

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

**YENİ DOĞAN BUZAĞILARDA İSHALE BAĞLI ÖLÜMCÜL HASTALIĞIN
TEŞHİSİNE YÖNELİK SERUM BİYOBELİRTEÇLERİ TEMELİNDE MAKİNE
ÖĞRENİMİ İLE HIZLI TEŞHİS YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NURİ CERAN

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. RAFİG GURBANOV

BİLECİK, 2025

10746105

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

**YENİ DOĞAN BUZAĞILARDA İSHALE BAĞLI ÖLÜMCÜL HASTALIĞIN
TEŞHİSİNE YÖNELİK SERUM BİYOBELİRTEÇLERİ TEMELİNDE MAKİNE
ÖĞRENİMİ İLE HIZLI TEŞHİS YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
NURİ CERAN

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. RAFİG GURBANOV

BİLECİK, 2025

10746105

BEYAN

“Yeni Doğan Buzağlarda İshale Bağlı Ölümcül Hastalığın Teşhisine Yönelik Serum Biyobelirteçleri Temelinde Makine Öğrenimi İle Hızlı Teşhis Yönteminin Geliştirilmesi ” adlı yüksek lisans tezinin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu tez çalışması, E-86837521-050.99-257260 numaralı etik kurul kararı kapsamında yürütülmüştür.			
DESTEK ALINMIŞTIR		DESTEK ALINMAMIŞTIR	X
Destek alındı ise;			
Destekleyen kurum;			
Desteğin Türü		Proje Numarası	
1- BAP (Bilimsel Araştırma Projesi)			
2- TÜBİTAK			
Diğer;.....			
ETİK KURUL onayı var ise;			
ETİK KURUL karar tarih/sayı:		26.09.2022/ E-86837521-050.99-257260	

Nuri CERAN

Tarih

İmza

ÖN SÖZ

Tez çalışmam boyunca danışmanlığımı yürüten ve tez konumun belirlenmesinden çalışmanın sonuçlandırılmasına kadar değerli görüş ve önerilerini sunan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Doç. Dr. Rafig GURBANOV'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca bilgilerinden yararlandığım, desteklerini hiçbir şekilde esirgemeyen ve her koşulda yanımda olan Öğr. Gör. Sevinç KARAÇAM KOŞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim de dâhil olmak üzere hayatımın her anında maddi ve manevi destekleriyle yanımda olan çok kıymetli annem Nimet CERAN, çok kıymetli babam Ali CERAN, kardeşlerime ve diğer aile bireylerime sonsuz teşekkür ederim.

Ve teşekkürlerin en büyüğünü hak eden, hayatımın her alanında olduğu gibi yüksek lisans eğitimim boyunca da her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen çok kıymetli eşim Gözde CERAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Nuri CERAN

2025

ÖZET

YENİ DOĞAN BUZAĞILARDA İŞHALE BAĞLI ÖLÜMCÜL HASTALIĞIN TEŞHİSİNE YÖNELİK SERUM BİYOBELİRTEÇLERİ TEMELİNDE MAKİNE ÖĞRENİMİ İLE HIZLI TEŞHİS YÖNTEMİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Bu çalışma, ATR-FTIR spektroskopisi ve makine öğrenimi temelli öngörücü analizlerin entegre kullanımıyla, yenidoğan buzağı ishalinin hızlı, duyarlı ve invaziv olmayan biçimde teşhis edilmesine yönelik yenilikçi bir tanı platformu sunmaktadır. Yenidoğan buzağı ishalleri, sığır yetiştiriciliğinde ciddi ekonomik kayıplara ve hayvan refahı sorunlarına yol açan başlıca hastalıklardan biridir. Mevcut tanı yöntemlerinin zaman alıcı ve invaziv olması, erken teşhis ve müdahaleyi güçleştirmektedir. Çalışmada, sağlıklı (S), hasta (H) ve iyileşen (İ) buzağılardan elde edilen serum örneklerinin özgün biyokimyasal parmak izleri analiz edilmiştir. Spektral veriler ön işleme tabi tutulmuş, Temel Bileşen Analizi (PCA) ile indirgenmiş ve ardından Doğrusal Ayrım Analizi (LDA) ile Destek Vektör Makineleri (SVM) kullanılarak sınıflandırılmıştır. Bu öngörücü modeller, buzağının fizyolojik durumlarını yüksek doğrulukla ayırt ederek önerilen sistemin güvenilir bir tanı aracı olabileceğini ortaya koymuştur. Çalışmanın bir diğer özgün katkısı, PO_2^- simetrik gerilme bandının Amide A bandına oranından türetilen yeni bir spektrokimyasal gösterge olan $1080\text{ cm}^{-1}/3300\text{ cm}^{-1}$ indeksidir. Bu indeks, hastalığın ilerlemesi ve iyileşmesiyle ilişkili moleküler değişimleri yansıtarak tanısal doğruluğu güçlendirmekte ve erken müdahale için kantitatif bir parametre sunmaktadır. Ayrıca, serum kızılötesi spektroskopisi kullanılarak hastalık patogenezinde rol oynayan biyomoleküler işaretler tanımlanmış, $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki kritik bantlar belirlenmiş ve lipid, protein ve nükleik asit düzeylerindeki değişimler nitel ve nicel olarak analiz edilmiştir. Bant alanı, bant genişliği ve ROC analizleri ile bu değişimlerin patogeneze ile ilişkisi değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, spektral verilerin kolay yorumlanabilir bir metriğe dönüştürülmesi, yenidoğan buzağı ishalinin erken teşhisini mümkün kılarak hayvan refahının iyileştirilmesine ve sürdürülebilir hayvancılık yönetimine önemli katkılar sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Yenidoğan Buzağı İshali, Kızılötesi Spektroskopisi, Öngörücü Analiz, Makine Öğrenimi, Spektrokimyasal İndeks, İnvaziv Olmayan Tanı

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF A RAPID DIAGNOSTIC METHOD USING MACHINE LEARNING BASED ON SERUM BIOMARKERS FOR THE DIAGNOSIS OF FATAL DIARRHEAL DISEASE IN NEONATAL CALVES

This study presents an innovative diagnostic platform that enables the rapid, sensitive, and non-invasive detection of neonatal calf diarrhea through the integrated use of ATR-FTIR spectroscopy and machine learning-based predictive analysis. Neonatal calf diarrhea is one of the major diseases causing significant economic losses and animal welfare issues in cattle farming. The fact that current diagnostic methods are time-consuming and invasive limits the possibilities for early diagnosis and intervention. In this study, the unique biochemical fingerprints of serum samples obtained from healthy (S), diseased (H), and recovered (I) calves were analyzed. The spectral data were preprocessed, reduced using Principal Component Analysis (PCA), and then classified through Linear Discriminant Analysis (LDA) and Support Vector Machines (SVM). These predictive models successfully distinguished the physiological states of the calves with high accuracy, demonstrating the reliability and potential of the proposed system as a diagnostic tool. Another novel contribution of this study is the development of a new spectrochemical indicator, the $1080\text{ cm}^{-1}/3300\text{ cm}^{-1}$ index, derived from the ratio of the symmetric stretching band of PO_2^- to the Amide A band. This index reflects molecular changes associated with disease progression and recovery, thereby enhancing diagnostic accuracy and providing a quantitative parameter for early intervention. Additionally, by employing serum infrared spectroscopy, the study identified biomolecular markers involved in disease pathogenesis, determined critical bands within the $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ wavenumber range, and analyzed qualitative and quantitative alterations in lipid, protein, and nucleic acid levels. The relationship of these changes with pathogenesis was evaluated using band area, band width, and ROC analyses. In conclusion, the transformation of spectral data into an easily interpretable metric enables the early diagnosis of neonatal calf diarrhea, contributing to improved animal welfare and the advancement of sustainable livestock management practices.

Keywords: Neonatal Calf Diarrhea, Infrared Spectroscopy, Predictive Analysis, Machine Learning, Spectrochemical Index, Non-Invasive Diagnosis

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖN SÖZ.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. Hastalığa Neden Olan Başlıca Etmenler	4
2.1.1. <i>Escherichia coli</i>	5
2.1.2. <i>Salmonella enterica</i>	6
2.1.3. Bovine <i>Coronavirus</i> (BCV) ve Bovine <i>Rotavirus</i> (BRV).....	7
2.1.4. <i>Cryptosporidium parvum</i>	7
2.2. Yenidoğan Buzağı İshallerinde Tedavi Yöntemleri	8
2.3. Yenidoğan Buzağı İshallerinde Tanı Yöntemleri	9
2.4. Neden Serumla Çalışılır?	11
2.5. Yaygın Olarak Kullanılan Serum Biyobelirteçleri	11
2.6. Zayıflatılmış Toplam Yansıma Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (ATR-FTIR) Spektroskopisi.....	12
2.7. Makine Öğrenmesi	14
2.7.1. Temel Bileşen Analizi (TBA, İng. Principal Component Analysis – PCA).....	15
2.7.2. Doğrusal Ayrım Analizi (DAA, İng. Linear Discriminant Analysis – LDA)..	15
2.7.3. Destek Vektör Makineleri (DVM, İng. Support Vector Machines – SVM) ...	15
2.7.4. Tekil Değer Ayrıştırma (TDA, İng. Singular Value Decomposition – SVD)..	15
3. MATERYAL VE METOT	17

3.1. Hayvan Gruplarının Oluşturulması, Bireylerden Tam Kan Örneğinin Toplanması Ve Serum Ayrıştırma Çalışmaları.....	17
3.2. ATR-FTIR Spektroskopisi İle Serum Çalışmaları: Seruma Özgü Potansiyel Biyobelirteçlerin Tespiti Ve İlgili Spektral Parametrelerin Kantitatif Hesaplamaları	17
3.3. Öngörücü Analizler	18
3.4. İstatistiksel Analizler	19
3.5. Spektral Parametrelerin Ayrımsal Doğrulaması İçin ROC Analizi	20
4. BULGULAR.....	21
4.1. Serum Kızılötesi Spektroskopisi Ve Öngörücü Makine Öğrenimi Analizleri Kullanılarak Yenidoğan Buzağı İshali İçin Hızlı Tanı Platformu Geliştirilmesi.....	21
4.2. Serum Kızılötesi Spektroskopisi Kullanılarak Hastalık Patogenezinde Rol Oynayan Biyomoleküler İşaretlerin Belirlenmesi	29
4.2.1. Serum Lipit Biyomolekülleri Üzerindeki Değişimler	31
4.2.2. Serum Protein Biyomolekülleri Üzerindeki Değişimler	34
4.2.3. Serum Nükleik Asit Biyomolekülleri Üzerindeki Değişimler	36
5. TARTIŞMA	38
6. SONUÇ.....	52
KAYNAKÇA	54

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1. Vücut sıvısı numunelerinin kızılötesi spektrumları için ortak bant tanımlamaları	21
Tablo 4.2. Parmak izi (1800-650 cm^{-1}) kızılötesi spektral penceresinde yenidoğan buzağı serumu için tahmin matrisi. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).	25
Tablo 4.3. Parmak izi (1800-650 cm^{-1}) kızılötesi spektral penceresinde yenidoğan buzağı serumu için karışıklık matrisi. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).	26
Tablo 4.4. 4000-650 cm^{-1} kızılötesi spektral bölgesindeki S (Sağlıklı), H (Hastalıklı) ve İ (İyileşmiş) yenidoğan buzağı gruplarının ortalama serum spektrumlarındaki kritik değişimler gözlemlenen bantlar ve tanımlamaları.	30

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 4.1.** Parmak izi ($1800-650\text{ cm}^{-1}$) kızılötesi spektral penceresindeki yeni doğan buzağı serumu için ayırım grafiği. Mahalanobis yöntemi kullanılarak 10 ana bileşenin projeksiyonu için Doğrusal Ayırım Analizi (LDA) kullanıldı. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş)..... **23**
- Şekil 4.2.** C-H gerilme ($4000-2500\text{ cm}^{-1}$) kızılötesi spektral pencerede yeni doğan buzağı serumu için sınıflandırma grafiği. Destek Vektör Makinesi (SVM) sınıflandırması, SVM türü kullanılarak uygulandı: Sınıflandırma (nu-SVC), Çekirdek türü: Doğrusal, Nu değeri: 0,5, Ağırlıklar: Hepsi 1,00, Çapraz doğrulama segmentleri: 30. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş)..... **24**
- Şekil 4.3.** Yenidoğan buzağı serumunun a) tam ($4000-650\text{ cm}^{-1}$), b) C-H gerilme ($4000-2500\text{ cm}^{-1}$) ve c) parmak izi ($1800-650\text{ cm}^{-1}$) kızılötesi spektral pencerelerindeki ortalaması alınmış, temel çizgi düzeltilmiş ve normalize edilmiş kızılötesi spektrumları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş)..... **27**
- Şekil 4.4.** Yenidoğan buzağı serumundaki spektral bantların kantifikasyonu. a) 3300 cm^{-1} 'deki NH gerilme Amid A bandı, b) 1080 cm^{-1} 'deki PO_2^- simetrik gerilme bandı ve c) spektrokimyasal gösterge ($1080\text{ cm}^{-1}/3300\text{ cm}^{-1}$). S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş)..... **28**
- Şekil 4.5.** Yenidoğan buzağı serumlarındaki lipit parametreleri ile ilişkili spektral bantların kantifikasyonu ve ROC analizi sonuçları. a) CH_2 antisimetrik (2922 cm^{-1}) bandının integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. b) Yağ asitlerinin açıl zincir uzunluğu indeksinin (A_{2922}/A_{2966}) integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş)..... **31**
- Şekil 4.6.** Yenidoğan buzağı serumlarındaki lipit parametreleri ile ilişkili spektral bantların bant genişliklerinin kantifikasyonu ve ROC analiz sonuçları. a) CH_2 antisimetrik (2922 cm^{-1}) bant bölgesinin bant genişliği grafiği, H - S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. b) Membran lipit dinamiği (Bw_{2922}/Bw_{2966}) indeksinin grafiği, H- S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş), Bw (Bant genişliği)..... **32**
- Şekil 4.7.** Yenidoğan buzağı serumlarındaki protein parametreleri ile ilişkili spektral bantların integral alan kantifikasyonu ve ROC analiz sonuçları. a) Protein fosforilasyonu (A_{1080}/A_{1540}) indeksinin grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. b) Protein karbonilasyonu (A_{1740}/A_{1540}) indeksinin grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş)..... **34**

Şekil 4.8. Yenidoğan buzağı serumlarındaki nükleik asit parametreleri ile ilişkili spektral bantların integral alan kantifikasyonu ve ROC analiz sonuçları. a) PO_2^- antisimetrik gerilme (1240cm^{-1}) bandının integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC’ları. b) C-O RNA Ribozu (1116cm^{-1}) bandının integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC’ları. c) C-O-C gerilme (898cm^{-1}) bandının integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC’ları. d) Nükleik asit/Protein içeriği ($A_{(1240+1080)}/A_{(1650+1540)}$) indeksinin grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC’ları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş). ... **36**



KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

(A:G): Albümin-Globulin Oranı

°C: Santigrat

AI: Yapay Zeka

ATR: Zayıflatılmış Toplam Yansıma

ATR-FTIR spektroskopisi: Zayıflatılmış Toplam Yansıma Fourier Dönüşümlü Kızılötesi

BRD: Sığır Solunum Yolu Hastalığı

BRV: Bovine Rotavirus

BVC: Bovine coronavirus

C. andersoni : *Cryptosporidium andersoni*

C. bovis: *Cryptosporidium bovis*

C. parvum: *Cryptosporidium parvum*

C. ryanae : *Cryptosporidium ryanae*

Cl: Klor

cm: Santimetre

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

e.coli: *Escherichia coli*

ELISA: Enzim Bağlı İmmünosorbent Testi

EM: Elektron Mikroskobu

ETEC: Enterotoksijenik *E. coli*

FMT: Dışkı Mikrobiyota Nakli

FPT: Antikorların Pasif Transferi

FTIR spektroskopisi : Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi

FTPI: Pasif Bağışıklık Transferinin Başarısızlığı

g/L: Litre Başına Gram

H: Hasta

HCO₃: Bikarbonat

Hpt: Haptoglobin

Ig: İmmunoglobulin

IL-6: İnterlökin 6

IR: Kızıl Ötesi

İ: İyileşmiş

K: Potasyum

L: Litre

LDA: Lineer Diskriminant Analizi

ml: Mililitre

mmol/L: Litre Başına Milimol

MÖ: Makine Öğrenimi

NCD: Yenidoğan Buzağı İshali

NMR: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi

PCA: Temel Bileşen Analizi

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

RNA: Ribonükleik Asit

ROC: Alıcı Çalışma Karakteristiği

RT-PCR: Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu

S: Sağlıklı

SE: Standart Hatası

SVD: Tekil Değer Ayrıştırma

SVM: Destek Vektör Makineleri

Zn/Se: Çinko Selenid

β: Beta

μm: Mikrometre

1. GİRİŞ

Yenidoğan buzağı ishali, yaygın olarak buzağı ishali olarak adlandırılan ve genç buzağılarda sıklıkla karşılaşılan önemli bir hastalıktır. Dünya genelinde sığır yetiştiriciliğinde ekonomik kayıpların başlıca nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir (Wilson vd., 2022). Buzağı ishali; enfeksiyöz etkenler, çevresel koşullar ve buzağının bireysel duyarlılığı arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan çok faktörlü bir hastalık olup hem kısa hem de uzun vadeli üretkenliği olumsuz etkiler. Nitekim, ishal nedeniyle tedavi gören buzağılarda büyüme performansı ve ilk laktasyon süt verimi azalmaktadır (Muktar vd., 2015; Wilson ve vd., 2022).

Hastalık, yalnızca buzağı sağlığı ve refahını değil, aynı zamanda üreticiler için ekonomik sürdürülebilirliği de tehdit etmektedir. Mortalite, düşük performans ve tedaviye bağlı işçilik ile ilaç maliyetleri ekonomik yükü artırmaktadır. Buzağı ishal salgınlarını belirleyen faktörler genellikle üç ana başlık altında toplanır: etken faktörler, konak duyarlılığı ve çevresel koşullar (Smith, 2012). Hastalık çoğunlukla bu faktörlerin bir araya gelmesiyle, buzağının savunma mekanizmalarının zayıfladığı durumlarda ortaya çıkar. Tek bir patojen ishal gelişimine neden olabilsede, sahada çoğunlukla eş zamanlı enfeksiyonlar gözlenir. Hastalığın gelişmesi için patojenle yeterli süre ve dozda etkili temasın gerçekleşmesi gerekir (Smith, 2012).

Epidemiyolojik veriler, buzağı ishalinin kontrolünü zorlaştıran çoklu bulaşıcı ve bulaşıcı olmayan faktörlere işaret etmektedir (Izzo vd., 2011). Viral, bakteriyel ve protozoal etkenler sıklıkla bir arada bulunmakta ve eş enfeksiyonlar yaygın şekilde rapor edilmektedir. Patojen prevalansı ve hastalık insidansı coğrafi koşullara, sürü yönetimine ve işletme büyüklüğüne bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Cho ve Yoon, 2014). Yetersiz kolostrum alımı, düşük hijyen koşulları, stres, aşırı hayvan yoğunluğu ve olumsuz iklim koşulları bulaşıcı olmayan risk faktörleri arasında sayılmaktadır (Muktar vd., 2015).

Dünya genelinde süttan kesim öncesi buzağı ölümlerinin %50'den fazlası ishale bağlıdır ve olguların çoğu yaşamın ilk ayında görülmektedir (Lee vd., 2019). Buna bağlı maliyetler bölgesel koşullara ve etkili olan patojene göre farklılık göstermektedir (Windeyer vd., 2014; Urie vd., 2018; Jessop vd., 2024). Türkiye'de de süt sığırcılığında en önemli sorunlardan biri yüksek buzağı kayıplarıdır. Gelişmiş ülkelerde doğum sonrası buzağı mortalitesi %2-3 düzeyindeyken, ülkemizde bu oran %15'e ulaşmaktadır. 2016 TÜİK verilerine göre toplam sığır varlığı 14.080.155 baş olup, bunun yaklaşık üçte birinin damızlık

niteliğinde olduğu varsayıldığında yılda 4,7 milyon buzağının doğduğu hesaplanmaktadır. İdeal koşullarda bile %5 oranında kayıp normal kabul edilirken, ülkemizde bu oranın yaklaşık iki katı, yani 470.000 civarında buzağı kaybı yaşanmaktadır (Karlı ve Evci, 2018).

Avrupa’da mortalite oranları işletmelerin yönetim düzeyine göre değişmekte; iyi işletmelerde %5’in altında, yetersiz yönetilen işletmelerde ise %50’ye varan kayıplar görülebilmektedir (Şahal ve vd., 2018). Hastalığın prevalansı Kanada’da %23 iken, İran’da %58’e kadar çıkmaktadır. Sık rastlanan etkenler arasında sığır rotavirüsü, koronavirüs, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens* ve *Cryptosporidium parvum* yer almakta olup, bu patojenler sağlıklı buzağılarda da saptanabilmektedir. Bu durum hastalığın çok faktörlü doğasını desteklemektedir. Ayrıca, gastrointestinal mikrobiyota, besin emilimi, bağışıklık düzenlenmesi ve bağırsak gelişimi açısından kritik rol oynamaktadır. Disbiyozis, gastrointestinal bozukluklarla ilişkili olsa da patojen istilasından önce mi yoksa sonra mı geliştiği henüz netlik kazanmamıştır (Gomez vd., 2017; Kim vd., 2021).

Tedavide temel yaklaşım erken tanı, sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması ve gerektiğinde hedefe yönelik antimikrobiyal uygulamasıdır (Urie vd., 2018). Oral veya intravenöz sıvı tedavisi, 100–120 mmol/L sodyum ve 50–80 mmol/L asetat ya da propionat içeren solüsyonlarla yapılmalıdır (Berchtold, 2009; Constable vd., 2021). Bakteriyel enfeksiyonlarda seftiofur veya amoksisilin-klavulanat kullanılabilirle birlikte, antimikrobiyaller dikkatli kullanılmalı ve direnç gelişimi göz önünde bulundurulmalıdır. *Cryptosporidium* enfeksiyonlarında halofuginon laktat etkili olabilmektedir (Kaduková vd., 2024).

Koruyucu yaklaşımlarda kolostral IgG transferinin optimizasyonu, pasif bağışıklığın güçlendirilmesi amacıyla maternal aşılama ve biyogüvenlik önlemleri ön plandadır (Bartels vd., 2010). Ayrıca, kolostrum ve tam sütle beslenme, prebiyotik, probiyotik, sinbiyotik uygulamaları ve dışkı mikrobiyota transplantasyonu (FMT) bağırsak sağlığının yeniden dengelenmesinde önemli rol oynamaktadır (Jessop vd., 2024). Özellikle *Lactobacillus reuteri* izolatlarının oral uygulanması, buzağı ishallerini önemli ölçüde azaltarak probiyotiklerin koruyucu potansiyelini göstermektedir (Schwaiger vd., 2023).

