Fidancı UR, Borkü MK (1989).** Köpek gençlik hastalığında (distemper) serum sialik asit ve protein düzeylerinin klinik önemi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 36 (1), 154-164.
- Aslan V (1994).** Neonatal ishaller. Veteriner İç Hastalıkları. Mimoza Yayınları, Konya, s. 80-188.
- Başoğlu A (1989).** İshalleri ve sağlıklı buzağılarda klinik, laboratuvar ve elektrokardiyografik araştırmalar. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya.
- Bendali F, Bichet H, Schelcher F, Sana M (1999).** Pattern of diarrhoea in newborn calves in South-West France. *Vet Res*, 30 (1), 61-74.
- Blix G, Gottschalk A, Klenk E (1957).** Proposed nomenclature in the field of neuraminic and sialic acids. *Nature*, 175, 340.
- Carter A, Martin NH (1962).** Serum sialic levels in health and disease. *J Clin Path*, 15, 69-72.
- Crook M (1993).** The determination of plasma or serum sialic acid. *Clin Biochem*, 26, 31-38.
- Çitil M, Güneş V, Karademir B (2003).** 1996-2001 Yılları arası Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Kliniğine getirilen ishalleri buzağılar üzerine retrospektif bir çalışma. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 9 (1), 39-42.
- Çitil M, Karapehlivan M, Güneş V, Atakişi E, Uzlü E (2004).** Septisemi şüpheli buzağılarda serum sialik asit ve bazı biyokimyasal parametre düzeyleri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 10 (1), 19-22.
- Erdoğan HM, Karapehlivan M, Çitil M, Atakişi O, Uzlü E, Unver A (2008).** Serum sialic acid and oxidative stress parameters changes in cattle with leptospirosis. *Vet Res Commun*, 32, 333-339.
- Ertekin A, Keleş I, Ekin S, Karaca M, Akkan HA (2000).** Kan parazitli hayvanlarda sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeylerinin araştırılması. *YYU Vet Fak Derg*, 11 (1), 34-35.
- Esievo KAN, Saror DI, İlemobade AA, Hallaway M H (1982).** Variation in erythrocyte surface and free serum sialic acid concentrations during experimental Trypanosoma vivax infection in cattle. *Res Vet Sci*, 32 (1), 1-5.
- Gottschalk A (1972).** Glycoproteins, Their Composition, Structure and Function Revised and Expanded. 2nd Ed. Part A. Elsevier Publication Co, Amsterdam, London, New York. pp. 403-408.
- Gül Y (1990).** Yeni doğan buzağılarda ishal ile seyreden enfeksiyöz hastalıklar. *Türk Vet Hek Derg*, 2 (7-8), 48-54.
- Haq M, Haq S, Tutt P, Crook M (1993).** Serum total sialic acid and lipid-associated sialic acid in normal individuals patients with myocardial infarction and their relationship to acute phase proteins. *Ann Clin Biochem*, 30, 383-386.
- İmren HY (1983).** Buzağı ve kuzularda septisemik hastalıklar. *Uludağ Üniv Vet Fak Derg*, 2 (2): 103-110.
- Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (1997).** Clinical Biochemistry of Domestic Animal. 5th Ed. Academic Press, London, UK., pp. 129-134.

- Katopodis N, Stock C (1980).** Improved method to determine lipid bound sialic acid in plasma or serum. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 30, 171-180.
- Karapehlivan M, Uzlu E, Kaya N, Kankavi O, Ural K, Çitil M (2007a).** Investigation of some biochemical parameters and antioxidant system in calves with dermatophytosis. *Turk J Vet Anim Sci*, 31 (2), 85-89.
- Karapehlivan M, Atakişi E, Çitil M, Kankavi O, Atakişi O (2007b).** Serum sialic acid levels in calves with pneumonia. *Vet Res Commun*, 31, 37-41.