Destekleyici bakım kapsamında erken teşhis, hasta buzağının izolasyonu, hijyenin sağlanması ve uygun çevre koşullarının temini kritik öneme sahiptir (Mukhtar vd., 2015). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), buzağı refahını artırmaya yönelik olarak grup barınma sistemlerini, beslenme uygulamalarının iyileştirilmesini ve inek-buzağı bağının

güçlendirilmesini önermektedir. Ayrıca yasal düzenlemelerde özellikle dana sistemlerinde alan, sosyal temas ve lif ile demir desteğine öncelik verilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Nielsen ve vd., 2023).

Sonuç olarak, yenidoğan buzağı ishalleri, yüksek mortalite ve morbiditeye neden olarak hayvancılık sektöründe ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Antimikrobiyal direnç, zoonotik riskler ve üretim kayıpları bu hastalığı hem veteriner hem de halk sağlığı açısından önemli bir sorun haline getirmektedir. Bu nedenle, kayıpları en aza indirmek için entegre sürü sağlığı programlarının geliştirilmesi ve uygulanması büyük önem taşımaktadır (Lorenz ve vd., 2021).

Bu çalışmanın temel amacı, yenidoğan buzağılarda ishale bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltmaya yönelik hızlı, güvenilir ve uygun maliyetli bir tanı yaklaşımı geliştirmektir. Bu doğrultuda, serum biyobelirteçlerinin kızılötesi spektroskopisi ile incelenmesi ve elde edilen spektral verilerin makine öğrenimi yöntemleriyle değerlendirilmesi hedeflendi. Çalışma kapsamında 1–20 günlük sağlıklı, hasta ve iyileşmiş buzağılardan kan örnekleri alındı, serumlar ayrıştırılarak ATR-FTIR spektroskopisi ile biyomoleküler düzeyde analiz edildi. Elde edilen spektral veriler, temel bileşen analizi (PCA), doğrusal ayırım analizi (LDA) ve destek vektör makineleri (SVM) gibi öngörücü modelleme teknikleriyle işlendi ve protein, lipid ve nükleik asitlere özgü spektral bantların tanısalları ortaya kondu. ROC analizi ile belirlenen biyobelirteçlerin ayırım gücü doğrulandı ve böylece ishal patogeneziyle ilişkili biyokimyasal değişimlerin tanımlanması sağlandı. Bulgular, kızılötesi spektral verilerin buzağılarda sağlıklı, hasta ve iyileşmiş gruplarını yüksek doğrulukla ayırt edebildiğini, özellikle LDA modelinin %100 sınıflandırma başarısı gösterdiğini ortaya koydu. Böylelikle, patojene özgü testlere gerek kalmadan ishallerin erken evrede tespit edilebileceği ve tedaviye yönelik karar süreçlerinin hızlandırılacağı kanıtlandı. Sonuç olarak bu çalışma, hem ülkemizde hem de dünya genelinde önemli ekonomik kayıplara yol açan buzağı ishallerinin teşhisinde yenilikçi bir yaklaşım sunarak veteriner hekimlikte uygulanabilir bir tanı platformu geliştirmiş ve uzun vadede hayvancılık sektöründe sürdürülebilir üretim ile gıda güvenliğine katkı sağlamıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Hastalığa Neden Olan Başlıca Etmenler

Sığır endüstrisinde sürü yönetimi, barınak koşulları, beslenme uygulamaları ve biyofarmasötiklerin zamanında kullanımı konusundaki ilerlemelere rağmen, buzağı ishali hem enfeksiyöz hem de enfeksiyöz olmayan çeşitli etmenlerin etkisiyle ortaya çıkabilmektedir. Enfeksiyöz olmayan nedenler arasında buzağının bireysel özellikleri, gelişimsel süreçler, uygulanan veterinerlik tedavileri, sürü yönetimindeki yetersizlikler ve çevresel faktörler yer alırken (Wei vd., 2021), enfeksiyöz nedenler ise çoğunlukla çoklu enterik patojenlerle ilişkilidir. Bu patojenler arasında virüsler, bakteriler ve protozoonlar öne çıkmaktadır. Bazı olgularda hastalık tek bir primer patojenin etkisiyle gelişebilse de çoğunlukla çoklu enfeksiyonlar gözlenmektedir. Patojenlerin yaygınlığı ve hastalık insidansı; işletmenin coğrafi konumu, yönetim uygulamaları ve sürü büyüklüğü gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Cho ve Kyoung-Jin, 2014).

Enfeksiyona bağlı olmayan buzağı ölümlerinde en önemli etken, doğumdan sonra kolostrumun yanlış uygulanmasıdır (Walsh vd., 2007). İneklerde plasenta yapısı nedeniyle immünoglobulinlerin (Ig) anne ile yavru arasında geçişi gerçekleşmez. Bu nedenle, süt buzağılarının bağışıklık kazanabilmesi için doğumdan hemen sonra kolostrum aracılığıyla antikorların pasif transferi zorunludur. Ancak, pasif transferin başarısızlığı (FPT) sık görülen bir durumdur (Karlı ve Evcı, 2018; Uetake, 2013). Buzağılarda aktif bağışıklık 5. haftadan itibaren gelişmeye başlamakta, bu nedenle ölümlerin büyük kısmı yaşamın ilk haftalarında, pasif bağışıklığın henüz yeterli olmadığı dönemde meydana gelmektedir. Kolostrum kalitesi; ineğin ırkı, yaşı, doğum öncesi aşılama durumu, kuru dönem uzunluğu ve sağım zamanı gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Karlı ve Evcı, 2018). Yüksek kaliteli kolostrumda immünoglobulin G (IgG) içeriğinin en az 50 g/L olması beklenmektedir (Sert ve Polat Açıık, 2020). Ancak yapılan çalışmalar, kolostrumdaki IgG düzeylerinin büyük değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Nitekim Holstein ırkı ineklerde yapılan bir çalışmada, IgG düzeyinin 9–186 g/L arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu nedenle, normal koşullarda doğumdan sonra buzağıya verilecek 2 L yüksek kaliteli kolostrum yeterli iken, düşük kaliteli kolostrumda aynı düzeye ulaşmak için çok daha yüksek miktarlarda alım gerekmektedir. Uygulamada yetiştiriciler kolostrum kalitesi hakkında kesin bilgiye sahip olamadığından, buzağının doğumdan sonra en az 12, tercihen 24 saat süreyle anneleriyle birlikte kalması ve doğal yolla emmelerine izin verilmesi önerilmektedir (Karlı ve Evcı, 2018; Uetake, 2013).

Buzağı ishallerine yol açan başlıca enfeksiyöz ajanlar arasında bakteriler (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Chlamydia*), virüsler (*Rotavirus*, *Coronavirus*, *BVD virüsü*, *Adenovirus*, *Parvovirus*, *Astrovirus*, *Calicivirus*, *Bredavirus*), protozoonlar (*Cryptosporidium parvum*, *Coccidia*, *Giardia*) ve helmintler (*Neoascaris vitullorum*) yer almaktadır. Bunlar arasında *E. coli* halen en önemli etiyolojik faktör olup, neden olduğu hastalık tablosu kolibasiloz olarak tanımlanmaktadır. Kolibasilozis, septisemik ve enterik olmak üzere iki formda ortaya çıkar. En yaygın enteropatojenlerden biri olan enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), doğumdan sonraki ilk günlerde septisemiye yol açabilmektedir. Septisemik kolibasiloz özellikle agammaglobulinemik buzağılarda daha sık görülmektedir. İki günden büyük buzağılarda ise *Rotavirus* ve ETEC'in birlikte bulunduğu vakalar sıklıkla ölümcül ishallerle sonuçlanmaktadır. Son yıllarda buzağı ishallerinin etiyolojisinde *Cryptosporidium parvum*'un rolü giderek daha fazla önem kazanmıştır. Bu parazit ile enfekte buzağılarda asemptomatik taşıyıcılıktan şiddetli ishal ve dehidrasyona kadar farklı klinik tablolar gelişebilmektedir (İsmail, 2013). Bununla birlikte, söz konusu patojenler sağlıklı buzağılarda da tespit edilebilmekte, bu durum hastalığın multifaktöriyel doğasını ortaya koymaktadır.

Son olarak, gastrointestinal mikrobiyota buzağı sağlığında kritik bir rol oynamaktadır. Mikrobiyota; besin Emilimi, bağışıklık düzenlenmesi ve bağırsak gelişiminin desteklenmesinde işlevseldir. Ancak mikrobiyal dengesizlik (disbiyozis) gastrointestinal hastalıklarla ilişkilendirilmekte olup, bu dengenin bozulmasının patojen istilasından önce mi yoksa sonra mı gerçekleştiği henüz netlik kazanmamıştır (Gomez vd., 2017; Kim vd., 2021).

2.1.1. *Escherichia coli*

İshalli buzağılarda, etiyolojik faktör ne olursa olsun ince bağırsakta *Escherichia coli*'nin aşırı çoğalması tipik bir bulgudur. Buzağılarda yaklaşık %30'unda bakteriyemi görülmekte olup, bu durumun başlıca etkeni yine *E. coli*'dir. Dolayısıyla, ishalli buzağılarda uygulanacak antimikrobiyal tedavinin öncelikli hedefi *E. coli* olmalıdır (Constable, 2004). Çoğu *E. coli* suşu buzağılar için zararsızken, virülans genleri kazanmış bazı suşlar orta ya da şiddetli klinik tabloya, hatta ölüme yol açabilmektedir.

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) tipik olarak bağırsak epitel hücrelerinin absorptif fonksiyonunu bozarak salgı fonksiyonunu baskın hale getiren sekretuvar bir ishal tablosu oluşturur. Bu nedenle ishal genellikle beyazımsı-sarımsı renkte seyreder (Gebregiorgis ve Tessema, 2016). ETEC, bağırsak mukozasını uyararak sıvı ve elektrolit sekresyonunu

tetikleyen enterotoksinler üretir. Bu toksinler iki grupta incelenir: termolabil (LT) ve termostabil (ST). LT enterotoksinleri adenilat siklazı aktive ederek hücre içi siklik adenozin monofosfat (cAMP) düzeylerini artırırken, ST enterotoksinleri guanilat siklazı aktive ederek siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeylerini yükseltir. Sonuçta sodyum (Na⁺), potasyum (K⁺), klor (Cl⁻), bikarbonat (HCO₃⁻) ve suyun yoğun kaybı meydana gelir.

Buzağılarda “beyaz ishal” olarak bilinen tabloya yol açan ETEC suşlarında patojeniteyi belirleyen esas unsur O antijenleri değil, bakterinin bağırsak epitel hücrelerine tutunmasını sağlayan fimbrial adezinlerdir. Özellikle K88 (F4) ve K99 (F5) adezinleri, bakterinin konak epitelinde kolonizasyon yeteneğini artırarak hastalığın gelişiminde kritik rol oynamaktadır (Sancak, 2020).

2.1.2. *Salmonella enterica*

Salmonella enterica, geniş bir konakçı yelpazesinin gastrointestinal sistemini kolonize edebilen önemli bir patojendir. Sığırlarda salmonelloz olgularının en sık nedeni, *S. enterica*’nın serovar Typhimurium (*S. typhimurium*) ve serovar Dublin (*S. dublin*) tipleridir (Blanchard, 2012). Klinik seyir oldukça değişken olup, asemptomatik taşıyıcılıktan akut klinik salmonelloza kadar farklı tablolar görülebilmektedir. Akut enterik enfeksiyon çoğunlukla *S. typhimurium* ile ilişkilendirilirken, sistemik enfeksiyonların başlıca etkeni genellikle *S. dublin*’dir (Mead vd., 1999).

Salmonella ile enfekte buzağılarda, ince bağırsak mukozasında psödomembranöz lezyonlar ve mezenterik lenf düğümlerinde belirgin büyüme tipik patolojik bulgular arasındadır. Enfekte sığırlar, gıda kaynaklı bulaş veya doğrudan temas yoluyla insanlara geçiş gösterebildiğinden zoonotik açıdan da ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Mead vd., 1999). Hastalığın patogeneğinde temel mekanizma, patojenin bağırsak mukozasını invaze etme, lenfoid dokularda çoğalma ve konağın immün yanıtından kaçarak sistemik enfeksiyona ilerleme yeteneğidir (Tsolis, 1999). *Salmonella*, özellikle M hücreleri, enterositler ve tonsil dokularını kolonize ederek konağa giriş yapar. Bunu takiben, mononükleer hücreler ve fagositler aracılığıyla hızla yayılım gösterir ve tüm vücutta sistemik enfeksiyona neden olabilir (Mead vd., 1999).

Klinik olarak salmonelloz; fibrin ve kan içeren, genellikle sulu ve mukoid karakterde bir ishal tablosu ile tanımlanır. Her ne kadar hem erişkin sığırlarda hem de buzağılarda ishale neden olabilse de, hastalık özellikle 10 günlük ile 3 aylık buzağılarda daha ağır klinik semptomlarla seyretmektedir. Enfeksiyonun şiddetine bağlı olarak, buzağılar klinik veya

subklinik formda farklı süreler boyunca etkilenebilir ve aralıklı olarak patojenin yayılımına katkı sağlayabilir (Cho ve Kyoung-Jin, 2014).

2.1.3. Bovine *Coronavirus* (BCV) ve Bovine *Rotavirus* (BRV)

Sığır *rotavirüsü* (BRV), sığır *koronavirüsü* (BCV) ile birlikte yenidoğan buzağı ishalinde en sık görülen viral etkindir ((Snodgrass vd., 1986; Clark, 1993; Schaefer, 2000). Bovine *Rotavirus*, dünya çapında bir aylıktan küçük buzağılarda akut ishale neden olan en bilinen patojendir (Kozat, 2024). Her iki virüs de sindirim sistemi enfeksiyonuna yol açmakta ve bulaşma, enfekte dışkı ile kontamine yem ve suyun oral yolla alınmasıyla gerçekleşmektedir. Sürü içindeki erişkin hayvanlar genellikle BRV ve BCV açısından subklinik enfekte durumdadır ve bu nedenle virüsün hızlı yayılımında önemli rol oynarlar. Özellikle gebeliğin geç dönemlerinde ve doğum sonrası dönemde, hormonal değişimlerin immün sistem üzerine etkileri nedeniyle viral saçılımın arttığı bildirilmektedir. Bu durum, subklinik enfekte ineklerin yeni doğan buzağılar için önemli bir enfeksiyon kaynağı olmasına yol açmaktadır (Alkan, 1998).

Enfeksiyonların şiddeti; buzağının yaşı, immünolojik durumu, alınan viral yük ve enfekte eden suşun özelliklerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Özellikle kolostrum almayan buzağılarda enfeksiyon daha erken dönemde ortaya çıkmakta ve klinik tablo çok daha ağır seyretmektedir (Alkan, 1998). Düşük sıcaklıklar, yağmur, yoğun kar, rüzgâr ve yüksek nem gibi olumsuz hava koşulları yenidoğan buzağılar için çevresel birer risk faktörüdür (Aksoy vd., 2021). BRV ve BCV enfeksiyonlarının klinik bulguları benzerlik göstermekte olup, hastalık çoğunlukla sulu, bazen mukuslu ve nadiren kanlı ishal ile karakterizedir. Enfeksiyonun başlangıcında vücut ısısı genellikle yükselmekte, ancak ilerleyen süreçte normale dönmektedir. Buzağılarda kilo kaybı, tüylerde matlaşma ve keçeleşme dikkati çeken diğer bulgular arasındadır. Ağır olgularda dehidrasyon ve sıvı-elektrolit dengesinin bozulması sonucu hipovolemik şok gelişebilmekte ve bu durum ölümlle sonuçlanabilmektedir. Ayrıca *E. coli*, *Salmonella*, *Clostridium* spp. ve *Cryptosporidium* gibi sekonder patojenlerin varlığı, hastalığın seyrini ağırlaştırmakta ve mortalite oranını belirgin biçimde artırmaktadır (Alkan, 1998). 34 çalışmada buzağıların BRV'den korunması için annelerin aşılmasına güvenilmiştir. Anne aşılmasının zamanlaması çalışmalar arasında büyük ölçüde değişmiştir ve çalışmaların çoğunda gebeliğin son iki ayında iki dozdan oluşmuştur (Maier vd., 2022).

2.1.4. *Cryptosporidium parvum*

Cryptosporidium spp.; insan, evcil ve vahşi hayvanlarda, gastrointestinal klinik

bulgulara neden olan zoonotik bir protozoondur (Ayan ve ark., 2020). Sığırlarda en sık görülen türler arasında *C. parvum*, *C. bovis*, *C. ryanae* ve *C. andersoni* yer almaktadır. Enfekte buzağılar klinik olarak asemptomatik olabileceği gibi, ağır dehidrasyonla seyreden şiddetli ishal tablosu da geliştirebilirler. Özellikle *C. parvum*, buzağı ishallerinin başlıca nedenlerinden biri olarak kabul edilmekte ve aynı zamanda önemli bir zoonotik ajan olarak değerlendirilmektedir (Cho ve Kyoung-Jin, 2014). Ülkemizde ishalleri içinde *Cryptosporidium* spp.'e bağlı olan buzağı ölüm oranının %7,2- 63,3 arasında olduğu belirtilmiştir (Tokgöz ve ark., 2013).

C. parvum bağırsaklarda enterositlerin apikal kısmına yapışıp mikrovillus kaybına neden olarak villöz atrofiye yol açmaktadır (Güney, 2023). Sonuç olarak bağırsak mukozasında belirgin villus atrofisi gelişir. Bu yapısal hasar, bağırsak lümeninde sindirilmemiş sütün malabsorpsiyonuna ve fermentasyonuna neden olur. Ortaya çıkan sindirim bozukluğu, buzağılarda uzun süreli beslenme yetersizliklerine yol açmakta ve dolayısıyla süt sığırı üretiminde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Cho ve Kyoung-Jin, 2014).

2.2. Yenidoğan Buzağı İshallerinde Tedavi Yöntemleri

İshalleri buzağılarda temel tedavi hedefleri; parenteral yolla Gram negatif bakterilere karşı etkili antimikrobiyallerin uygulanması, flunixin meglumin veya meloksikam gibi steroid olmayan antiinflamatuvar ilaçların kısa süreli kullanımı ve süt ile beslenmenin sürdürülmesidir (Constable, 2009). Kısa süreli kolostrum beslemesi, gastrointestinal sistemin morfolojik büyümesini ve işlevsel olgunlaşmasını uyarır, yararlı bakterilerin oluşumunu destekler, bağırsak emilim kapasitesi yoluyla glikoz alımını artırır, plazma glukagon benzeri peptid-1 konsantrasyonlarını artırır ve buzağı hastalık ve ölüm oranlarını azaltır (Kargar vd., 2020). İyi bir kolostrum yönetiminin, yeterli pasif transferle sonuçlanmasının önemi NCD'nin önlenmesinde tartışılmaz olsa da, kolostrum besleme rutinlerinin ishal riski veya *C. parvum*'un atılması riski üzerinde önemli bir etkisi olmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Meganck vd., 2014). *Cryptosporidium parvum* kaynaklı ishallerde ise halofuginon veya azitromisinin oral uygulanması; yalnızca ishallerin süresini ve şiddetini azaltmakla kalmayıp aynı zamanda fekal ookist yoğunluğunu ve çevresel kontaminasyonu da sınırlamada etkili görünmektedir. Teorik olarak etkili diğer tedavi seçenekleri arasında, asetat ve propiyonat içeren oral rehidrasyon solüsyonları ile uzun süreli ishalleri bulunan buzağılarda parenteral B vitaminleri ve yağda çözünen vitaminlerin uygulanması yer almaktadır (Constable, 2009).

Antimikrobiyal tedavi, hem bağırsakta hem de kan dolaşımında bulunan *E. coli*'ye yönelik olmalıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde bu amaçla amoksisilin, klortetrasiklin, neomisin, oksitetrasiklin, streptomisin, sülfakloropiridazin, sülfametazin ve tetrasiklin gibi ajanların kullanımı önerilmektedir (Constable, 2004). Ancak yoğun antibiyotik kullanımına bağlı olarak antimikrobiyal direnç meydana gelebilmektedir (Akbağ vd., 2023).

Oral sıvı tedavisinin amacı, sıvı kaybını gidermek, asit-baz ve elektrolit dengesini yeniden sağlamak ve ek beslenme desteği sunmaktır. Gastrointestinal sistemi kısmen işlevsel olan tüm ishalleri buzağılarda oral rehidrasyon tedavisi endikedir. Genel olarak, emme refleksi bulunan veya herhangi bir çiğneme hareketi sergileyen buzağının oral sıvı tedavisini güvenle tolere edebildiği kabul edilmektedir (Yanar, 2022).

Ek olarak, dışkı mikrobiyota nakli (FMT), sağlıklı bir donörden alınan dışkının alıcının bağırsak sistemine doğrudan alıcının gastrointestinal mikrobiyotasını değiştirmek için verildiği bir işlemdir. Amaç, alıcının gastrointestinal sistemindeki "sağlıklı" veya "dengeli" mikrobiyal toplulukları eski haline getirerek hastalığı hafifletmek ve iyileşmeyi kolaylaştırmaktır (Jessop vd., 2024).

Tüm bunlara ilaveten, probiyotikler enzim üretimini destekleyerek yemden yararlanmayı artırarak bağışıklık sistemini desteklerler. Probiyotik olarak bilinen çoğu madde canlıların sindirim sisteminde doğal olarak bulunur (Samak, 2021). Buzağılarda yapılan çalışmalarda prebiyotik kullanımının buzağı canlı ağırlığı, yem tüketimini artırdığı ve yemden yararlanma üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir. Bu olumlu katkılarına ek olarak, buzağılarda probiyotik kullanımının ishal vakalarını önlediği yönünde ciddi bir bulgu söz konusudur (Yayan vd., 2021).

2.3. Yenidoğan Buzağı İshallerinde Tanı Yöntemleri

Buzağı ishallerinin doğru teşhisi için laboratuvar testleri kritik öneme sahiptir çünkü hastalığın gelişiminde farklı patojenler veya çevresel/fizyolojik faktörler rol oynayabilir. Hızlı ve güvenilir tanı, uygun tedavi ve koruyucu önlemlerin belirlenmesi açısından gereklidir. Ancak tanı sonuçları; örnekleme zamanı, hedef popülasyon, örnek kalitesi ve kullanılan laboratuvar yöntemleri gibi faktörlerden etkilenmektedir.

Tanıda en yaygın olarak kullanılan materyal dışkı örnekleridir ve bu örnekler mikroskopi, bakteri kültürü ve PCR ile incelenir. Ayrıca bağırsak dokuları, immünohistokimya veya bakteri kültürü yoluyla test edilebilmektedir. Günümüzde PCR, RT-PCR ve Ag-ELISA gibi hızlı tanı yöntemleri, klinik örneklerde patojenlerin saptanmasında

sıkça kullanılmaktadır (Cho ve Yoon, 2014; Malik vd., 2019). Klinisyenler, doğru tanı için yalnızca laboratuvar sonuçlarını değil, aynı zamanda çiftlik koşullarını ve klinik öyküyü de dikkate almalıdır.

Tanının net olarak konulamadığı durumlarda elektron mikroskopisi (EM) ek bir seçenek olarak kullanılabilir (Schroeder vd., 2012). Ancak EM spesifik bir test değildir, düşük duyarlılığa sahiptir ve virüs tespiti için çok sayıda partikül gerektirir. Ayrıca maliyeti yüksek olup uzman personel gerektirir. Bu nedenle rutin tanıda kullanımı sınırlıdır (Ates ve Yeşilbağ, 2023). Benzer şekilde, Ag-ELISA ticari kitleri maliyet açısından sınırlayıcı olabilir ve analitik duyarlılığı izolasyon, kültür veya nükleik asit temelli yöntemlere kıyasla daha düşüktür. Bakteri kültürü ise 24–72 saat sürmekte olup, kesin tanı için ek immünolojik veya moleküler analizlere ihtiyaç duyulabilmektedir (Cho ve Yoon, 2014; Öztürkler vd., 2023).

Son yıllarda moleküler ve spektroskopik tanı yaklaşımları dikkat çekmektedir. Ancak PCR, metabolomik profillemeye veya uçucu bileşik biyobelirteç analizi gibi yöntemler; yoğun numune hazırlama, özel laboratuvar altyapısı, biyolojik materyalin dikkatli taşınması ve kontaminasyon riskleri nedeniyle saha koşullarında sınırlı uygulanabilirliğe sahiptir (Santos-Rivera vd., 2021).

Yeni nesil yaklaşımlar arasında yakın kızılötesi spektroskopi (NIRS), özellikle çok değişkenli analiz (MVA) ile birlikte kullanıldığında dikkat çekmektedir. Bir çalışmada NIRS, süt buzağılarında *Mannheimia haemolytica* enfeksiyonunun tanı ve takibinde başarılı bulunmuş, performansı ELISA, PCR ve NMR gibi tekniklerle karşılaştırılabilir düzeyde rapor edilmiş, ayrıca hızlı, taşınabilir ve minimum numune hazırlığı gerektirmesiyle öne çıkmıştır (Santos-Rivera vd., 2021). Benzer şekilde, süt buzağılarında serum immünoglobulin G (IgG) düzeylerinin ölçümünde ve pasif bağışıklık transferi yetersizliği (FTPI) tanısında ATR-IR spektroskopisi etkili bulunmuş ve saha uygulamaları için avantajlı olduğu gösterilmiştir (Elsohaby vd., 2016).

Çok yakın zamanda yapılan bir başka çalışmada, FTIR spektroskopisi ile makine öğrenimi (ML) algoritmalarının birlikte kullanılması, buzağılarda çoklu ilaca dirençli *E. coli* suşlarının hızlı ve etkili şekilde taranmasına olanak sağlamış, bu yaklaşımın mikrobiyoloji laboratuvarlarında ve hayvancılık yönetiminde önemli bir potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir (Marangoni-Ghoreyshi vd., 2023). Ayrıca NMR tabanlı metabolomik çalışmalar, sağlıklı buzağılar ile ishal kaynaklı sepsis gelişen buzağıları ayırt etmede umut verici bulunmuş; sepsis patogenezinin dair yeni biyolojik içgörüler sağlamış ve erken tanı ile

prognozda kullanılabilecek biyobelirteçlerin ortaya konabileceğini göstermiştir (Baspınar, 2014).

2.4. Neden Serumla Çalışılır?

Serum, pıhtılaşma meydana geldikten sonra kanın sıvı kısmıdır. Su, kan proteinleri ve inorganik elektrolitlerden oluşur. İn vivo önemli metabolik substratlar ve son ürünler için bir taşıyıcı ortam görevi görür. Hastalık durumunda çeşitli patojenler için bir taşıyıcı maddedir (Ceylan vd., 2012).

Azaltılmış toplam yansıma-Fourier dönüşümlü kızılötesi (ATR-FTIR) spektroskopisi, küçük miktardaki örnekleri bile analiz edebilen hızlı, ucuz, kullanımı kolay ve operatörden bağımsız bir spektroskopik araç olarak, son yıllarda hastalık teşhisi alanında önemli bir rol oynamıştır. Bu bağlamda, serum ve plazma gibi biyosıvılar, oldukça kolay erişilebilir ve oldukça bilgilendirici biyosıvılar oldukları için çok çeşitli hastalıkların erken teşhisi için ideal adaylardır. Kan serumu, klinik uygulamada yaygın olarak kullanılan ve protein, lipid, nükleik asit vb. gibi biyomoleküller hakkında çok sayıda bilgi içeren biyolojik bir sıvıdır (Yonar vd., 2022). Klinik patolojide ise albümin-globulin oranı (A:G) büyük önem taşır. Bu oran, disproteinemi tanımlamada kullanıldığı gibi, hayvanın bağışıklık durumunu değerlendirmede de önemli bir belirteç olarak önerilmektedir (Garverick vd., 2013).

2.5. Yaygın Olarak Kullanılan Serum Biyobelirteçleri

Serum biyobelirteçleri, hayvanlarda metabolik ve immünolojik durumun değerlendirilmesinde önemli araçlardır. Yaygın olarak kullanılan belirteçler; enerji dengesi (keton cismi β -hidroksibutirat ve yağ asitleri), makromineral düzeyleri (Ca ve Mg), protein metabolizması (üre ve albümin) ve bağışıklık fonksiyonları (globulinler ve albümin: globulin oranı, A: G) ile ilişkilidir. Ancak bu biyobelirteçlerin analizi invazif, zaman alıcı ve maliyetli olduğundan, büyük ölçekli epidemiyolojik çalışmalar için sınırlı pratikliğe sahiptir (Luke vd., 2019). Enflamasyon belirteçleri arasında interlökin-6 (IL-6) erken inflamatuvar yanıtın güvenilir göstergelerinden biridir. IL-6 çeşitli hücre tipleri tarafından üretilir ve akut faz yanıtını indükler; inflamasyonun erken evresinde hızla yükselir, klinik bulgular ortaya çıkmadan önce serumda artış gösterebilir (Fischer vd., 2016). Bu durum, neonatal dönemde ishali buzağılarda da gözlenmiştir ve IL-6 seviyelerinin hastalık şiddeti ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Aydın ve Aktaş, 2023).

Sığır solunum yolu hastalığı (BRD), süt buzağılarında morbidite ve mortalitenin başlıca nedenlerinden biri olup buzağıları etkileyen diğer bir hastalık olarak dikkat

çekmektedir. BRD'nin güvenilir biyobelirteçlerinin belirlenmesi, erken tanı, tedavi etkinliğinin izlenmesi ve hastalık tekrarının azaltılması açısından önemlidir. Bu kapsamda, haptoglobin (Hpt) ve serum amiloid A (SAA) gibi akut faz proteinleri ile oksidatif stres parametreleri incelenmiştir. BRD'li buzağılarda Hpt ve SAA düzeylerinin sağlıklı buzağılara göre anlamlı şekilde arttığı, serum albümin konsantrasyonunun ise azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca, lipid peroksidasyon (LPO) seviyelerinde artış, süperoksit dismutaz (SOD), indirgenmiş glutatyon (GSH) ve katalaz (CAT) aktivitelerinde ise azalma gözlenmiştir. Tedavi sonrası bu parametreler kısmen normale dönmüştür (Joshi vd., 2018).

Benzer şekilde, yenidoğan buzağı ishallerinde de serum biyobelirteçleri klinik açıdan değerli bilgiler sunmaktadır. *Rotavirus*, *coronavirus* ve *E. coli* kaynaklı enterik enfeksiyonlarda IL-6 seviyeleri hastalığın erken aşamasında yükselerek subklinik enfeksiyonların tespitine olanak sağlar (Fischer vd., 2016; Aydın ve Aktaş, 2023). Ayrıca, dehidratasyon ve metabolik asidoz, serum biyokimya parametrelerini etkileyerek albümin düzeylerinde azalmaya yol açar. Globulinler ve A: G oranı, buzağının immün yanıt kapasitesini gösterir. Akut faz proteinleri olan Hpt ve SAA, ishallerde de anlamlı şekilde yükselmektedir. Oksidatif stres belirteçlerinde BRD ile paralel olarak LPO artışı ve SOD, GSH, CAT aktivitelerinde azalma gözlenmiştir (Erkılıç vd., 2019). Bu nedenle, ishallerde buzağılarda da akut faz proteinleri ve oksidatif stres biyobelirteçlerinin birlikte değerlendirilmesi, hastalığın şiddetini, prognozunu ve tedavi yanıtını güvenilir şekilde ortaya koymaktadır.

2.6. Zayıflatılmış Toplam Yansıma Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (ATR-FTIR) Spektroskopisi

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, biyolojik örneklerin moleküler bileşiminin invaziv olmayan ve hassas bir şekilde incelenmesine imkân tanıyarak tıbbi araştırmalarda güçlü bir analitik araç olarak öne çıkmıştır (Al-Kelani M ve Buthelezi N, 2024). Özellikle çok değişkenli analiz yöntemleriyle birleştirilen ATR-FTIR spektroskopisi, çevresel faktörler, kimyasallar ve hastalıklar gibi dış etkenlerin yol açtığı moleküler değişikliklerin belirlenmesinde güçlü bir biyoanalitik araç olarak öne çıkmaktadır (Gurbanov vd., 2021). Bu yöntem, kızılötesi (IR) radyasyonun absorpsiyonuna dayalı olarak kimyasal bağların titreşimlerinin ölçülmesi prensibine dayanır. IR radyasyonu, bağların gerilme, bükülme ve bükülme gibi farklı titreşim hareketleriyle etkileşime girerek absorpsiyon spektrumunda karakteristik pikler oluşturur. Her fonksiyonel grup kendine özgü titreşim

frekansına sahip olduğundan, elde edilen spektrum her mikroorganizma için bir “parmak izi” niteliği taşır.

FTIR spektrumlarının elde edilmesi görece kolay olsada, sonuçların yalnızca görsel değerlendirmeye yorumlanması yanıltıcı olabilir. Bu nedenle, araştırmanın amacına bağlı olarak kontrollü (supervised) veya denetimsiz (unsupervised) çeşitli istatistiksel analiz yöntemlerinden yararlanılır (Teker vd., 2024). FTIR spektroskopisinin en önemli üstünlükleri arasında hızlı, uygun maliyetli, tahribatsız, kullanıcıdan bağımsız ve yüksek doğrulukla çalışabilmesi yer almaktadır. Tekniğin hem iletim hem de yansıma modunda güvenilirliği kanıtlanmıştır (Gurbanov vd., 2021). Gaz veya sıvı kromatografisi ile kütle spektroskopisine kıyasla daha başarılı bir tanımlama aracı olduğu, endüstriyel uygulamalarda da etkin biçimde kullanılabileceği bildirilmiştir. Klinik alanlarda ise FTIR spektroskopisi, hastalıkların erken veya geç evrelerinin tespitinde değerli bilgiler sunar. Hücrelerin biyomoleküler bileşenleri, yapısal ve işlevsel özelliklerine özgü karakteristik IR spektrumları sergiler. Bu nedenle yöntem, sağlıklı ve hastalıklı hücrelerin hızlı ayırımında yaygın olarak kullanılmaktadır (Kılıç ve Karahan, 2010). Ayrıca doku kesitleri, sitolojik ve histolojik örnekler veya biyolojik sıvılar bu yöntemle analiz edilebilmektedir (Ardahanlı vd., 2022; Baba vd., 2024). Serum, plazma, tükürük ve idrar gibi biyoakışkanlar da FTIR ile incelenerek çok çeşitli hastalıkların erken tanısında biyobelirteç kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Gurbanov vd., 2021; Severcan vd., 2024).

FTIR spektroskopisinin uygulama alanı, mikro ve makro görüntüleme, ATR, transfleksiyon ve iletim modları gibi çeşitli aksesuarlarla genişletilebilmektedir. ATR-FTIR spektroskopisi, örneği iç yansıma elemanının yüzeyinde yaklaşık 0,5–5 µm penetrasyon derinliğinde ölçerek analiz yapar (Tiernan vd., 2020). Bu yaklaşımın en önemli avantajlarından biri, spektral ölçüm öncesinde numune hazırlığı gerektirmemesi ya da minimum düzeyde gerektirmesidir. Tahribatsız örnekleme sayesinde hazırlık aşaması ortadan kalkar (Topraksever ve Artuç, 2023). Bunun nedeni, ATR ölçümlerinde IR ışığının penetrasyon derinliğinin numune kalınlığından bağımsız olmasıdır. Bu nedenle özellikle su gibi güçlü IR absorpsiyonu gösteren maddelerin analizi için uygundur (Kazarian ve Chan, 2006). ATR modu kullanıldığında, örneğin bir damla biyoakışkan doğrudan kristal üzerine yerleştirilebilir ve gelişmiş spektrometrelerle kısa sürede gürültüsüz spektral veriler elde edilebilir (Gurbanov vd., 2021).

Son yıllarda, ATR-FTIR spektroskopisinin tanısal doğruluğunu artırmak amacıyla makine öğrenmesi tekniklerinin kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu algoritmalar, spektral veriler

üzerinden hastalıkların sınıflandırılmasını kolaylaştırmakta ve multipl skleroz veya artrit gibi karmaşık hastalıkların farklı formlarını yüksek hassasiyetle ayırt edebilmektedir (Tokgöz, 2025).

2.7. Makine Öğrenmesi

Makine öğrenmesi (MÖ) (İng. Machine Learning – ML), önceki gözlemlerden yararlanarak doğru tahminler yapabilmeyi öğrenen otomatik yöntemlerin geliştirilmesine yönelik bir disiplindir (Schapire vd., 2003). İnsan zekâsını taklit edecek biçimde tasarlanan bu yöntemler, çevresel verilerden öğrenerek yeni örnekler üzerinde çıkarım yapabilen hesaplamalı algoritmalar geliştirmeyi amaçlar. Makine öğrenme algoritmalarının genelleme yeteneği; örüntü tanıma, bilgisayarla görü, hesaplamalı biyoloji ve tıbbi tanılama gibi birçok alanda başarıyla uygulanmaktadır (El Naqa vd., 2015). Günümüzde yapay zekâ (İng. Artificial Intelligence – AI) ve derin öğrenme (İng. Deep Learning – DL) yöntemleri ile birlikte makine öğrenmesi, özellikle sağlık alanında karmaşık ve yüksek boyutlu tıbbi verilerin analizinde, hastalıkların tespiti ve sınıflandırılmasında yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu yöntemler, çok boyutlu veriler üzerinde hızlı ve yüksek doğruluk oranları sağlayarak tanı süreçlerine önemli katkı sunmaktadır (Lundberg vd., 2018). Ayrıca, makine öğrenmesi temelli algoritmalar mevcut kaynakların en verimli şekilde kullanımını mümkün kılmakta ve bu sayede elde edilen fazladan kapasitenin farklı alanlara yönlendirilmesine olanak tanımaktadır (Özgür, 2021).

Makine öğrenmesinde kullanılabilecek pek çok farklı algoritma bulunmaktadır. Bu nedenle, eldeki veri setini en iyi işleyebilecek algoritmanın seçilmesi kritik öneme sahiptir. Algoritmaların işlevlerine göre sınıflandırılması, seçim sürecinde yol gösterici bir yaklaşım sunmaktadır (Tosunoğlu vd., 2021). Makine öğrenmesi, bir veri kümesini en iyi temsil eden modeller geliştirerek yapay zekânın öğrenme yönünü öne çıkarır. Klasik programlamadan farklı olarak, makine öğrenmesi veri alt kümelerinden hareketle yeni özellik ve ağırlık kombinasyonlarını ortaya çıkarabilen algoritmalar tasarlamayı mümkün kılar. Bu bağlamda, makine öğreniminde dört temel yaklaşım öne çıkmaktadır: denetimli (supervised), denetimsiz (unsupervised), yarı denetimli (semi-supervised) ve takviyeli öğrenme (reinforcement learning) (Choi vd., 2020).

Sağlık alanında hastalıkların erken teşhisi, tedavi başarısını artırmakta ve yaşam kurtarıcı bir rol üstlenmektedir (Coşar & Deniz, 2021). Buna karşılık, geç teşhis iyileşme oranlarını düşürmekte, tedavi sürecini zorlaştırmakta ve maliyetleri artırmaktadır. Dolayısıyla,

hastalıkların erken tanısı kritik bir öneme sahiptir (Çokay vd., 2024). Bu noktada, bilişim teknolojilerinin öncü alanlarından biri olan makine öğrenmesi teknikleri, erken tanı süreçlerinde başarılı sonuçlar sunmaktadır (Coşar & Deniz, 2021). Günümüzde makine öğrenmesi, yapay zekâ ve derin öğrenme yöntemleri tıbbi veri analizi ve hastalık tespitinde giderek daha yaygın kullanılmaktadır (Çokay vd., 2024).

2.7.1. Temel Bileşen Analizi (TBA, İng. Principal Component Analysis – PCA)

Temel bileşen analizi (TBA), vaka bazlı veri tablolarını, temel bileşenler adı verilen özet özelliklere indirgemek amacıyla kullanılan çok yönlü bir istatistiksel yöntemdir. Temel bileşenler, orijinal değişkenlerin varyansını en iyi açıklayan doğrusal kombinasyonlar olarak tanımlanır. Bu yöntem sayesinde yalnızca birkaç temel bileşen kullanılarak orijinal veri tablosunun yaklaşık bir temsilinin elde edilmesi mümkün olur (Greenacre vd., 2022).

2.7.2. Doğrusal Ayrım Analizi (DAA, İng. Linear Discriminant Analysis – LDA)

Doğrusal Ayrım Analizi (DAA), önceden bilinen özelliklere sahip birimlerin, ait oldukları gerçek sınıflara en doğru biçimde atanmasını amaçlayan çok değişkenli bir istatistiksel yöntemdir. DAA'nın temel hedefi, sınıflar arasındaki ayrımı tanımlayan doğrusal kurallar aracılığıyla birimlerin en düşük hata oranıyla sınıflandırılmasını sağlamaktır (Alkan vd., 2018).

2.7.3. Destek Vektör Makineleri (DVM, İng. Support Vector Machines – SVM)

Destek vektör makineleri (DVM), Vapnik (1995) tarafından geliştirilen ve istatistiksel öğrenme teorisine dayanan bir makine öğrenmesi yaklaşımıdır. DVM'nin temel amacı, iki veya daha fazla veri sınıfını en iyi şekilde ayırmaktır (Demirci, 2019). İki boyutlu uzayda doğrusal bir doğru, üç boyutlu uzayda düzlem ve çok boyutlu uzaylarda hiperdüzlem aracılığıyla sınıflar ayrıştırılabilmektedir (Güran vd., 2014). Tıbbi veri sınıflandırmasında yüksek doğruluk sağlaması nedeniyle DVM, biyomedikal alanda öne çıkan algoritmalarından biridir (Özcan vd., 2019).

2.7.4. Tekil Değer Ayrıştırma (TDA, İng. Singular Value Decomposition – SVD)

Tekil değer ayrıştırma (TDA), karmaşık matrislerin daha basit matrislerin çarpımı şeklinde ifade edilmesini sağlayan güçlü bir matematiksel tekniktir. Bu yöntem; TDA, QR ayrışımı, alt-üst ayrışımı, CS ayrışımı, QLP ayrışımı, pivot QR ve pivot QLP ayrışımı gibi çeşitli algoritmalarla uygulanabilmektedir. Özellikle regresyon analizinde önemli bir yere sahip olan TDA, matrisin köşegenleştirilmesi ile yakından ilişkilidir (Kiraz & Erdemir, 2022).

SVD üç açıdan değerlendirilebilir: (i) korelasyonlu verileri, orijinal veri parçaları arasındaki ilişkileri daha net ortaya koyan korelasyonsuz verilere dönüştürmek; (ii) en yüksek varyansın gözlendiği boyutları belirlemek ve sıralamak; (iii) daha az boyutla orijinal veri noktalarının en iyi şekilde tahmin edilmesini sağlamak (Apaydın, 2011).

Sonuç olarak, yenidoğan buzağı ishalinin yol açtığı ekonomik kayıpları azaltmak, hayvan refahını iyileştirmek ve zoonotik bulaşma riskini en aza indirmek için, erken tespit, ayırıcı tanı ve patojene bağımlı olmayan taramayı önceleyen yenilikçi metodolojilere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu doğrultuda, analitik yaklaşımlar ve öngörücü öğrenme teknolojilerindeki gelişmelerden yararlanılarak, belirli patojenlere dair ön bilgiye gerek duymadan buzağılarda ishal etiyolojilerini tanımlayabilen, evrensel, uygun maliyetli ve nispeten basit bir tanı çerçevesinin geliştirilmesi hedeflenmektedir. Bu bağlamda, kızılötesi spektroskopinin denetimli sınıflandırma yöntemleriyle, özellikle Doğrusal Ayrım Analizi (LDA) ve Destek Vektör Makineleri (SVM) ile bütünleştirilmesi, buzağı serumlarından yenidoğan buzağı ishallerinin teşhisine yönelik yüksek kapasiteli bir platform oluşturma potansiyeli taşımaktadır. Böyle bir yaklaşım, yalnızca zamanında terapötik müdahaleler için çiftlik ölçeğinde karar alma süreçlerini güçlendirmekle kalmayacak, aynı zamanda büyük ölçekli sürü sağlığı izlemi için ölçeklenebilir ve uygun maliyetli bir araç sunarak, sürdürülebilir hayvancılık uygulamalarına ve küresel gıda güvenliğinin desteklenmesine katkı sağlayacaktır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hayvan Gruplarının Oluşturulması, Bireylerden Tam Kan Örneğinin Toplanması Ve Serum Ayırıştırma Çalışmaları

Çalışma, 1-20 günlük yenidoğan buzağılardan alınan kan örnekleri kullanılarak Ocak-Mayıs 2021 tarihleri arasında yürütüldü. Buzağılar sağlıklı (S), hasta (H) ve iyileşmiş (İ) olmak üzere üç ayrı gruba ayrıldı. Protokol, Niğde Ömer Halis Demir Üniversitesi Yerel Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylandı (Onay No: E-86837521-050.99-257260). Çalışmaya Niğde ili Çavdarlı köyündeki çiftliklerde yetiştirilen Holstein ırkı buzağılar dahil edildi. Her hayvandan bir veteriner hekim tarafından iki biyokimya tüpüne kan alındı. İshal dışında başka hastalıkları olan bireyler hariç tutuldu. Gruplardaki 10 bireyden alınan kan örnekleri (toplam 30 örnek, hayvan başına iki tüp) +4°C'de 15 dakika boyunca 3000 rpm'de santrifüj edilerek serum hücresel bileşenlerden ayrıldı. Serum ayrımı Niğde İl Tarım ve Orman Müdürlüğü laboratuvarında yapıldı. Serum örnekleri 1 mL'lik Eppendorf tüplerine aktarıldı, kuru buz üzerinde Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi araştırma laboratuvarına taşındı ve -80°C'de saklandı. İshal olmayan sağlıklı buzağılar kontrol grubu olarak belirlendi.