- Keles I, Ertekin A, Karaca M, Ekin S, Akkan HA (2000).** Sığırların, leptospirozisinde serum sialik asit ve lipid-bağlı sialik asit düzeyleri üzerine araştırma. *YYÜ Vet Fak Derg*, 11 (1), 121-122.
- Kinsella EJ (1968).** Sialic acid content of ruminant blood serum. *J Dairy Sci*, 51, 1303-1305.
- Kraft W, Dürr UM (1999).** Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin 5. Auflage, Stuttgart, New York, Schattauer Verlag, Germany.
- Motoi Y (1984).** Determination and clinical evaluation of sialic acid and mucoprotein in bovine blood. *Nat Inst Anim Health*, 37, 643-649.
- Piercy DWT (1979).** Acute phase responses to experimental salmonellosis in calves and colibacillosis in chickens: Serum iron and caeruloplasmin. *J Comp Path*, 89 (3), 309-319.
- Rosenberg A, Schengrund C (1976).** Biological Roles of Sialic Acid. Plenum Press, New York, pp 143-149.
- Roussel AJ, Whitney MS, Cole DN (1997).** Interpreting a bovine serum chemistry profile: Part 1. *Vet Med*, 92, 553-558.
- Schauer R (1982).** Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acid. *Adv Carbohydr Chem Biochem*, 40, 131-234.
- Sharma NC, Sur BK (1967).** Serum fucose and sialic acid levels in Indian children and adults. Under normal and pathological conditions. *Indian J Med Res*, 55, 380-384.
- Singh B, Choudhuri PC, Joshi HC (1980).** Serum mucoprotein and sialic acid enzootic bovine haematuria. *Zbl Vet Med A*, 27 (8), 678-681.
- Stefenelli N, Klotz H, Engel A, Bauer P (1985).** Serum sialic acid in malignant tumours. Bacterial infections and chronic liver diseases. *J Cancer Res Clin Oncol*, 109, 55-59.
- Sydow G (1985).** A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomed. Biochim Acta*, 44, 1721-1723.
- Sydow G, Morack G, Jung U, Semmler K, Christ S (1986).** Der Sialinsäuregehalt des Serums bei Krebs, Schwangerschaft sowie Infektionen der oberen Atemwege. *Arch Geschwulstforsch*, 56, 413-417.
- Sydow G, Wittmann W, Bender E, Starick E (1988).** Der Sialinsäuregehalt im Serum von mit Bovinem Leukosevirus infizierten Rindern. *Arch Exper Vet Med*, 42, 194-197.
- Şahal M, Kurtkede A, Börkü MK, Ünsüren H, İmren HY, Özlem MB, Kalmınbacak A (1994).** Yenidoğan ishalli buzağların klinik bulguları ve asit-baz dengesi dikkate alınarak sodyum bikarbonat ve elektrolitik sıvılarla sağaltımı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 41 (3-4), 509-525.
- Taniuchi K, Chifu K, Hayashi N, Nakamachi Y, Yamaguchi N, Miyamoto Y, Doi K, Baba S, Uchida Y, Tsukada Y, Sugimori T (1981).** A new enzymatic method for the determination of sialic acid in serum and its application for a marker of acute phase reactants. *Kobe J Med Sci*, 27, 91-102.
- Thougaard AV, Hellmen E, Jensen AL (1998).** Total serum sialic acid is a general disease marker rather than a specific tumour marker in dogs. *J Vet Med A*, 45, 471-479.
- Tsolov V, Tsonev P, Galbinov G, Kamburov G (1973).** Untersuchungen über die Veränderungen und den diagnostischen Wert der Sialsäure in Kuhmilch bei subklinischen Mastitis-Formen. *Zbl Vet Med B*, 20, 577-583.
- Turgut K (2000).** Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Genişletilmiş 2. Baskı, Bahçivanlar Basım Sanayi AŞ, Ankara.
- Yoshimi O (2006).** Anemia in newborn calves and effect of supplemental iron agents. *J Livestock Med*, 512, 105-111.