3.2. ATR-FTIR Spektroskopisi İle Serum Çalışmaları: Seruma Özgü Potansiyel Biyobelirteçlerin Tespiti Ve İlgili Spektral Parametrelerin Kantitatif Hesaplamaları

Dondurulmuş serum örnekleri, spektroskopik incelemeye önce oda sıcaklığında çözündürülecek ve vorteks işlemine tabi tutuldu. Serum örnekleri hiçbir ön işlem yapılmadan ATR ünitesinin (PerkinElmer) Zn/Se kristali üzerine 1 µl hacimde yerleştirilerek ve fazla bağlanmamış suyu uzaklaştırmak için çok hafif bir nitrojen gazı akışı ile 2 dakika kurutuldu. ATR-FTIR spektrometresi (PerkinElmer) ile 4 cm⁻¹ çözünürlük ve 32 tarama sayısı aralığında optimize edilerek incelendi. Spektrumların eldesi Spectrum One (PerkinElmer) yazılımı ile 4000-650 cm⁻¹ dalga boyu (wavenumber) aralığında gerçekleştirildi. Her ölçüm öncesi kâğıt havlu kullanılarak saf su ve etil alkol ile kristal yüzeyin temizliği sağlandı. Her ölçümden önce ortamdaki havanın arka plan spektrumu elde edildikten sonra, her bir örnek için FTIR cihazı ile 3 ayrı ölçüm yapıldı ve detaylı bant analizlerinde bu spektrumların ortalamaları kullanıldı. İncelenen her bir örneğe ait ortalama spektrumlara, farkların görsel ifadesi için temel çizgi (baseline) düzeltilmesi yapıldı. Daha sonra OPUS 5.5 (Bruker) yazılımı ile spektrumlar işlendi (pre-processing). Bu şekilde işlenen spektrumlardaki protein, lipid ve nükleik asitler vb. moleküllere özgü bantların alan, şiddet ve pozisyon parametrik değerleri

uygun yazılımsal algortima/metotlarla hesaplanarak spektral biyobelirteçlerin niteliksel ve niceliksel analizleri yapıldı. Biyofotonik biliminde molekülün yoğunluk değeri o molekülün ışığı soğurması yani absorbansı ile orantılıdır. Moleküler spektroskopide Beer–Lambert yasası, ışığı emen bir malzemenin soğurmasının çözeltideki konsantrasyonu ile orantılı olduğunu belirtir (Gurbanov vd.2021 & Gurbanov ve Yıldız, 2017)

3.3. Öngörücü Analizler

Tüm öngörücü analizler için Unscrambler® X 10.3 (CAMO Software AS) çok değişkenli analiz (MVA) yazılımı kullanıldı. Tanısal amaçlar için öngörücü bir model geliştirmek için; ilk olarak, dana serumlarından (S, H ve İ grubu veri kümeleri) alınan kızılötesi veri kümeleri işlendi ve daha sonra gözetimsiz ve keşifsel- temel bileşen analizi (PCA) kullanılarak analiz edildi (Gurbanov vd., 2021). 4000–650 cm^{-1} aralığındaki ham spektral veriler, analizlerde enstrümantasyona bağlı önyargıları en aza indirmek için üç ön işleme adımından geçti. İlk olarak, 1-3351 veri sütunlarını kullanarak bir ofset ayarlama yöntemi kullanılarak temel düzeltme uygulandı. İkinci olarak, aynı veri sütunlarını kullanarak spektral çözünürlüğü artırmak için 9 noktalı bir düzeltme penceresine sahip bir Savitzky-Golay ikinci türev dönüşümü uygulandı. Üçüncüsü, genlik değişimlerini standartlaştırmak için birim vektör normalizasyonu gerçekleştirildi. İşlenen spektrumlar ortalama merkezliydi ve 30 örneklik bir kalibrasyon seti kullanılarak 30 segmentli tam yöntemle çapraz doğrulandı. Tekil değer ayrıştırma (SVD) ve matris faktörizasyon algoritması aracılığıyla yürütülen PCA, orta kızılötesi bölge (4000–650 cm^{-1}) üzerindeki çeşitli spektral pencerelere bağımsız olarak uygulandı. Model, yorumlanabilirliği optimize etmek için 10 temel bileşenle sınırlandırıldı. Bu şekilde geliştirilen gözetimsiz yöntem, hastalık tanısı için öngörücü bir model geliştirmek amacıyla gözetimli sınıflandırma tekniği- Doğrusal Ayrım Analiz (LDA) kullanılarak daha fazla analiz edildi. LDA, Bayes teoremine dayanan, Bayes sınıflandırıcıları arasında sadeliğiyle öne çıkan gözetimli bir sınıflandırma yöntemidir. Teknik, grup içi varyansa göre grup içi varyansı en üst düzeye çıkararak sınıfları en iyi şekilde ayıran model parametrelerini tahmin etmeyi amaçlar. Eğitildikten sonra, model gözlemlenmemiş veri noktalarına sınıf etiketleri atar. LDA iki temel varsayıma dayanır: (1) her sınıf koşullu dağılım çok değişkenli normal dağılımı izler ve (2) tüm sınıflar aynı kovaryans matrislerini paylaşır (homoskedastiklik). Bu varsayımlar toplu olarak doğrusal karar sınırları üretir ve LDA'yı sınıflandırma görevleri için hesaplama açısından verimli ve yorumlanabilir hale getirir (CAMO Software AS 2019). Kategori değişken sütunu bir veri matrisine dahil edildi ve ardından farklı örnek kategorilerinin tüm spektrumları bir eğitim seti oluşturmak için

kullanıldı. Eğitim setinden önceki olasılıklar hesaplandı. Tahmin modeli, kızılötesi spektrumların farklı alt bölgelerinde Mahalanobis yöntemini kullanarak 10 ana bileşeni yansıtmak için oluşturuldu. Sonuçlar, örnek kümelemesini vurgulayan ayırım çizimleri ve gruplar arası ayırmada her bir örnek durumunu/pozisyonunu tanımlayan tahmin ve karışıklık matrisleri aracılığıyla görselleştirildi (Ardahanlı vd., 2022 & Teker vd., 2023 & Ceylani vd., 2023). Destek Vektör Makinesi (SVM), istatistiksel öğrenme teorisine dayanan, farklı sınıflar arasındaki marjı en üst düzeye çıkaran optimum bir hiper düzlemi belirleme yeteneğiyle karakterize edilen bir gözetimli sınıflandırma tekniğidir. Orijinal özellik alanında doğrusal ayırma mümkün olmadığında, SVM, doğrusal ayırmanın uygulanabilir hale geldiği daha yüksek boyutlu bir alana verileri örtük olarak eşlemek için çekirdek işlevlerini kullanır. Bu "çekirdek hilesi", açık özellik dönüşümlerini nokta çarpım hesaplamalarıyla değiştirerek ikili temsili güçlendirir ve böylece doğrusal olmayan ilişkilerin verimli bir şekilde işlenmesini sağlar. Destek vektörleri (karar sınırına en yakın kritik eğitim verisi alt kümesi) hiper düzlemi tanımlar ve hesaplama verimliliğini garanti eder. SVM, dışbükey optimizasyon çerçevesi sayesinde küresel olarak en uygun çözüm, marj maksimizasyonu (bir düzenleme biçimi) aracılığıyla aşırı uyum riskinin azaltılması ve çekirdek fonksiyonları (örneğin polinom, radyal taban) aracılığıyla çeşitli veri yapılarına uyarlanabilirlik gibi belirgin avantajlar sunar. Sinir ağlarının aksine, SVM'nin performansı parametre değişimlerine karşı daha az hassastır ve ikinci dereceden programlamaya olan bağımlılığı istikrarlı, tekrarlanabilir sonuçlar sağlar. Bu nitelikler, SVM'yi hesaplamalı işlenebilirliği korurken karmaşık, doğrusal olmayan sınıflandırma görevleri için özellikle etkili hale getirir (Belousov vd., 2002 & CAMO Software AS 2019). Buzağı veri kümesi için sınıflandırma modeli, kızılötesi spektrumun C–H gerilme titreşim bölgesi ($4000\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$) içinde SVM kullanılarak geliştirildi. SVM çerçevesi, sınıf ayırımı ve marj hatalarını dengelemek için doğrusal bir çekirdek fonksiyonu ve 0,5'lik bir nu parametre değeri kullanan bir nu-SVC (nu-Destek Vektör Sınıflandırması, Sınıflandırma SVM Tip 2) algoritması ile yapılandırıldı. Önyargıyı azaltmak için tekdüze sınıf ağırlıkları (tüm sınıflar için 1,00) uygulandı. Model sağlamlığı, veri kümesini eğitim ve doğrulama alt kümelerine yinelemeli olarak bölerek genelleştirilebilirliği optimize ederek 30 katlı çapraz doğrulama yoluyla sağlandı.

3.4. İstatistiksel Analizler

Tek değişkenli istatistikler GraphPad Prism 10.5.0 (GraphPad, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arasında spektral parametreler arasındaki anlamlı farklılıkları değerlendirmek için Dunnett çoklu karşılaştırmalar testinin izlediği tek yönlü ANOVA

ve/veya bağımsız örneklem t-testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyleri $*p \leq 0,05$, $**p \leq 0,01$, $***p \leq 0,001$ ve $****p \leq 0,0001$ olarak tanımlandı. Sonuçlar, ortalama $\pm$ ortalama standart hatasını (SEM) gösteren çubuk grafikler olarak sunuldu.

3.5. Spektral Parametrelerin Ayrımsal Doğrulaması İçin ROC Analizi

Alıcı Çalışma Karakteristiği (ROC) analizi, spektral bant parametrelerinin iki tür arasındaki ayırt edici gücünü değerlendirmek ve doğrulamak amacıyla GraphPad Prism 10.5.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki spektral profil farklılıklarını en iyi şekilde ortaya koyabilmek için optimum eşik değerleri belirlendi. Elde edilen ROC eğrileri, artan eşik değerleri boyunca duyarlılık (gerçek pozitif oran) ile özgüllük (gerçek negatif oran) arasındaki ilişkiyi görselleştirerek sınıflandırma performansını değerlendirmek için nicel bir çerçeve sundu. Bu kapsamda, duyarlılık doğru sınıflandırılmış pozitiflerin oranını, özgüllük ise negatiflerin doğru tanımlanma derecesini ifade etmektedir.

Spektral parametrelerin genel tanısal değerini belirlemek üzere eğri altında kalan alan (AUC) ve standart hata (SE) %95 güven aralığında hesaplandı. AUC değerinin 0,5'in üzerinde olması ayrımcılık kapasitesine işaret ederken, daha yüksek değerler türler arasında artan ayırt edici gücü göstermektedir. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan ($p < 0,05$) ve AUC değeri 0,5'ten büyük olan parametreler ileri düzeyde yorumlamaya dahil edilerek analizin titizliği ve güvenilirliği sağlandı (Tokgöz vd., 2024).

4. BULGULAR

4.1. Serum Kızılötesi Spektroskopisi Ve Öngörücü Makine Öğrenimi Analizleri Kullanılarak Yenidoğan Buzağı İshali İçin Hızlı Tanı Platformu Geliştirilmesi

Bu bölümde, yenidoğan buzağı ishali için hızlı ve etkili bir tanı platformu geliştirilmesi ele alındı. Serum örnekleri kızılötesi spektroskopisi ile incelendi ve elde edilen veriler tahmini öngörücü makine öğrenimi algoritmaları kullanılarak analiz yapıldı. Bu yaklaşım, non-invaziv ve veri odaklı bir yöntem sağlayarak, erken ve doğru tanının elde edilmesini mümkün kıldı. Böylece, buzağı sağlığı yönetiminde hem hızlı hem de güvenilir bir araç olarak uygulanabilirliği gösterildi. Detaylı sonuçlar, sırasıyla Tablo 4.1–4.3 ve Şekil 4.1–4.4’te sunuldu.

Tablo 4.1. vücut sıvısı numunelerinin kızılötesi spektrumlarında gözlenen ortak bantlar ve bunların atıf kaynaklarını göstermektedir. Örneğin, 3377 cm^{-1} ’de gözlenen Amit A bandı, protein yapılarını yansıtır (Çakmak, Togan & Severcan, 2006). Alkil gruplarına ait olan CH_3 antisimetrik, CH_2 antisimetrik ve CH_3 simetrik bantları sırasıyla 2966, 2922 ve 2871 cm^{-1} bölgelerinde görülür ve aynı çalışmada tanımlanmıştır (Çakmak, Togan & Severcan, 2006). Ester gruplarını temsil eden $\text{C}=\text{O}$ gerilme bandı 1740 cm^{-1} ’de tespit edilmiştir (Abdulkhani vd., 2013). Protein yapılarıyla ilişkili diğer bantlar arasında, 1650 cm^{-1} ’deki Amit I, 1540 cm^{-1} ’deki Amit II ve 1301 cm^{-1} ’deki Amit III yer alır (Çakmak, Togan & Severcan, 2006; Kardas vd., 2014). Nükleik asit gruplarına ait olan PO_2^- antisimetrik ve PO_2^- simetrik gerilme bantları 1240 ve 1080 cm^{-1} ’de tespit edilmiştir (Çakmak, Togan & Severcan, 2006). RNA’ya özgü $\text{C}-\text{O}$ gerilme bandı 1116 cm^{-1} ’de, Z-DNA bandı 929 cm^{-1} ’de gözlenmiştir (Ozek vd., 2010). Ayrıca, DNA A ve B formuna ait bantlar 837 cm^{-1} ’de, $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ gerilme bandı ise 898 cm^{-1} ’de saptanmıştır (Abdulkhani vd., 2013).

Tablo 4.1. Vücut sıvısı numunelerinin kızılötesi spektrumları için ortak bant tanımlamaları

Vücut sıvısı numunelerinin kızılötesi spektrumları için ortak bantlar		
Dalga sayısı (cm^{-1})	Bant İsmi	Kaynaklar
3300	Amid A	Cakmak, G., Togan, I., & Severcan, F. (2006).
2966	CH_3 antisimetrik	Cakmak, G., Togan, I., & Severcan, F. (2006).
2922	CH_2 antisimetrik	Cakmak, G., Togan, I., & Severcan, F. (2006).

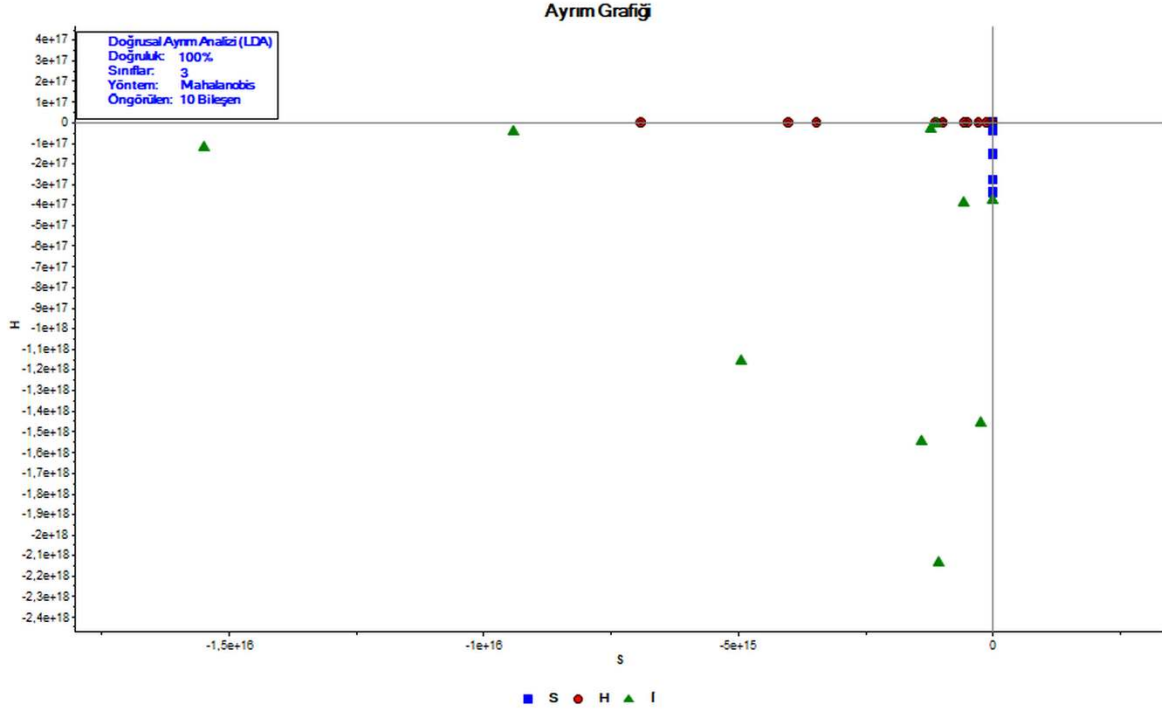
Tablo 4.1. (devamı) Vücut sıvısı numunelerinin kızılötesi spektrumları için ortak bant tanımlamaları

Vücut sıvısı numunelerinin kızılötesi spektrumları için ortak bantlar		
Dalga sayısı (cm⁻¹)	Bant İsmi	Kaynaklar
2871	CH ₃ simetrik	Cakmak, G., Togan, I., & Severcan, F. (2006).
1740	Ester C=O	Abdulkhani vd., (2013).
1650	Amid I	Cakmak, G., Togan, I., & Severcan, F. (2006).
1540	Amid II	Cakmak, G., Togan, I., & Severcan, F. (2006).
1301	Amid III	Kardas vd., (2014).
1240	PO ₂ ⁻ antisimetrik	Cakmak, G., Togan, I., & Severcan, F. (2006).
1116	C-O RNA Ribozu	Ozek vd., (2010)
1080	PO ₂ ⁻ simetrik gerilme	Cakmak, G., Togan, I., & Severcan, F. (2006).
929	Z DNA	Ozek vd., (2010)
898	C-O-C Gerilme	Abdulkhani vd., (2013).
837	DNA A ve B Formu	Abdulkhani vd., (2013).

Şekil 4.1’de gösterilen LDA analizi, IR spektral verilerinin parmak izi bölgesi (1800–650 cm⁻¹) kullanılarak Sağlıklı (S), Hastalıklı (H) ve İyileşmiş (İ) yenidoğan buzağı serumlarını başarıyla ayırt etmektedir. Model, üç grubu %100 doğrulukla sınıflandırmış ve bu performans spektral alt bölgelerde de tutarlı şekilde tekrarlanmıştır. Tahmin ve karışıklık matrisleri (Tablolar 4.2–4.3) tüm örneklerin doğru sınıflandırıldığını doğrulamaktadır. Tablo 4.2’de sunulan ayırım puanları (skorlar), her örneğin ilgili sınıf merkezine olan Mahalanobis mesafelerini göstermekte olup, daha düşük değerler ilgili sınıfla güçlü hizalanmayı ifade eder. Örnek olarak, bir S örneğinin S sınıfı puanı (-505), H ve İ puanlarına kıyasla belirgin şekilde daha az negatiftir ve modelin örneği doğru şekilde S olarak sınıflandırmasını sağlamaktadır. Bu skorlar ayrıca gruplar arasındaki serum spektrumlarındaki biyokimyasal farklılıkları da yansıtmaktadır.

Buna ek olarak, SVM analizi C–H gerilme bölgesi (4000–2500 cm⁻¹) üzerinde %100 eğitim doğruluğu ve %74 doğrulama doğruluğu ile benzer bir sınıflandırma başarısı göstermiştir (Şekil 4.2). Her iki analiz de, LDA ve SVM’in yenidoğan buzağılardaki farklı

fizyolojik durumları hassas ve güvenilir bir şekilde ayırt edebildiğini ortaya koymaktadır. Bu bulgular, serumların IR spektral analizi yoluyla sağlık, hastalık ve iyileşme durumlarının non-invaziv olarak belirlenmesinde güçlü bir potansiyel sunduğunu göstermektedir.

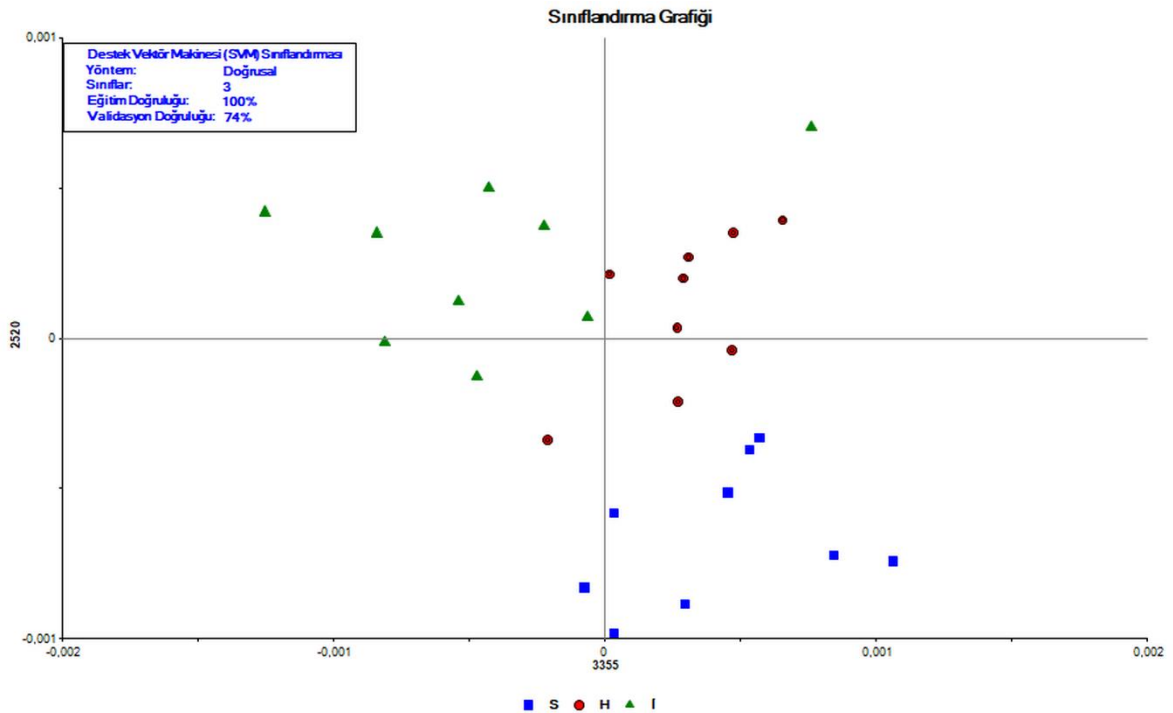


Şekil 4.1. Parmak izi ($1800\text{--}650\text{ cm}^{-1}$) kızılötesi spektral penceresindeki yeni doğan buzağı serumu için ayırım grafiği. Mahalanobis yöntemi kullanılarak 10 ana bileşenin projeksiyonu için Doğrusal Ayrım Analizi (LDA) kullanıldı. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).

Seçili dalga sayısı bölgelerindeki tam kızılötesi spektral veri setinin nitel analizi, yenidoğan buzağı serumlarında belirgin biyokimyasal değişiklikleri ortaya koydu (Şekil 4.3). Önemle vurgulanmalıdır ki, bu değerlendirme, Şekil 4.3'te sunulan çalışma gruplarının ortalama spektrumları yerine, her bir bireysel spektrum üzerinde yapıldı. Şekilde sunulan ortalama spektrumlar yalnızca değişikliklerin görsel olarak tasvirini kolaylaştırmak amacıyla oluşturuldu. Analizler sonucunda spektrumlarda iki belirgin değişiklik gözlemlendi (Şekil 4.3a). Birincisi, C–H gerilme bölgesinde ($4000\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$) yer almakta olup, yaklaşık 3300 cm^{-1} 'de merkezlenen belirgin bir emilim bandıyla karakterize edildi (Şekil 4.3b). Bu bant, Talari ve arkadaşları (2017) tarafından belirtildiği üzere, ağırlıklı olarak protein konformasyonlarıyla ilişkili olan Amid A gruplarının NH gerilme titreşimlerine atfedilebilir. İkinci kayda değer spektral özellik ise parmak izi bölgesinde ($1800\text{--}650\text{ cm}^{-1}$) ortaya çıkmakta ve yaklaşık 1080 cm^{-1} 'de gözlenen bir bantla karakterize edildi (Şekil 4.3c). Söz konusu sinyal, fosfat

omurgalarının simetrik gerilme modları ile uyumludur ve esas olarak nükleik asitler ve/veya fosfolipitlerde gözlenir; bu bulgu, Severcan ve arkadaşları (2024) tarafından bildirilen önceki atamalarla tutarlılık gösterdi.

Bu sonuçlar, yenidoğan buzağı serumlarındaki farklı fizyolojik durumlar boyunca biyokimyasal varyasyonları yansıtan, bölgeye özgü moleküler imzaların varlığını açıkça ortaya koydu. Dolayısıyla, seçili dalga sayısı bölgelerindeki kızılötesi sinyalleri, buzağı serumlarının moleküler profilini değerlendirmede güçlü ve özgün bir araç olarak kullanılabilir.



Şekil 4.2. C-H gerilme ($4000-2500\text{ cm}^{-1}$) kızılötesi spektral pencerede yeni doğan buzağı serumu için sınıflandırma grafiği. Destek Vektör Makinesi (SVM) sınıflandırması, SVM türü kullanılarak uygulandı: Sınıflandırma (nu-SVC), Çekirdek türü: Doğrusal, Nu değeri: 0,5, Ağırlıklar: Hepsi 1,00, Çapraz doğrulama segmentleri: 30. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).

Tablo 4.2. Parmak izi (1800-650 cm⁻¹) kızılötesi spektral penceresinde yenidoğan buzağı serumu için tahmin matrisi. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).

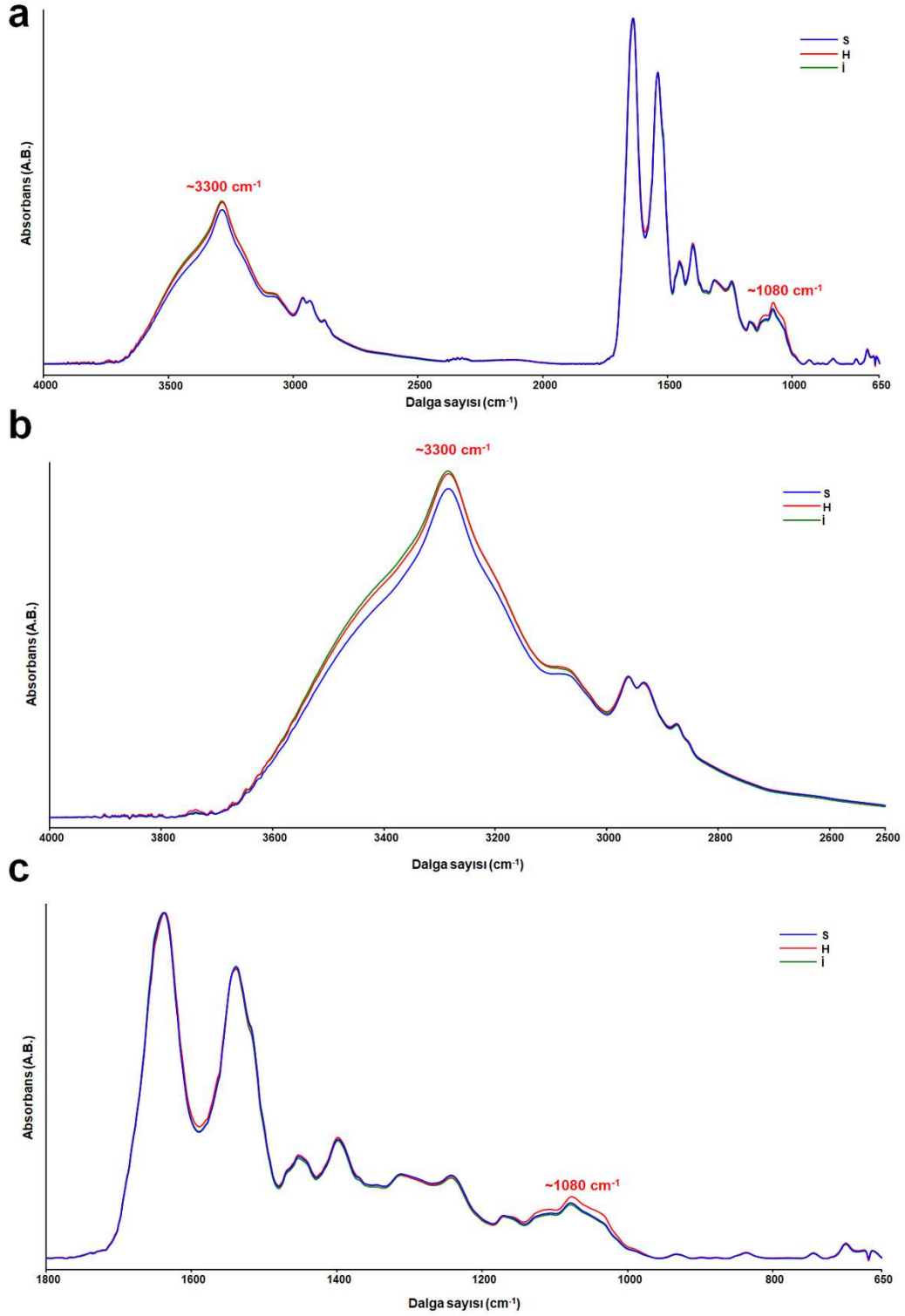
Tahmin Matrisi				
Mevcut	S	H	İ	Tahmin edilen
S	-505	-1478288000000000	-3784406000000000	S
S	-21	-1061291000000000	-2745591000000000	S
S	-124	-9461145000000000	-1331355000000000	S
S	-38	-15364710000000000	-5404716000000000	S
S	-25	-13793710000000000	-5337004000000000	S
S	-28	-27659460000000000	-	S
S	-8	-33658520000000000	-2618599000000000	S
S	-46	-4689957000000000	-4465460000000000	S
S	-129	-4007160000000000	-	S
S	-38	-6694545000000000	-	S
H	-9889813000000000	-80	-1865190000000000	H
H	-3476273000000000	-1406	-3280974000000000	H
H	-1117593000000000	-3792	-5493921000000000	H
H	-5045174000000000	-2001	-2842882000000000	H
H	-4015377000000000	-945	-4711405000000000	H
H	-273729600000	-12	-5398007000000000	H
H	-5634604000000000	-2115	-2201946000000000	H
H	-1401894000000000	-14170	-3643294000000000	H
H	-3053655000000000	-1108	-8843089000000000	H
H	-6926108000000000	-6017	-3386058000000000	H
İ	-4941371000000000	-11586860000000000	-168	İ
İ	-1401850000000000	-15477400000000000	-506	İ
İ	-1549694000000000	-12173190000000000	-334	İ

Tablo 4.2. (devamı) Parmak izi (1800-650 cm^{-1}) kızılötesi spektral penceresinde yenidoğan buzağı serumu için tahmin matrisi. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).

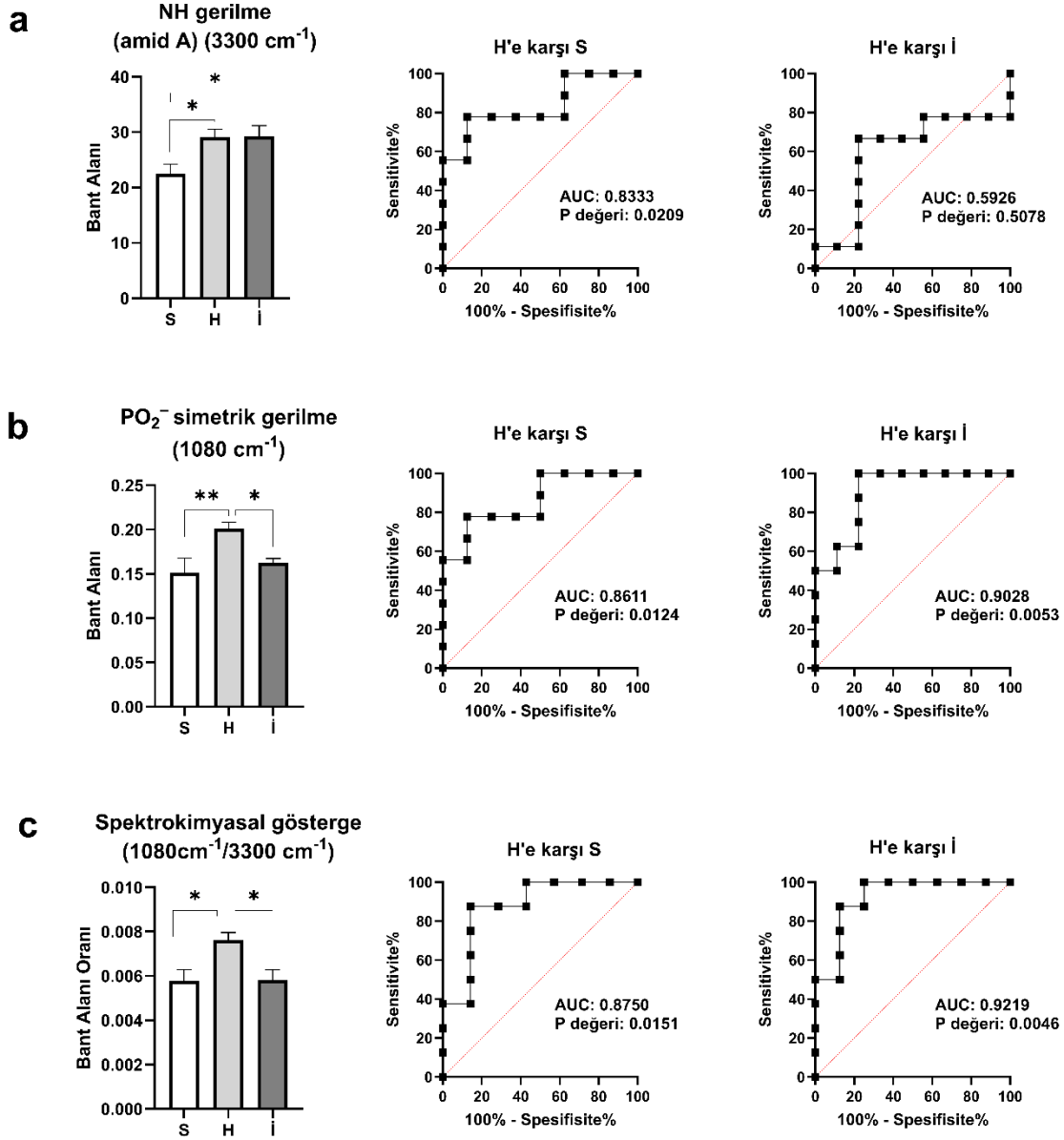
Tahmin Matrisi				
Mevcut	S	H	İ	Tahmin edilen
İ	-10666630000000000	-2136042000000000000	-53	İ
İ	-12117620000000000	-31086580000000000	-291	İ
İ	-11267160000000000	-53162850000000000	-143	İ
İ	-94137670000000000	-42447600000000000	-843	İ
İ	-24447420000000000	-1459523000000000000	-48	İ
İ	-56579620000000000	-3856154000000000000	-62	İ
İ	-82442100000000000	-3775958000000000000	-1124	İ

Tablo 4.3. Parmak izi (1800-650 cm^{-1}) kızılötesi spektral penceresinde yenidoğan buzağı serumu için karışıklık matrisi. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).

Karışıklık Matrisi	Mevcut	S	H	İ
Tahmin edilen		1	2	3
S	1	10	0	0
H	2	0	10	0
İ	3	0	0	10



Şekil 4.3. Yenidoğan buzağı serumunun a) tam (4000-650 cm⁻¹), b) C-H gerilme (4000-2500 cm⁻¹) ve c) parmak izi (1800-650 cm⁻¹) kızılötesi spektral pencerelerindeki ortalaması alınmış, temel çizgi düzeltilmiş ve normalize edilmiş kızılötesi spektrumları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).



Şekil 4.4. Yenidoğan buzağı serumundaki spektral bantların kantifikasyonu. a) 3300 cm^{-1} 'deki NH gerilme Amid A bandı, b) 1080 cm^{-1} 'deki PO_2^- simetrik gerilme bandı ve c) spektrokimyasal gösterge ($1080\text{ cm}^{-1}/3300\text{ cm}^{-1}$). S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).

Tanımlanan spektral bantların derinlemesine kantitatif değerlendirmesi, yenidoğan buzağı grupları arasında anlamlı farklılıklar göstermiştir (Şekil 4.4). Proteinlerdeki NH gerilme titreşimleriyle ilişkili Amid A bandı (yaklaşık 3300 cm^{-1}), Sağlıklı (S) buzağılara kıyasla Hastalıklı (H) ve İyileşmiş (İ) buzağılarda belirgin olarak artmıştır. ROC analizi, bu bandın H grubunda yenidoğan buzağı ishalini ayırt etmede yüksek tanısal değerini ortaya

koyarken (AUC = 0,8333), iyileşme durumunu değerlendirmede etkinliği azalmıştır (İ: AUC = 0,5926) (Şekil 4.4a).

Nükleik asit miktarlarıyla ilişkili PO_2^- simetrik gerilme bandı (yaklaşık 1080 cm^{-1}) ise H grubunda belirgin artış göstermiş ve İ grubunda başlangıç seviyelerine dönmüştür. Bu eğilim, yüksek AUC değerleriyle doğrulanmış olup (H: AUC = 0,8611; İ: AUC = 0,9028), hem hastalık hem de iyileşme süreçlerine duyarlılığı ortaya koymuştur (Şekil 4.4b).

Bu bulgulara dayanarak, PO_2^- /Amid A bandı alanlarının oranı ($1080\text{ cm}^{-1}/3300\text{ cm}^{-1}$) temelinde bir spektrokimyasal indeks geliştirilmiştir. Serum örneklerinde yüksek indeks değerleri aktif hastalık durumunu, düşük değerler ise iyileşmeyi göstermektedir. ROC doğrulaması, indeksin yüksek tanısal etkinliğini desteklemiştir (H: AUC = 0,8750; İ: AUC = 0,9219) (Şekil 4.4c). Sonuç olarak, bu indeks, yenidoğan buzağılarda hastalık ve iyileşme ile ilişkili biyokimyasal değişimleri hızlı ve invazif olmayan bir şekilde izlemeyi mümkün kılmakta ve spektral veriler ile klinik önemi arasında etkin bir köprü oluşturmaktadır.

4.2. Serum Kızılötesi Spektroskopisi Kullanılarak Hastalık Patogenezinde Rol Oynayan Biyomoleküler İşaretlerin Belirlenmesi

Hastalık patogenezi, biyomoleküler düzeyde ortaya çıkan yapısal ve fonksiyonel değişimlerin bütüncül olarak incelenmesiyle anlaşılabilir. Bu bağlamda, serum kızılötesi spektroskopisi, lipid, protein ve nükleik asit bileşenlerinde meydana gelen değişiklikleri hızlı, non-invaziv ve kapsamlı biçimde değerlendirme imkânı sunarak patogenez araştırmalarında güçlü bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Çalışmanın bu bölümünde, sağlıklı, hastalıklı ve iyileşmiş yenidoğan buzağı gruplarına ait serum spektrumları karşılaştırılmış, $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığındaki kritik bantlar belirlenmiş ve biyomoleküler düzeydeki farklılıklar ortaya konmuştur. Elde edilen bulgular ışığında lipid, protein ve nükleik asitlerdeki değişimler kantitatif ve nitel olarak analiz edilmiş, bant alanı ve bant genişliği ölçümleri gerçekleştirilmiş ve ROC analizleriyle bu değişimlerin tanısal değerleri sınanmıştır. Böylece, hastalık sürecine özgü biyokimyasal yansımalar bütüncül bir yaklaşımla açıklanmış, patogenez ile iyileşme arasındaki ayrımı gösterebilen spektrokimyasal indeksler geliştirilmiş ve bunların doğruluğu ortaya konulmuştur. Elde edilen sonuçlar sırasıyla Tablo 4.4 ve Şekil 4.5-4.8'de sunulmuştur.

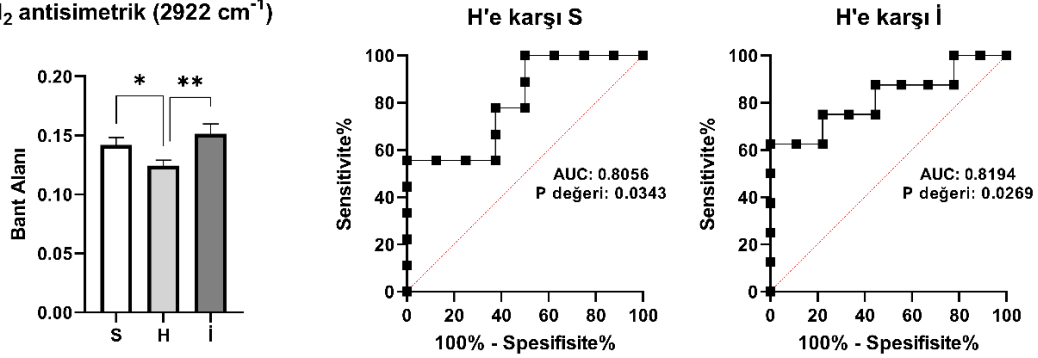
Tablo 4.4. 4000-650 cm^{-1} kızılötesi spektral bölgesindeki S (Sağlıklı), H (Hastalıklı) ve İ (İyileşmiş) yenidoğan buzağı gruplarının ortalama serum spektrumlarındaki kritik değişimler gözlemlenen bantlar ve tanımlamaları.

No	Bant dalga sayısı (cm^{-1})	Tanım
1	3300	N-H Gerilme Titreşimi
2	2922	CH_2 antisimetrik gerilme
3	1740	Ester C=O gerilme titreşimi
4	1240	PO_2^- antisimetrik gerilme
5	1116	C-O RNA Riboza
6	1080	PO_2^- simetrik gerilme
7	929	Z DNA formu
8	898	C-O-C gerilme
9	837	DNA A ve B formu

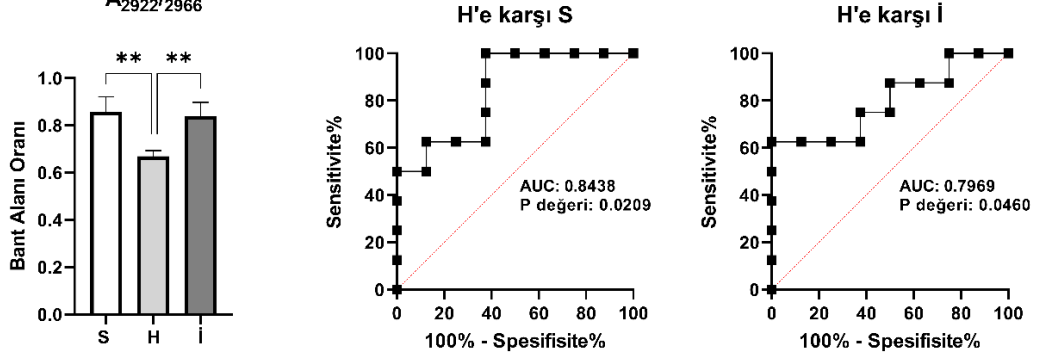
Tablo 4.4’de yenidoğan buzağı gruplarına ait ortalama serum spektrumlarında gözlenen anlamlı değişimlerin gerçekleştiği bantlar belirlenmiştir. Bu bant bölgelerindeki farklılıklardan hareketle, hastalık ve iyileşme süreçleriyle ilişkili spektral işaretler ortaya konmuştur. Bulgular, söz konusu bantlarda meydana gelen değişimlerin doğrudan patolojik süreçler ve iyileşme ile bağlantılı olduğunu göstermiştir. Ayrıca, bu spektral bölgelerdeki değişimlerin şiddeti ve istatistiksel anlamlılık düzeyleri bu bölüm kapsamında ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir.

4.2.1. Serum Lipit Biyomolekülleri Üzerindeki Değişimler

a CH₂ antisimetrik (2922 cm⁻¹)



b Yağ Asitlerinin Açıl Zincir Uzunluğu A_{2922/2966}

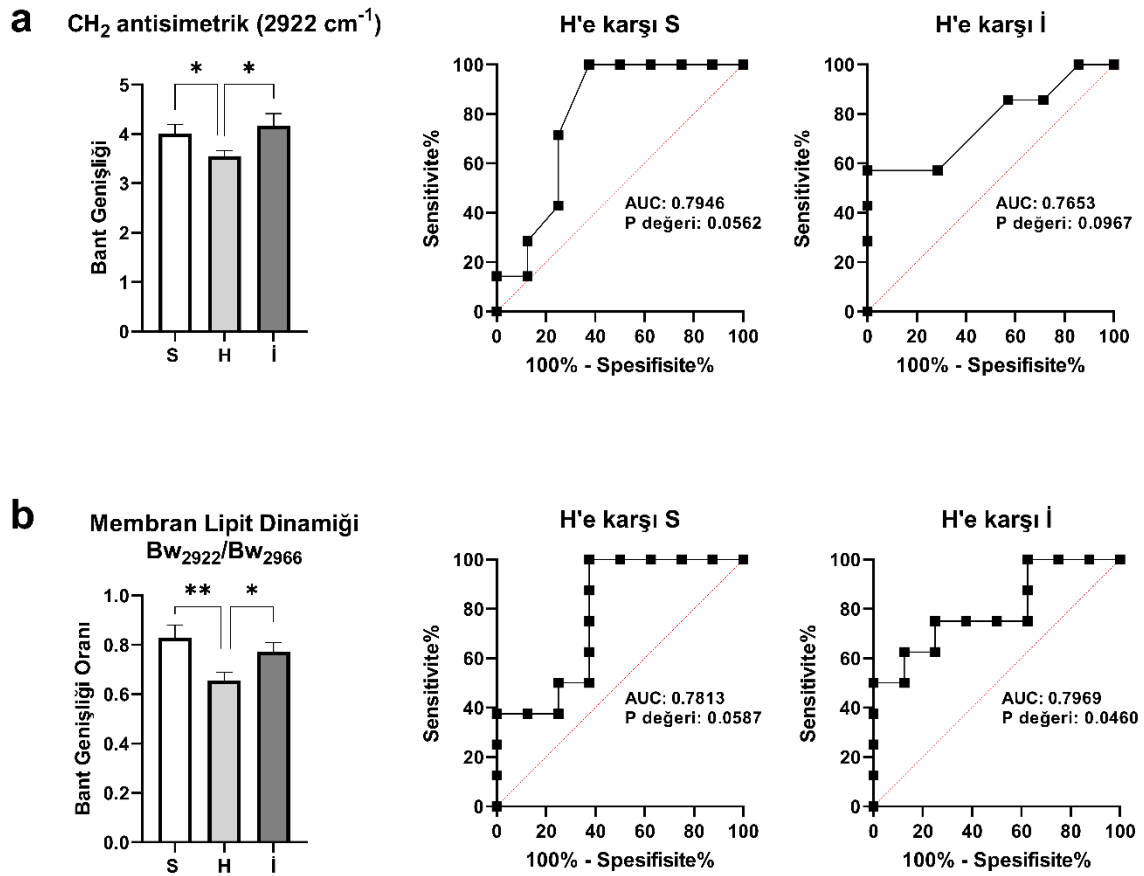


Şekil 4.5. Yenidoğan buzağı serumlarındaki lipit parametreleri ile ilişkili spektral bantların kantifikasyonu ve ROC analizi sonuçları. a) CH₂ antisimetrik (2922 cm⁻¹) bandının integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. b) Yağ asitlerinin açıl zincir uzunluğu indeksinin (A_{2922/2966}) integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).

Lipit parametreleri ile ilişkili yapılan ileri kantitatif değerlendirme, spektral bant integral alanlarının gruplar arasında belirgin biçimde ayrıştığını gösterdi (Şekil 4.5). Özellikle lipit mimarisine duyarlı CH₂ antisimetrik (2922 cm⁻¹) bandında, S (sağlıklı) ve İ (iyileşmiş) gruplarda gözlenen yükseliş, H (hastalıklı) gruptaki düşüşle tezat oluşturarak, hastalık sürecinin membran akıl zinciri düzeni ve paketlenmesini bozduğunu düşündürmektedir. Bu desen, patogenezin beklenen biyokimyasal izleri olan oksidatif/peroksidatif stres, zincir kısalması/yeniden modelleme ve lipoprotein bileşimi kaymaları ile uyumludur. Bulgular, ROC analizleriyle güçlü biçimde doğrulanmıştır (H: AUC = 0,8056; İ: AUC = 0,8194; Şekil 4.5a) ve hem hastalık varlığına hem de iyileşmeye duyarlılığı göstermektedir.

Lipitlerde yağ asitlerinin açıl zincir uzunluğu indeksi olarak kullanılan $A_{2922/2966}$ oranı, patogenezin yapısal izdüşümünü daha da keskinleştirdi. H grubunda azalmış indeks değerleri, aktif hastalığa eşlik eden akil zinciri kısalması/branşlanma artışı ve zar akışkanlığında bozulma ile uyumlu iken, İ grubunda yükseliş, membran paketlenmesindeki potansiyel toparlanma ve biyokimyasal düzelmeye işaret etmektedir. İndeksin tanısal performansı da yüksek olarak hesaplanmıştır (H: AUC = 0,8438; İ: AUC = 0,7969; Şekil 4.5b).

Toplamda, 2922 cm^{-1} bandı ve $A_{2922/2966}$ oranındaki değişimler, yenidoğan buzağlarda hastalık patogenezinin zar lipiti düzeyindeki yeniden yapılanma ile seyrettiğini ve iyileşme sürecinde spektral normalleşmeye doğru bir yakınsama olduğunu göstermektedir. Böylece, söz konusu spektrokimyasal göstergeler, hastalık–iyileşme eksenindeki biyokimyasal değişimleri hızlı ve invaziv olmayan biçimde izlemek için yüksek öngörü doğruluğuna sahip araçlar sunmaktadır.



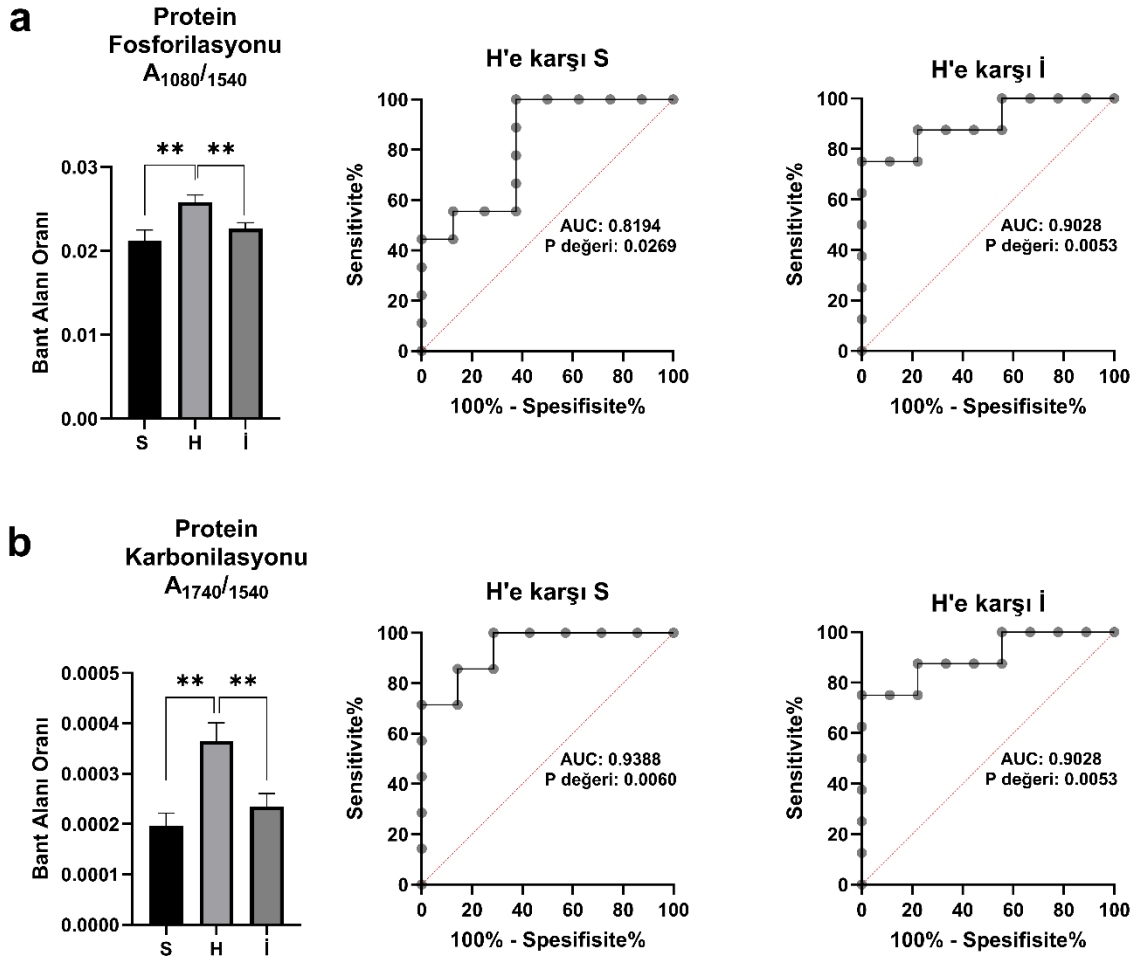
Şekil 4.6. Yenidoğan buzağı serumlarındaki lipit parametreleri ile ilişkili spektral bantların bant genişliklerinin kantifikasyonu ve ROC analiz sonuçları. a) CH_2 antisimetrik (2922 cm^{-1}) bant bölgesinin bant genişliği grafiği, H - S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. b)

Membran lipid dinamiği (Bw_{2922}/Bw_{2966}) indeksinin grafiği, H- S ve H – İ karşılaştırılmalı ROC'ları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş), Bw (Bant genişliği).

şekil 4.6'da sunulan bulgular, yenidoğan buzağılarda hastalık patogenezi ile lipid metabolizması ve hücree membran dinamikleri arasındaki ilişkiye dair önemli ipuçları taşımaktadır. Hastalıklı (H) grupta, sağlıklı (S) ve iyileşmiş (İ) gruplara kıyasla CH_2 antisimetrik (2922 cm^{-1}) bant genişliğinde bir azalma gözlemlenmiştir (şekil 4.6a). Bu bulgu, hastalık patogenezinde lipid zincirlerinin hareketliliğinde bir kısıtlama ve membran yapısında rigidite (sertleşme) artışı olduğuına işaret etmektedir. Bu durum, membran fluiditesinin azaldığını ve patolojik süreçlerle ilişkili olarak hücree zarı fonksiyonlarının bozulduğuunu düşündürmektedir. Membran lipid dinamiklerini yansıtan Bw_{2922}/Bw_{2966} oranındaki değişim ise hastalık grubunda membran stabilitesinin azaldığına ve lipid kompozisyonunun bozulduğuına işaret etmektedir (şekil 4.6b).

ROC analiz sonuçları (H: AUC $\sim 0.78-0.79$), bu parametrelerin tanısall potansiyelini desteklemekle birlikte, p-değerlerinin sınırda olması ($p \sim 0.05-0.09$), sonuçların dikkatle yorumlanması ve daha geniş örneklerle doğrulanması gerektiğini göstermektedir. Özellikle iyileşmiş gruptaki ara değerler (İ: AUC $\sim 0.76-0.79$), membran onarım süreçlerinin devam ettiğini düşündürmektedir. Bu bulgular, hastalık patogenezinde oksidatif hasara bağlı lipid metabolizması bozukluklarının ve membran fonksiyon kaybının kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

4.2.2. Serum Protein Biyomolekülleri Üzerindeki Değişimler



Şekil 4.7. Yenidoğan buzağı serumlarındaki protein parametreleri ile ilişkili spektral bantların integral alan kantifikasyonu ve ROC analiz sonuçları. a) Protein fosforilasyonu ($A_{1080/1540}$) indeksinin grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. b) Protein karbonilasyonu ($A_{1740/1540}$) indeksinin grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).

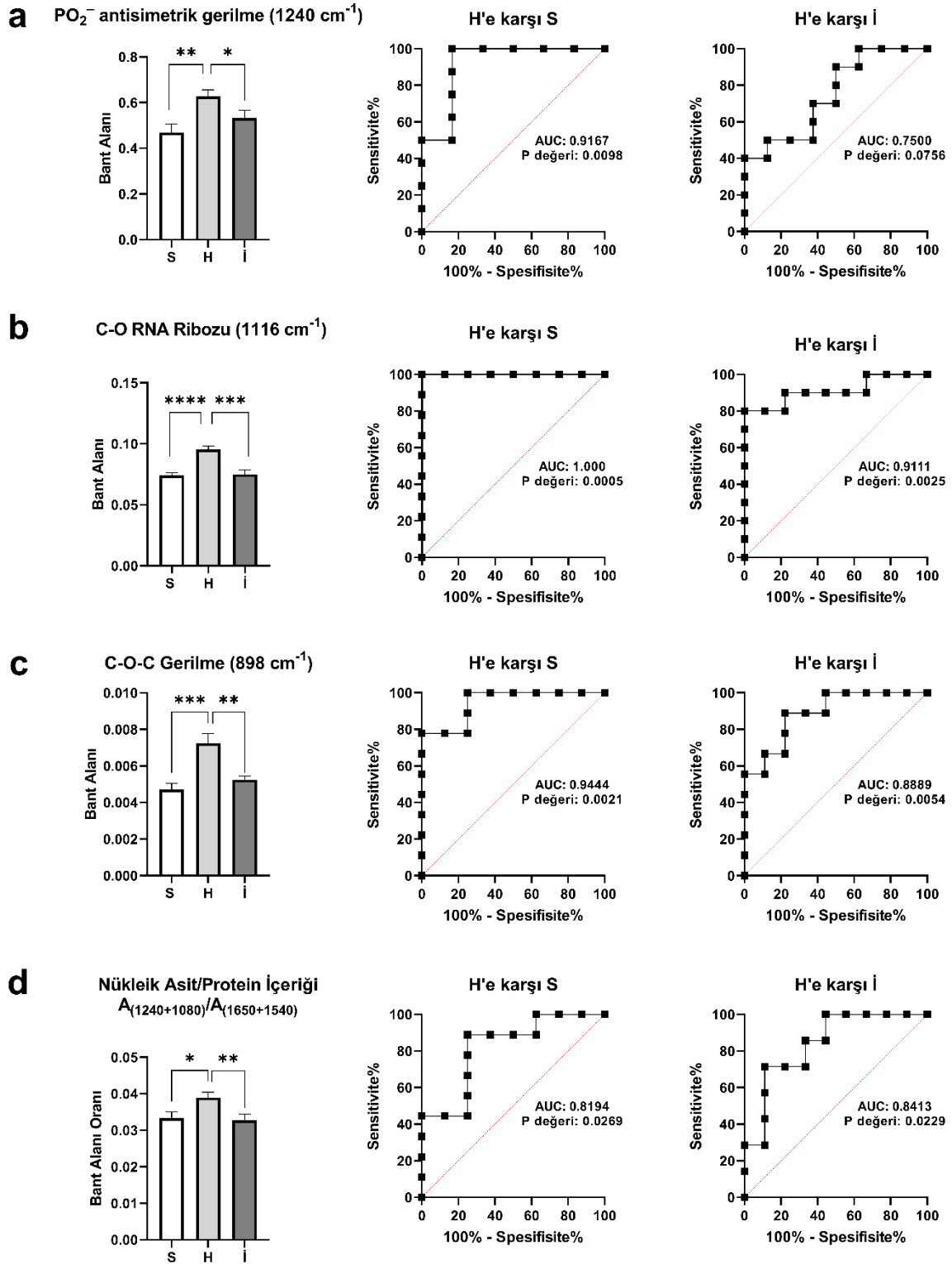
Şekil 4.7'de sunulan bulgular, yenidoğan buzağılarda hastalık patogenezi ve iyileşme sürecinin protein modifikasyonları üzerindeki etkilerini ortaya koymaktadır. Çalışmada incelenen iki önemli protein modifikasyonu olan fosforilasyon (A_{1080}/A_{1540}) ve karbonilasyon (A_{1740}/A_{1540}) indekslerinde hastalıklı grupta (H) sağlıklı kontrollere (S) kıyasla belirgin artışlar gözlenmiştir. Protein Fosforilasyonu (A_{1080}/A_{1540}) analizlerinde, hastalıklı grupta (H) sağlıklı (S) gruba kıyasla belirgin bir artış gözlenirken, iyileşmiş grupta (İ) bu değerlerin sağlıklı kontrol grubuyla benzer seviyelere indiği görülmektedir. İyileşmiş gruptaki fosforilasyon seviyelerinin hastalıklı gruba kıyasla anlamlı şekilde düşük olması ve sağlıklı

grup ile istatistiksel olarak fark göstermemesi, hücrel sinyal iletim mekanizmalarındaki bozulmanın düzeldiğini göstermektedir (Şekil 4.7a).

Protein Karbonilasyonu (A_{1740}/A_{1540}) verileri ise oksidatif protein hasarının iyileşme sürecindeki seyri hakkında önemli bulgular sunmaktadır. İyileşmiş grupta karbonilasyon seviyelerinin hem hastalıklı gruba kıyasla belirgin şekilde azalması hem de sağlıklı kontrol grubuyla benzerlik göstermesi, oksidatif stresin ortadan kalktığını ve protein hasarının iyileştiğini açıkça göstermektedir (Şekil 4.7b).

Elde edilen bulgular, hastalık sürecinde ortaya çıkan protein modifikasyonlarının, iyileşme sürecinde sağlıklı seviyelere döndüğünü ortaya koymaktadır. Özellikle her iki parametre için de iyileşmiş grup ile sağlıklı grup arasındaki benzerlik, patolojik süreçlerin ardından moleküler düzeydeki iyileşmenin gerçekleştiğini göstermektedir. Her iki parametre için yapılan ROC analizleri (H: AUC = 0.8194 ve 0.9388; İ: AUC = 0.9028) bu biyobelirteçlerin hastalıklı ve sağlıklı gruplar arasında ayırım yapmada yüksek tanısal doğruluğa sahip olduğunu ve hastalık sonrası iyileşme sürecinin değerlendirilmesinde güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini desteklemektedir.

4.2.3. Serum Nükleik Asit Biyomolekülleri Üzerindeki Değişimler



Şekil 4.8. Yenidoğan buzağı serumlarındaki nükleik asit parametreleri ile ilişkili spektral bantların integral alan kantifikasyonu ve ROC analiz sonuçları. a) PO_2^- antisimetrik gerilme (1240 cm^{-1}) bandının integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. b)

C-O RNA Ribozu (1116cm^{-1}) bandının integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. c) C-O-C gerilme (898cm^{-1}) bandının integral alan grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. d) Nükleik asit/Protein içeriği ($A_{(1240+1080)}/A_{(1650+1540)}$) indeksinin grafiği, H – S ve H – İ karşılaştırmalı ROC'ları. S (Sağlıklı), H (Hastalıklı), İ (İyileşmiş).

Şekil 4.8, hastalıklı (H) yenidoğan buzağılarda dolaşımdaki nükleik asit yükünün arttığını ve iyileşme (İ) döneminde gerilediğini açık biçimde göstererek patogenezin doku hasarı-inflamasyon-nükleik asit salınımı ekseninde ilerlediğini düşündürmektedir. H grubunda, nükleik asit omurgasına karşılık gelen PO_2^- antisimetrik gerilme (1240 cm^{-1}), RNA'ya özgü C-O (1116 cm^{-1}) ve glikozidik bağa karşılık gelen C-O-C (898 cm^{-1}) bantlarının integral alanları anlamlı biçimde yükselmiştir (sırasıyla, H: AUC = 0.9167, 1.000 ve 0.9444). Özellikle 1116 cm^{-1} (RNA ribozu) ve 898 cm^{-1} bantlarının H ile İ ayrımı için de yüksek ayırt ediciliğe sahip olması (sırasıyla, İ: AUC = 0.9111 ve 0.8889), hastalık aktivitesi azaldıkça hücre dışı serbest nükleik asitlerin (cfNA) ve nükleoprotein komplekslerinin dolaşımdaki miktarının düştüğünü gösterir. Buna karşılık 1240 cm^{-1} bandı iyileşme süreci için daha sınırlı bir ayırım gücü sergiler (İ: AUC = 0.7500; $p=0.0756$). Bütün bu desen, hastalıkta gerçekleşen apoptoz/nekroz ve olası NETosis süreçleriyle hücre içi nükleik asitlerin kana salındığını, bu cfNA'ların TLR7/TLR9 gibi reseptörleri uyarak sitokin salınımını, endotel aktivasyonunu ve mikrodolaşım bozulmasını tetikleyip inflamatuvar döngüyü beslediğini düşündürür.

Nükleik asit/protein oranının $A_{(1240+1080)}/A_{(1650+1540)}$ hastalık durumunda belirgin artması (H: AUC = 0.8914; İ: AUC = 0.8413) bu tabloyu bütünler; nükleik asitlerin plazma proteinlerine göre orantısal fazlalığını ve hücre içi içerik sızıntısının baskınlığını işaret eder. Sonuç olarak, 1116 cm^{-1} başta olmak üzere nükleik asitler kaynaklı seçili bantlar ve bu indeks, neonatallerde tanısal ayırım (H - S) ve hastalık aktivitesinin izlenmesi (H - İ) için güçlü biyobelirteç potansiyeli taşımaktadır. Bu durum, klinik yönetimde erken tespit, yanıt izlemi ve risk katmanlaması açısından patogeneze uyumlu, uygulanabilir bir yol haritası sunar.

5. TARTIŞMA

Buzağı ishali, sığır endüstrisinde ölüm oranı, büyüme geriliği ve tedavi maliyetleri nedeniyle önemli ekonomik kayıplarla ilişkilidir. Sütten kesilmeden önceki buzağı ölümlerinin %50'sinden fazlası ishalle bağlantılıdır ve vakaların çoğu bir aylıktan küçük buzağılarda görülür (Lee vd., 2019). Yenidoğan ishal insidansı küresel olarak değişmektedir; en düşük oranlar İsveç ve Danimarka'da (%9,8-10,3), daha yüksek oranlar Almanya'da (%37) ve İsviçre'de (benzer seviyeler) ve daha düşük değerler Fransa'da (%14,4) ve Hollanda'da (%19,1) görülmektedir. İshal, yenidoğan buzağı ölümlerinin %5-10'una katkıda bulunur ve bir aylıktan küçük buzağılardaki tüm ölümlerin yarısını oluşturur (Schwaiger vd., 2023; Schwaiger vd., 2022). Türkiye'de her yıl yaklaşık 6 milyon buzağı doğmaktadır ve ishale atfedilen ölüm oranı en az %15'tir. Bunun sonucunda 900.000 ölüm ve yıllık 525 milyon avro ekonomik kayıp meydana gelmektedir. Ölüm oranları bölgeye ve çiftlik yönetimine göre değişmektedir: gelişmiş Avrupa ülkelerinde oranlar %10-15 arasında değişirken, iyi yönetilen çiftliklerde bu oranlar %5'in altındadır. Ancak, kötü yönetilen ortamlarda ölüm oranı %50'ye yükselebilir ve morbidite maruz kalmış sürülerdeki buzağının tamamını bile etkileyebilir (Foster ve Smith, 2009). Yüksek ölüm oranı, çiftlik karlılığında %38'lik bir azalma ile ilişkilidir ve sürdürülebilirliği artırmak için dengeli rasyonlar, kolostrum yönetimi ve hijyenik uygulamalar gerektirir (M.A. Karşı ve Ş. Evci, 2018). İshal vakalarının yaklaşık %75-80'i yaşamın ilk haftasında görülürken, gastrointestinal vakaların %75-95'i Rotavirüs, *C. parvum* ve enterotoksin üreten *E. coli* (ETEC) gibi enfeksiyöz ajanlarla bağlantılıdır (Foster ve Smith, 2009). Avrupa'da Rotavirüs ve *Cryptosporidium* en yaygın patojenlerdir. Bu enfeksiyonlar yetersiz kolostrum alımı, kötü hijyen ve çevresel stres faktörleri gibi faktörlerle şiddetlenir ve tedavi maliyetleri, azalan büyüme oranları ve düşük verimlilik nedeniyle yüksek morbiditeye yol açar (Şahal vd., 2018). Batı Cezayir'deki 30 günlükten küçük ishalleri buzağılarda *Cryptosporidium* sp. ve çoklu ilaca dirençli *E. coli*'nin yüksek yaygınlığı, hijyen, yönetim uygulamaları ve aşırı antibiyotik kullanımıyla bağlantılı bölgesel zorlukları vurgulayarak, Cezayir hayvancılığında yenidoğan buzağı ishali ve antimikrobiyal direnci azaltmak için hedefli müdahalelere olan ihtiyacı gösterir (Selles vd., 2018).

Çevresel stres faktörleri, kötü hijyen, aşırı kalabalık, yetersiz kolostrum alımı ve beslenme dengesizlikleri, bağırsak sağlığını ve bağışıklık fonksiyonunu tehlikeye atarak hayvanları ishal hastalığına daha da yatkın hale getirir (Lorenz vd., 2011). Örneğin, kolostrum yoluyla yeterli maternal antikor alamama, geviş getiren hayvanlarda neonatal ishal için kritik

bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (Godden vd., 2019). Ek olarak, bakteriyel patojenler arasındaki antibiyotik direnci tedaviyi zorlaştırır ve probiyotikler, prebiyotikler ve iyileştirilmiş biyogüvenlik önlemleri gibi alternatif stratejileri gerekli kılar (Callaway vd., 2008). Son araştırmalar, immünoglobulinler, hormonlar, oligosakkaritler ve mikroRNA'lar dahil olmak üzere kolostrumun biyoaktif bileşenlerinin buzağının bağışıklık, bağırsak ve metabolik gelişimi için gerekli olduğunu vurgulamaktadır. Aynı zamanda, yoğun süt besleme programları açlığı azaltarak ve yaşam boyu üretkenliği destekleyerek büyümeyi, sağlığı ve refahı iyileştirebilir (Lorenz, 2021). Penazzi ve diğerleri (2025), yeni doğan taylar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, oral yolla alınan nükleotid takviyelerinin; ishal sıklığını azalttığını, büyümeyi geliştirdiğini ve genel bağırsak sağlığını desteklediğini göstermiştir. Araştırmacılar, bu faydaların arkasında, nükleotidlerin bağırsak mukozası onarımını ve bağırsak mikrobiyotasının olgunlaşma sürecini desteklemesinin yattığını öne sürmektedir. Elde edilen sonuçlar, diyetle eklenen nükleotidlerin yenidoğan tay sağlığını iyileştirmede pratik bir yöntem olabileceğini düşündürmekle birlikte, uzun vadeli sonuçları ve bağışıklık sistemi üzerindeki olası etkileşimlerinin netleşmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmaktadır.

Foster ve Smith (2009) tarafından ayrıntılı olarak açıklandığı gibi, ETEC esas olarak yaşamın ilk günlerinde buzağuları etkiler, ileal epitele yapışmak ve ısıya dayanıklı toksin (STa) salgılamak için K99 fimbrialarını kullanır (Foster ve Smith, 2009). STa, guanylyl siklaz-C'ye bağlanarak hücre içi cGMP'yi artırır, bu da CFTR yoluyla klorür salgılanmasını aktive eder ve sodyum emilimini inhibe ederek salgısal ishale yol açar (Argenzio, 1985; Field ve Semrad, 1993). Süt buzağılarında yaygın olan *C. parvum*, bağırsak epitel hücrelerini istila ederek villöz atrofi, kript hiperplazisi ve apoptoza neden olur (Ojcius vd., 1999). Prostaglandinler (PGE₂, PGI₂) anyon salgılanmasına aracılık eder ve enterik sinir sistemi (ENS) aktivasyonu ile daha da kötüleşen NaCl emilimini inhibe eder (Argenzio vd., 1993). Rotavirüs olgun villöz enterositleri hedef alarak, sodyum-glikoz kotransportunu (SGLT1) bozan, kalsiyum sinyalleme yoluyla disakkaridaz aktivitesini bozan ve ENS tarafından yönlendirilen sıvı salgısını uyaran enterotoksin NSP4'ü serbest bırakır (Morris vd., 1999). Koronavirüs hem villöz hem de kript enterositlere zarar vererek proksimal bağırsaktan kolona yayılır ve uzun süreli malabsorpsiyona neden olur (Lewis ve Phillips, 1978). Bağlanma-silme (attaching-effacing) *E. coli*, Torovirüs, *Clostridium difficile* ve *Giardia* gibi diğer patojenler, toksin üretimi veya villöz hasar gibi mekanizmalar aracılığıyla patogeneze değişken şekilde katkıda bulunur, ancak rolleri daha az tanımlanmıştır. Buzağı ishalinin çok yönlü patogenezi,

toksin kaynaklı sıvı salgılanmasından yapısal bağırsak hasarına uzanan bir dizi mekanizmayla şekillenir. Hastalığın şiddeti, yaşa bağlı olarak değişen duyarlılıkla daha da belirginleşir; bu durum ise bağırsak pH'ı, GCC (STa toksini için) gibi reseptörlerin varlığı ve bağışıklık sisteminin olgunluk düzeyi gibi faktörlerden doğrudan etkilenir (Foster ve Smith, 2009).

Biyokimyasal parmak izi, enfeksiyonların teşhisinde ve prognozunda önemli bir rol oynar. Virüs örneklerinde IR spektroskopisi (MIR ve NIR) kullanan önceki çalışmalar, bu tekniğin moleküler parmak izi yoluyla viral enfeksiyonları tespit etmede yararlılığını vurgulamaktadır (Rumaling vd., 2022). Erukhimovitch ve diğerleri. (2011) herpesvirüslerdeki aşamaya bağlı spektral değişiklikleri belirlemek için PCA ile MIR-FTIR'ı kullanmış ve erken enfeksiyon sırasında artan nükleik asit sinyallerini ($1220-1260\text{ cm}^{-1}$) ve konak hücre apoptozu nedeniyle geç aşamalarda ortaya çıkan karbonhidrat bantlarını (1023 cm^{-1}) kaydetmiştir (Erukhimovitch vd., 2011). Sakudo ve diğerleri (2012) Influenza enfeksiyonlu örnekleri karbonhidrat/C-H grup bantları ($850-1030\text{ nm}$) aracılığıyla ayırt etmek için PCA/SIMCA ile NIR tekniğini ($600-1100\text{ nm}$) uygulamıştır (Sakudo vd., 2012). Fernandes ve diğerleri (2018), Zika virüsü enfeksiyonunu saptamak üzere geliştirdikleri NIR-PLS modelinde, 1000 nm dalga boyunu glikoproteinlerle, 1413 nm dalga boyunu ise alet kaynaklı yapay sinyallerle (artefakt) ilişkilendirmişlerdir (Fernandes vd., 2018). Roy ve diğerleri (2019) Hepatit B (HBV) ve C (HCV) enfeksiyonlarını ayırt etmek için ikinci türev bant analiziyle MIR-ATR-FTIR'ı kullanmış ve β -kıvrımlı tabaka (1646 cm^{-1}) ve nükleik asit (1078 cm^{-1}) belirteçlerini belirlemiştir (Roy vd., 2019). Dou ve diğerleri (2020) MS2 bakteriyofaj ve HSV-1 nükleik asit ($808-1258\text{ cm}^{-1}$) ve protein (Amid I/II) imzalarını çözmek için AFM-IR kullanmıştır (Dou vd., 2020). Barauna ve Wood ekiplerinin 2021'de yayımlanan çalışmalarında, SARS-CoV-2'nin tükürükten tespiti için MIR-FTIR tekniği uygulanmıştır. Her iki çalışmada, sırasıyla $1078-1249\text{ cm}^{-1}$ ve 1658 cm^{-1} dalga sayılarında tespit edilen bantların viral RNA ve proteinlere işaret ettiğini ortaya koymuştur. Barauna vd. ise buna ek olarak, $1220-1084\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen absorbans düşüşünün, virüse karşı gelişen konak bağışıklık yanıtıyla ilişkili olduğuna dikkat çekmiştir (Barauna vd., 2021; Wood vd., 2021). IR spektroskopisiyle birleştirilmiş çok değişkenli doğrusal regresyon modeli (MLRM), insan tükürük örneklerinden COVID-19 enfeksiyonunu ayırt etmek için kullanılmıştır (Martinez-Cuazitl vd., 2021). IR spektroskopisi, PCA ve LDA analizleri ile birleştirildiğinde, *Salmonella typhi* ve dang humması bulaşmış liyofilize serum örneklerindeki biyomoleküler belirteçleri, sağlıklı liyofilize serum örneklerinden başarıyla ayırt etmiştir (Naseer vd., 2021). Son zamanlarda yapılan bir çalışma, Amide A ve PO_2 simetrik gerilme spektral bantlarının PCA ve LDA

araçlarıyla birlikte metastatik lenf düğümlerini metastatik olmayanlardan ayırt edebileceğini ortaya koymuştur (Dong vd., 2023). Bu biyokimyasal belirteç bantları ve tamamlayıcı PCA, ROC ve SVM araçları, serumlardan polisitemi vera hastalığının teşhisi ve izlenmesi için de yardımcı olmuştur (Guleken vd., 2024). Tamamlayıcı biyobelirteçler ve makine öğrenimi temelli analitik yöntemlerle desteklendiklerinde, söz konusu biyobelirteçler hem hızlı ve non-invazif bir tanı imkanı sunmakta hem de hastalıkların temelindeki moleküler mekanizmaları yansıtarak, IR spektroskopisinin otoimmün ve nörodejeneratif hastalıklarda klinik kullanımının önünü açmaktadır (Severcan vd., 2024). Bu çalışmaların ortak sonucu, MIR spektroskopisinin nükleik asit ve protein gibi yapıların doğrudan moleküler analizindeki baskın konumunu teyit ederken, NIR spektroskopisinin üst üste binen spektral sinyalleri ayırt edebilmek için PCA/PLS gibi istatistiksel modelleme yöntemlerine ihtiyaç duyduğunu göstermektedir. Son dönem araştırmalar, MIR'in SARS-CoV-2 teşhisinde hızlı ve girilimsel olmayan bir yöntem olarak öne çıkmasının, IR spektroskopisinin herhangi bir işaretleme (label) gerektirmeyen virüs saptama ve bağışıklık tepkisi izleme alanlarındaki gelecek vaat eden rolünü kanıtladığını vurgulamaktadır. 3300 cm^{-1} (Amid A) ve 1080 cm^{-1} (PO, simetrik gerilme) bantları, birkaç başka spektral bantla birlikte, insan serebral dokularının karakterizasyonu (Sajid vd., 1997), Parkinson hastalığında insan substantia nigra (Szczerbowska-Boruchowska vd., 2007) ve mesane kanseri malignitelerinin teşhisi (Ahmed vd., 2010) için potansiyel biyokimyasal belirteçler olarak önerilmiştir. Bu bantlardaki değişiklikler, nörodejenerasyonda protein agregasyonu veya kanserde DNA hasarı gibi patolojik durumlar için biyobelirteç görevi görebilir (Fujioka vd., 2004). Bu spektral bantlar, biyomoleküler yapı-fonksiyon ilişkilerini anlamak için vazgeçilmez araçlardır ve sağlık, hastalık ve terapötik geliştirme konusunda içgörüler sunar (Balan vd., 2019; Delrue vd., 2024). Her ne kadar yeterince kullanılsada, Amid A bandı hidrojen bağı ortamlarını ve protein dinamiğini araştırmada değerli bir araçtır (Barth, 2007). Özellikle spektroskopik tekniklerdeki gelişmelerin yarattığı olanaklarla birlikte, Amid A bandının yapısal biyoloji, tanı ve biyofizik alanındaki uygulama potansiyeli oldukça umut vericidir. Amid A'nın izlenmesi, amiloid proteinlerdeki yapısal değişimlerin analiz edilmesini sağlar. Bu analiz, protein yanlış katlanmasının gözlemlendiği ve amiloid düzensizliğiyle ilişkili hastalıkların anlaşılmasında hayati bir öneme sahiptir (Chun vd., 2022). 3300 cm^{-1} spektral bandı, proteinlerin ve nükleik asitlerin NH gerilme titreşimlerinden kaynaklanan Amide A bantlarına karşılık gelir ve hastalık teşhisinde ve mekanistik çalışmalarda kritik bir belirteç olarak ortaya çıkmıştır (Talari vd., 2017; Verdonck vd., 2016; Baker vd., 2014). Bu bant, aynı zamanda çeşitli romatizmal bağışıklık hastalıklarının hızlı teşhisinde kullanılan karakteristik serum

spektral bantlarından biridir (Wu vd., 2023; Shuai vd., 2024). Amid A bandı, aynı zamanda Eski Miyokard Enfarktüsü (OMI) nedeniyle hayatını kaybeden kurbanların kalp dokularında kayda değer değişiklikler göstermekte ve bu da onun atipik OMI bulgularının teşhisinde bir biyobelirteç olarak potansiyeline işaret etmektedir (Zheng vd., 2010). Dahası, enflamatuar hastalıklar bu spektral bölgede değişmiş profiller sergiler. 1080 cm^{-1} civarındaki spektral bandın, nükleik asitlerin ve/veya fosfolipitlerin PO_2^- simetrik gerilme titreşimlerinden kaynaklandığı iyi belgelenmiştir (Teker vd., 2024). Bu bandın frekansı ve şekli, Mg^{2+} ve Na^+ gibi katyonlarla etkileşimlere, hidrasyona ve ana zincir konformasyonuna bağlıdır (Fujioka vd., 2024; Aksoy vd., 2014). Fosfolipitlerde ise PO_2 titreşimleri, lipid çift katmanının organizasyonu ve proteinler veya iyonlarla etkileşimleri hakkında bilgi verir; bu da zar akışkanlığı ve sinyal iletimi ile ilgilidir (Guleken vd., 2024). COVID-19 enfeksiyonları üzerine yapılan araştırmalar, hastalık pozitif biyosıvılarda (serum ve tükürük dahil) yükselmiş nükleik asit seviyeleri olduğunu ortaya koymuştur (Tokgoz vd., 2024; Wood vd., 2021; Martinez-Cuazitl vd., 2021; Calvo-Gomez vd., 2022). Bu olgu, şiddetli enfeksiyonların tetiklediği sistemik enflamasyonla bağlantılı olabilir ki bu da dolaşımdaki hücre-serbest DNA (cfDNA) konsantrasyonlarındaki artışla korelasyon gösterir. Tüm bu bulgular, 3300 cm^{-1} ve 1080 cm^{-1} bantlarının, hastalık mekanizmalarındaki moleküler düzeydeki metabolik değişiklikleri incelemek ve erken tanı stratejilerini geliştirmek için invaziv olmayan, etiketsiz bir spektral biyobelirteç olarak kullanımının faydasını vurgulamaktadır. $1080\text{ cm}^{-1}/3300\text{ cm}^{-1}$ indeksi, bu çalışmada 1080 cm^{-1} ve 3300 cm^{-1} 'deki entegre bant alanlarının oranı hesaplanarak türetilen nicel ve geçerli bir spektral biyobelirteçtir. Yukarıda da belirtildiği gibi, 1080 cm^{-1} bandı öncelikle PO_2^- simetrik gerilme titreşimleriyle ilişkilidir ve bu da serumdaki nükleik asit ve fosfolipit konsantrasyonunu yansıtır. 3300 cm^{-1} bandı ise Amid A titreşimlerine karşılık gelir; bu titreşimler protein NH gerilmesini ve dolayısıyla protein yapısı ile içeriğini gösterir. Amid A bandındaki değişim, büyük olasılıkla enflamasyon kaynaklı protein ortamındaki değişiklikleri yansıtmaktadır. Sistemik bir enflamatuar yanıt sırasında, proenflamatuar sitokinler ($\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$) ve stres hormonları, protein yıkımını ve yenilenme hızını artıran belirgin bir katabolik durumu tetikler (Roth vd., 1999). NCD'de görülen şiddetli bir enfeksiyon, plazma proteinlerinin arttığı (ciddi ishallerde haptoglobin yükselimi gibi) ve dokularda yoğun protein yıkımının görüldüğü bir akut faz tepkisi başlatır (Rocha vd., 2016). Akut faz proteinlerindeki bu ani yükseliş ve eşzamanlı proteoliz (protein yıkımı), dolaşımdaki peptit seviyelerini artırarak ve protein konformasyonunu değiştirerek amid spektral bantlarını genişletebilir veya şiddetlendirebilir. Özünde, hasta buzağılarda gözlemlenen güçlü Amid A sinyali, enflamasyon kaynaklı protein değişiklikleriyle

uyumludur. Bu durum, sitokinlerin tetiklediği akut faz protein üretimi ile vücudun enfeksiyona karşı verdiği 'otokatabolik' yanıt sonucu oluşan protein degradasyonunun bir bileşkesidir (Roth vd., 1999). İshalli yenidoğanlarda gözlemlenen 3300 cm^{-1} IR değişikliklerinin ardında, genel biyokimyasal farklılıklardan ziyade, immünoglobülin seviyelerindeki değişimler ve kas protein yıkımı dahil olmak üzere, enflamasyonun tetiklediği bu protein dinamikleri yatmaktadır.

1080 cm^{-1} 'deki bir artış, kanda dolaşan nükleik asit bileşenlerinin büyük olasılıkla hücre serbest DNA (cfDNA) ve RNA parçacıklarının – konsantrasyonunun arttığına işaret eder. NCD bağışıklık yanıtı bağlamında, cfDNA'daki bir yükseliş, kapsamlı hücre ölümünün ve bağışıklık hücresi yenilenmesinin bir göstergesidir. Şiddetli sistemik enflamasyonun yaygın hücre hasarına yol açtığı bilinmekte olup, kanda yüksek düzeyde cfDNA, doku hasarının ve SIRS'in (Sistemik İnflamatuar Yanıt Sendromu) iyi belgelenmiş bir belirticidir. (Andargie vd., 2023; Stec-Martyna vd., 2025). Mekanistik olarak, proenflamatuar sitokin kaskadları ve patojen toksinleri, hem bağışıklık hücrelerinde hem de çevre dokularda apoptozu tetikler. Aynı zamanda, aktifleşmiş nötrofiller NEToz (DNA'dan oluşan nötrofil hücre dışı tuzakları salma süreci) geçirebilir. Bu süreçler, hücre dışı ortamı nükleik asitlerle adeta doldurur ve IR spektrumu da bu durumu, şiddetlenmiş bir PO_2^- bandı olarak yakalar (Stec-Martyna vd., 2025). Önemli bir nokta olarak, enflamasyon sırasında salınan cfDNA sadece hücre ölümünün bir göstergesi değildir; aynı zamanda bir DAMP (hasarla ilişkili moleküler model) olarak işlev görerek bağışıklık aktivasyonunu daha da ileri taşıyabilir. Genellikle histonlara bağlı halde bulunan hücre dışı DNA, model tanıma reseptörlerini (TLR9, STING yolağı) uyarak enflamasyonun, sitokin salınımının ve hatta pıhtılaşmanın şiddetlenmesine neden olur (Gould vd., 2015). Bu pozitif geri bildirim döngüsü, 1080 cm^{-1} 'deki artmış sinyali doğrudan devam eden immünopatolojik olaylara bağlar.

Özetle, ishalli yenidoğanlarda 1080 cm^{-1} 'de gözlemlenen spektral yükseliş, NCD'nin immünolojik 'ayak izini' yansıtır: ölen hücrelerden ve nötrofil tuzaklarından kaynaklanan nükleik asit artıklarının bolluğu, ki bu da şiddetli enflamasyon ve bağışıklık hücresi yenilenmesi ile uyumludur. Yenidoğan buzağı ishali bağlamında, yükselmiş bir $1080\text{ cm}^{-1}/3300\text{ cm}^{-1}$ indeksi, hastalıkla ilişkili enflamatuar yanıtlardan, hücre yenilenmesinden veya doku hasarından kaynaklanabilecek nükleik asit ve fosfolipit varlığındaki artışa işaret eder. Tersine, daha düşük bir indeks, buzağı iyileştikçe biyokimyasal koşulların normale döndüğünün bir göstergesidir. Bu spektral değişiklikleri izleyerek, indeks; hastalık durumunu değerlendirmek ve iyileşmeyi takip etmek için moleküler düzeydeki bilgiyi klinik tanıyla

etkili bir şekilde birleştiren, hızlı ve invaziv olmayan bir araç sunar. Tahmine dayalı analitik ve MÖ teknikleri, veterinerlik alanında özellikle çeşitli çiftlik hayvanı hastalıklarının teşhisi ve yönetimi için giderek artan uygulama alanları bulmaktadır. Prosser ve diğerlerinin (2025) yakın tarihli bir derlemesi, MÖ ve AI'in, metagenomik dizileme yoluyla patojen tanımlama, tahmine dayalı epidemiyolojik modeller ve erken semptom tespiti için sensör tabanlı teknolojiler gibi uygulamalarla BRD teşhisi ve yönetiminde dönüştürücü bir potansiyel sunduğunu vurgulamıştır. Bilgisayar destekli akciğer oskültasyonu (CALA) cihazları ve giyilebilir sensörler gibi önemli ilerlemeler, ateş tespitinde %98,8'e varan yüksek doğruluk oranlarına ulaşmış olsada, birçok modelin ticari kullanım için iyileştirilmesi gerekmektedir. Veri yönetimi ve değişken model performansı gibi zorluklara rağmen, MÖ/AI'm geleneksel yöntemlerle entegrasyonu, teşhiste nesnellik, verimlilik ve karar alma süreçlerini geliştirmekte ve sığır endüstrisinde BRD kontrolü için maliyet-etkin ve iş gücünden tasarruf sağlayan stratejiler vaat etmektedir (Prosser vd., 2025). Yapılan bir araştırmada, evrişimli sinir ağı (CNN) modelinin, buzağılarda görülen lumpy skin disease (LSD) hastalığını görüntü verileri kullanarak tespit etmede %73,89 doğruluk sağladığı bildirilmiştir. Bu sonuç, AI'm veteriner hekimlikte erken hastalık teşhisi için potansiyelini açıkça ortaya koymaktadır. Farklı veri kaynaklarını entegre etmek ve CNN gibi karmaşık modellerden yararlanmak, sınırlı veriyle bile tahmin doğruluğunu artırabilir. Bu da proaktif hastalık yönetimi yoluyla hayvan refahını ve sürdürülebilir hayvancılık uygulamalarını iyileştirmek için bir yol sunar (AlZubi, 2024). Taneja ve diğerleri (2020), süt sığırlarında topallığın erken tespiti için pedometrelerle aktivite verisini izleyen bir sis bilişim (fog computing) ve MÖ sistemi geliştirmiştir. Hibrit kümeleme-sınıflandırma modeli, görsel belirtiler ortaya çıkmadan üç gün önce topallığı tespitinde %87 doğruluk sağlarken, sis bilişim işlemi bulut veri transferini %84 oranında azaltmıştır. 150 inek üzerinde doğrulanan bu yaklaşım, hayvan refahını ve çiftlik verimliliğini artırmak için ölçeklenebilir, uygun maliyetli bir izleme ve zamanında müdahale imkanı sunmaktadır (Taneja vd., 2020). Random Forest, SVM ve derin öğrenme modelleri (CNN, LSTM) gibi makine öğrenmesi algoritmalarının, IoT sensörleri, giyilebilir cihazlar ve çevresel faktörler gibi çeşitli veri kaynaklarını entegre ederek sığır hastalıklarının erken teşhisinde etkili olduğu ve %95,9'a varan yüksek doğruluk oranlarına ulaştığı vurgulanmıştır. Bu teknolojiler, proaktif hastalık önleme sağlayarak, teşhis kesinliğini artırarak ve çiftçiler için bilinçli karar alma sürecini destekleyerek hayvan sağlığı yönetimini geliştirmektedir (Swapna vd., 2024). IR termografi (IRT) ve MÖ, termal görüntüleme ve ileri analitik yöntemler sayesinde; mastitis, topallık gibi hastalıkların, fizyolojik özelliklerin, stresin ve östrusun (kızgınlık) tespit edilmesi yoluyla, sığır sağlığının invaziv olmayan ve otomatik bir şekilde

izlenmesini mümkün kılmıştır (Wang vd., 2023). Senthilkumar ve diğerlerinin (2024) çalışması, sığırlarda LSD'nin erken tespiti için on önceden eğitilmiş derin öğrenme modelini değerlendirmiş ve VGG16 ile MobileNetV2 modellerinin sırasıyla %96,07 ve %96,39 doğruluk oranlarıyla en etkili modeller olduğu ortaya çıkmıştır. Yüksek hassasiyet ve özgüllük değerleri sergileyen bu modeller, güvenilir LSD teşhisi için AI destekli araçlar olarak potansiyellerini kanıtlamış ve nihayetinde hem hayvan sağlığına hem de tarım ekonomilerine katkı sağlayabileceklerini göstermişlerdir (Senthilkumar vd., 2024). Yapılan bir çalışmada, makine öğrenmesi ile birleştirilen LAP-MALDI MS yönteminin hızlı, uygun maliyetli ve yüksek verimli bir hastalık teşhis sistemi sağladığı gösterilmiştir. Yöntem, sığır mastitisini klinik belirtiler ortaya çıkmadan iki gün öncesine kadar %70 hassasiyet ve %100 özgüllük ile başarıyla tespit etmiş, aynı zamanda lipaz aktivite analizi yoluyla antimikrobiyal direnci belirlemede de etkili olduğunu kanıtlamıştır (Piras vd., 2022).

Bu çalışmada geliştirilen tahmine dayalı sınıflandırma platformu, IR spektroskopisini makine öğrenmesi algoritmalarıyla ustalıkla birleştirerek buzağılardaki neonatal ishali hızlı, invaziv olmayan ve doğru bir şekilde teşhis etmektedir. Sistem, serum örneklerinin benzersiz spektral parmak izlerini yakalayıp, PCA ile anahtar spektral özellikleri özütlemiş ve ardından sağlıklı, hasta ve iyileşmiş buzağının güçlü bir şekilde sınıflandırılması için LDA ve SVM uygulamıştır. Hızlı ve invaziv olmayan spektral analizin tahmine dayalı analitiklerle bu kusursuz entegrasyonu, yalnızca teşhis kesinliğini ve verimliliği artırmakla kalmaz, aynı zamanda proaktif hastalık yönetimini ve sürdürülebilir hayvancılık uygulamalarını destekleyen, ölçeklenebilir ve uygun maliyetli bir araç sunar. Ancak, geliştirilen platformun sağlıklı, hasta ve iyileşmiş buzağılar arasında net bir spektral ayrım sağlamasına rağmen, bu kavram kanıtı çalışmasının nispeten küçük bir grupta (her gruptan 10 olmak üzere toplam 30 serum örneği) yürütüldüğünü belirtmek önem taşımaktadır. Sınırlı sayıda bağımsız biyolojik tekrar, görünür sınıflandırma doğruluğunu artırabilir ve hayvanlar arası varyasyonu tam olarak yansıtmayabilir. Modelin sağlamlığını artırmak ve geniş uygulanabilirliğini sağlamak için, gelecekteki çalışmaların önemli ölçüde daha büyük ve çeşitli örnek setleri (ideal olarak birden fazla çiftlik ve coğrafi bölgeden toplanmış) üzerinde yapılması gerekmektedir. Örnek sayısının artırılması, gerçek hassasiyet ve özgüllüğün daha iyi tahmin edilmesine ve potansiyel karıştırıcı faktörlerin veya alt fenotiplerin araştırılmasına olanak tanıyacaktır. Bu tür çabalar, yenidoğan buzağı ishali için geliştirilen bu spektral-makine öğrenmesi yaklaşımını, evrensel olarak güvenilir bir çiftlik içi teşhis aracına dönüştürmek için kritik öneme sahip olacaktır.

Model parametrelerinin seçimini daha net açıklamak adına, PCA-LDA modelinde kullanılan yüksek dereceli temel bileşenlerin (PC'ler) rolünü detaylandırmak önem taşımaktadır. 10 adet PC'nin seçilmesi keyfi değildi; hem açıklanan varyans profillerine hem de bileşen yüklerinin yorumlanabilirliğine dayanıyordu. İlk birkaç PC (PC1–PC3) varyansın büyük kısmını açıklamakla birlikte, esas olarak genel örnek farklılıklarıyla ilişkili global spektral eğilimleri yakalıyordu. Yüksek dereceli PC'ler (PC4–PC10) ise, giderek daha küçük varyans oranlarına katkıda bulunsalarda, sınıf ayrımını güçlendirmede hayati önem taşıyan, ince ve lokalize spektral varyasyonları kodlamaktaydı. Daha da önemlisi, bu bileşenlerin, rastgele gürültü yerine, anahtar spektral bölgelerde yapılandırılmış ve yorumlanabilir yük desenleri sergilemesi, bunların aşırı uydurma (overfitting) artefaktları değil, biyolojik anlam taşıyan sinyaller yakaladığını doğrulamaktadır.

Sınıflandırma güvenilirliğini artırmak için bu yüksek dereceli temel bileşenlerin (PC'ler) modele dahil edilmesi kritik öneme sahipti. Bunun kanıtı, LDA ayırtaç fonksiyonu katsayılarının, saklanan tüm PC kümesindeki birden fazla bileşenden yararlanmasıydı. Bu durum, sınıfları ayırt edici bilginin hem baskın hem de daha ince detaylı spektral özelliklere dağılmış olduğunu göstermektedir. Dahası, kümülatif açıklanan varyans analizi, 10 PC'yi modelde tutmanın, model karmaşıklığı ile genellenebilirlik arasında bir denge sağladığını ortaya koydu. Bu yaklaşım, modelin yetersiz öğrenmesinden (underfitting) kaçınırken, aşırı uydurma (overfitting) riskini de en aza indirgiyordu. Bu bulgular, hastalık ve iyileşmeyle ilişkili klinik açıdan önemli biyokimyasal değişikliklerin yalnızca baskın spektral eğilimlerde değil, aynı zamanda yüksek dereceli PC'lerin etkili bir şekilde yakaladığı daha ince spektral kaymalarda da yansması fikriyle tutarlılık göstermektedir.

Serumun ana bileşenlerini proteinler, lipitler ve nükleik asitler oluşturur (Yang vd., 2021). FTIR spektroskopisi analizleri, bir biyolojik numunenin IR spektrumunun temel olarak CH gerilme bölgesi ($3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$) ve moleküler parmak izi bölgesi ($1800\text{--}650\text{ cm}^{-1}$) üzerinden lipit biyomoleküllerindeki değişimleri ortaya koyar. CH gerilme bölgesinde, lipitlerle ilişkili olduğu bilinen bantlar, metilen (CH_2) ve metil (CH_3) gruplarının antisimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerinden kaynaklanır. Özellikle, alifatik CH_2 gruplarına ait 2928 cm^{-1} 'deki (antisimetrik gerilme) ve 2852 cm^{-1} 'deki (simetrik gerilme) bantlar, lipitlerdeki uzun hidrokarbon zincirlerinin karakteristik göstergesidir (Çakmak vd., 2011). Ayrıca, 2925 ve 2910 cm^{-1} 'deki CH_3 fosfolipit titreşimleri ile 2853 cm^{-1} 'deki CH_2 fosfolipit titreşimi, lipoproteinlerin fosforilasyon örüntüsündeki ve proteinlerin glikozilasyonundaki değişimleri yansıtabilir (Backhaus vd., 2010). Lipit mimarisine duyarlılığıyla bilinen CH_2 antisimetrik

gerilme bandında (2922 cm^{-1}), Sağlıklı (S) ve İyileşmiş (İ) gruplarda gözlenen yüksek absorpsiyon değerleri, Hasta (H) grubundaki belirgin düşüşle tezat oluşturur. Bu durum, hastalık sürecinin membran yağ asidi zincirlerinin düzenini ve paketlenmesini bozduğuna işaret etmektedir. Bu bulgu, patogeneizde beklenen biyokimyasal süreçler olan oksidatif/peroksidatif stres, zincir kısalması/yeniden yapılanma ve lipoprotein bileşimindeki kaymalarla tutarlıdır. Metilen/metil (CH_2/CH_3 antisimetrik gerilme) alan oranı, yağ asidi zincir uzunluğu hakkında bilgi verir. Daha yüksek bir oran, nispeten daha uzun zincirli lipidlerin varlığını gösterirken, daha düşük bir oran daha kısa ve/veya dallı zincirlerin varlığına işaret eder (Yonar vd., 2022). CH_2/CH_3 oranındaki azalma, moleküller arası zincir düzensizliğinde bir artışa ve dolayısıyla uzun CH_2 zincirlerinin konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak hücre zarı-iskelet bütünlüğünün zayıflamasına işaret edebilir (Martinez-Cuazitl vd., 2023). Yağ asidi zincir uzunluğunu değerlendiren A_{2922}/A_{2966} oran indeksi incelendiğinde, Hasta (H) grubundaki azalmanın daha kısa zincirli ve dallı lipidlerle ve bunun sonucunda artan zar akışkanlığıyla ilişkili olduğu görülmüştür. Buna karşılık, İyileşmiş (İ) grubundaki oran artışı ise membran düzeninin yeniden sağlandığını ve daha uzun zincirli lipidlerin varlığını göstermektedir. Sonuç olarak, bu tez çalışması, 2922 cm^{-1} bandındaki absorpsiyon ve A_{2922}/A_{2966} oranındaki değişimlerin (hastalık durumunda azalma, iyileşme durumunda artma), yenidoğan buzağılarda hastalık patogenezinin zar lipid yapısını bozduğunu ve iyileşmeyle birlikte bu yapının yeniden düzenlendiğini açıkça ortaya koymaktadır. Bu bulgular, spektroskopik yöntemlerin biyokimyasal iyileşmeyi izlemede güçlü bir araç olduğunu göstermektedir.

Lipit biyomoleküllerindeki kayda değer değişimlerden biri de CH_2 antisimetrik gerilme bölgesindeki bant genişliğinde gözlemlenmiştir. Bant genişliği, genellikle moleküler konformasyonel özgürlük ve esneklikle ilişkilendirilir. C–H gerilme bantlarının genişliği membran lipid dinamikleri hakkında bilgi sağlarken, A ve B bantlarının genişliği proteinlerin konformasyonel esnekliğine işaret eder. Ayrıca, bu esneklikteki kısıtlanmanın, proteinlere bağlanan moleküllerden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Başka bir deyişle, protein bağlanması arttığında esneklik azalır ve bant genişliği daralır. *E. coli* üzerine yapılan bir çalışmada, CH_2 antisimetrik bandının frekansının daha düşük değerlere kayması, membran lipid düzeninde bir artışa işaret etmektedir. Ancak, aynı çalışmada bu bandın bant genişliğinin kobalt-uyumlu grupta anlamlı derecede yüksek olması, beklenenin aksine daha yüksek bir membran akışkanlığı seviyesine işaret etmektedir. Frekans ve bant genişliği sonuçları bu bağlamda tutarsız görünmektedir; zira lipid düzenindeki artışa membran akışkanlığında bir azalmanın eşlik etmemesi dikkat çekicidir (Kardas vd., 2014). Bu tez çalışması kapsamında

yapılan CH₂ antisimetrik bölgesi bant analizinde ise, hastalık durumunda bu bölgedeki bant genişliğinde bir azalma gözlemlenmiştir. Bu bulgu, hastalık patogenezinin lipit zincir hareketliliğinde bir kısıtlamaya ve membranda sertleşmede bir artışa yol açtığını göstermektedir. Bu durum, patolojik süreçlerle ilişkili olarak hücre zarı fonksiyonunun bozulduğuna işaret eder. Öte yandan, iyileşme durumunda CH₂ antisimetrik bölgesindeki bant genişliğinin yeniden yükselmesi, lipit membrandaki sertleşmenin azaldığını, lipit zincir hareketlerinde serbestliğin arttığını ve dolayısıyla hücre zarı fonksiyonlarının onarılmakta olduğunu düşündürmektedir.

Serum protein biyomoleküllerinde gözlenen değişimler incelendiğinde, Amid I bandı (1700–1600 cm⁻¹) esas olarak 1646 cm⁻¹ civarındaki α -heliks yapısına karşılık gelmektedir. Amid II bandı (1560–1500 cm⁻¹) ise başlıca 1542 cm⁻¹'deki N–H fonksiyonel grubunun titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 1740 cm⁻¹'de gözlenen tepe noktası, trigliseritlerdeki ester karbonil (C=O) gerilme titreşimlerine atfedilmiştir. 1250–1000 cm⁻¹ aralığındaki spektral bantlar, nükleik asitlerde yer alan PO₂⁻ gruplarının titreşimlerine karşılık gelmektedir. Bu bölgede 1243 cm⁻¹'de PO antisimetrik, 1079 cm⁻¹'de ise PO simetrik gerilme titreşimleri gözlenmektedir. Akciğer kanseri hastalarının serum örneklerinde, sağlıklı bireylere kıyasla bu nükleik asit bandının emilim yoğunluğunda belirgin bir artış rapor edilmiştir (Yang ve ark., 2021). 1646 cm⁻¹'deki bant Amid I (C=O gerilme titreşimleri) ve 1550 cm⁻¹'deki bant Amid II (C–N gerilme ve N–H bükülme titreşimleri) olarak tanımlanır. Her iki bant proteine özgü olduğundan, Amid I/Amid II oranı proteinlerin ikincil yapı değişimlerini yansıtmak için kullanılabilir (Sheng vd., 2013). 1540 cm⁻¹ civarında yer alan bant da iyi bilinen bir protein bandıdır. Protein miktarındaki hastalık kaynaklı değişimler, Amid I ile Amid I + Amid II bantlarının alan oranlarından hesaplanabilir (Yonar ve ark., 2022). Amid I (1652 cm⁻¹) ve Amid II (1542 cm⁻¹) bantları esas olarak proteinlerdeki C=O ve N–H titreşimlerinden kaynaklanırken, 1380 cm⁻¹ civarındaki bant proteinlerdeki CH₃ gruplarının simetrik bükülme modunu yansıtmaktadır. 1235 cm⁻¹'deki bant fosfolipitlerdeki PO antisimetrik gerilmesine katkıda bulunur; 1100–900 cm⁻¹ aralığında ise ana katkıyı karbonhidrat yapıları sağlar (Zhang vd., 2017). 1080 cm⁻¹'deki bant, nükleik asitlerin simetrik gerilme titreşimlerinden kaynaklanmakta olup, H1080/H1550 oranı DNA düzeylerinin değerlendirilmesinde kullanılabilir. Aynı oran, kanserli ve normal dokuların ayrımında evrensel bir parametre olarak önerilmiştir (Sheng vd., 2013).

Bu çalışmada incelenen önemli protein modifikasyonları arasında yer alan fosforilasyon (A1080/A1540) ve karbonilasyon (A1740/A1540) indekslerinin hastalık

durumunda belirgin şekilde yükselmesi; iyileşme döneminde ise kontrol grubuyla benzer seviyelere gerilemesi, hastalık sürecinde artan protein fosforilasyonunun iyileşme ile birlikte normal düzeye döndüğünü göstermektedir. Bu durum, hastalıklı hayvanlarda bozulan hücresel sinyal iletim mekanizmalarının, iyileşen hayvanlarda yeniden düzenlendiğini açıkça ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, karbonilasyon indeksinin hastalık durumunda yükselip iyileşme döneminde kontrol seviyesine dönmesi, oksidatif protein hasarının iyileşme sürecindeki seyrine ilişkin önemli bilgiler sağlamaktadır. İyileşmiş grupta karbonilasyon seviyelerinin azalması, oksidatif stresin azaldığını ve protein hasarının onarıldığını göstermektedir. Her iki protein modifikasyonunun da patolojik süreçler sonrasında moleküler düzeydeki iyileşmeyi yansıttığı söylenebilir.

DNA'nın antisimetrik PO_2^- titreşim bandı, PEI (polietilenimin) veya PLLys (poli-L-lizin) varlığında 1224 cm^{-1} 'den 1220 cm^{-1} 'e doğru daha düşük frekanslara kaymaktadır. Bu kayma, katyonik polimerler ile DNA arasındaki elektrostatik etkileşimlere atfedilmekte ve DNA'nın fosfat grupları bölgesinde bir hidrasyon etkisi oluşturduğu düşünülmektedir. Buna karşılık, Hackl ve arkadaşları, iki değerlikli iyonların (örneğin Ca^{2+}) varlığında DNA'nın antisimetrik PO_2^- bandının daha yüksek bir frekansa (1224 cm^{-1} 'den itibaren) kaydığını bildirmiştir (Cherng, 2009). Fosforile moleküllerle ilişkili olan 1240 cm^{-1} ve 1076 cm^{-1} bantlarının, COVID-19 hastalarında sağlıklı bireylere kıyasla belirgin şekilde arttığı rapor edilmiştir. Benzer şekilde, Erukhimovitch ve arkadaşları da herpes virüsü ile enfekte hücrelerde 1240 cm^{-1} bandında artış gözlemlemiştir (Martinez-Cuazitl vd., 2021). Bu tez çalışmasında, özellikle PO_2^- antisimetrik (1240 cm^{-1}), RNA'ya özgü C–O (1116 cm^{-1}) ve glikozid bağlarına karşılık gelen C–O–C gerilme (898 cm^{-1}) bantlarının integral alanlarında hastalık durumunda belirgin bir artış saptanmıştır. Bu bantların iyileşme döneminde azalması, hücre dışı serbest nükleik asit (cfNA) ve nükleoprotein miktarının azaldığını göstermektedir. Li ve arkadaşları, akciğer kanseri hastalarının serumlarını, iyi huylu akciğer nodüllerine sahip bireylerin serumlarından ayırt etmek için nükleik asit/protein oranını tanımlamışlardır (Severcan vd., 2024; Li vd., 2024). Bu biyokisevermyasal indeks, serum içeriğindeki nükleik asit/protein oranının değerlendirilmesinde önemli bir parametre olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda bu oranın hastalık durumunda belirgin şekilde artması, nükleik asitlerin plazma proteinlerine göre orantısız fazlalığını ve hücre içi içerik sızıntısının baskınlığını göstermektedir. Bu bulgu, patolojik süreçlerde hücresel bütünlüğün bozulduğunu ve nükleik asit salınımının arttığını desteklemektedir.

Bu tez kapsamında geliştirilen FTIR ve makine öğrenmesi tabanlı yenidoğan buzağlarda hastalık teşhis platformu, yüksek doğruluk ve duyarlılık oranı göstermiştir. Literatürde bildirilen mevcut klinik hızlı tanı yöntemleri (ELISA, PCR vb.) ile karşılaştırıldığında, bu platformun tanısal performans açısından üstün olduğu görülmektedir. Örneğin, Çin’de gerçekleştirilen bir çalışmada, hızlı tanı kiti kullanılarak *C. parvum*, rotavirüs, koronavirüs ve *G. lamblia* olmak üzere dört etiyolojik ajan test edilmiştir. 69 dışkı örneğinden 56’sı (%81,16) enfeksiyöz ajanlar açısından pozitif bulunmuştur. Aynı örneklerin PCR analizlerinde ise 60 örnek (%87) pozitif olarak belirlenmiştir (Wei vd., 2021). Uruguay’da yapılan başka bir çalışmada, 27 çiftlikten toplanan 525 yenidoğan buzağı dışkı ve serum örneği değerlendirilmiştir. *Cryptosporidium* ELISA analizlerinde toplam 256 pozitif buzağı tespit edilmiştir. Bunların 183’ü ishalleri, 73’ü ise ishalsiz bireylerden elde edilmiştir. Aynı çalışmada rotavirüs RT-PCR analizinde 94 pozitif örnek saptanmış; bunların 64’ü ishalleri, 30’u ise ishalsiz buzağılardan alınmıştır (Caffarena vd., 2021). Bir diğer çalışmada ise 328 örnekten 82’si (%25,0) ELISA pozitif bulunmuş; bu pozitiflerin 53’ü (%64,6) ishalleri, 29’u (%35,4) ishalsiz buzağılardan elde edilmiştir. Geriye kalan 246 örnek (%75,0) ELISA negatif olup, bunların 122’si (%49,6) ishalleri ve 124’ü (%50,4) ishalsiz bireylerden alınmıştır (Caffarena vd., 2022). Bu literatür bulguları, mevcut yenidoğan buzağı ishalleri tanı yöntemlerinin doğruluk ve duyarlılık oranlarının sınırlı olduğunu göstermektedir. Buna karşın, bu tez kapsamında geliştirilen FTIR–Makine Öğrenmesi tabanlı teşhis platformu, yüksek doğruluk oranı ve hızlı analiz süresi ile hayvancılık sektöründe erken tanı ve hastalık yönetimi açısından önemli bir yenilik sunmaktadır.

Çalışmamızın metodolojisinde de belirtildiği üzere, araştırmanın tek bir bölgede ve tek bir hayvan türü üzerinde gerçekleştirilmiş olması, çalışmanın önemli sınırlılıkları arasında yer almaktadır. Bulguların genellenebilirliğini ve sonuçların duyarlılık düzeyini artırmak için, farklı coğrafi bölgelerden ve farklı ırklara ait yenidoğan buzağılardan örneklerin toplanarak değerlendirilmesi, daha güvenilir ve kapsamlı sonuçlar elde edilmesine katkı sağlayacaktır. Bu yaklaşım, yenidoğan buzağı ishallerinin etiyolojisinde bölgesel ve ırksal farklılık gösteren patojen çeşitliliğini de daha net ortaya koyacaktır. Nitekim literatürde, her patojenin tüm bölgelerde ve tüm ırklarda aynı oranda görülmediği bildirilmiştir. Ayrıca, çiftliklerden alınan kan örneklerinin laboratuvar ortamına taşınması ve ayrıştırılması süreci, taşıma koşulları ve sürelerine bağlı olarak sonuçları etkileyebilecek potansiyel bir hata kaynağı oluşturmaktadır. Bu nedenle, çalışmanın doğruluk ve sürdürülebilirliğini artırmak amacıyla taşınabilir ATR-FTIR cihazlarının kullanılması önerilmektedir. Bu sayede, sahada anında ölçüm yapılarak

hem örneklerin bozulma riski ortadan kaldırılabilir hem de sonuçların güvenilirliği ve duyarlılığı daha kesin bir biçimde değerlendirilebilir.



6. SONUÇ

Sonuç olarak, bu kavram kanıtı niteliğindeki çalışma, yenidoğan buzağı ishalinin hızlı ve invaziv olmayan bir biçimde teşhis edilmesi amacıyla ATR-FTIR spektroskopisi ile gelişmiş öngörücü analizleri entegre eden güçlü ve yenilikçi bir tanı platformu sunmaktadır. Sistem, serum örneklerindeki benzersiz biyokimyasal parmak izlerini yakalayarak ve LDA ile SVM algoritmalarını kullanarak sağlıklı, hasta ve iyileşmiş buzağuları yüksek doğruluk oranıyla sınıflandırmıştır. Özellikle, kompleks spektral verilerin tek bir yorumlanabilir parametreye indirgenmesi ($1080\text{ cm}^{-1}/3300\text{ cm}^{-1}$ spektrokimyasal indeksi) moleküler düzeydeki değişikliklerin klinik durumla ilişkilendirilmesine olanak tanımış, tanısal doğruluğu artırmış ve hastalığın ilerlemesi ile iyileşmesi arasında net bir biyobelirteç ilişkisi kurmuştur.

Ayrıca, serum kızılötesi spektroskopisi yöntemiyle hastalık patogenezinde rol oynayan biyomoleküller belirlenmiş, yenidoğan buzağı ishalinin lipid, protein ve nükleik asit yapıları üzerindeki etkileri detaylı biçimde incelenmiştir. Sağlıklı, hastalıklı ve iyileşmiş gruplara ait serum spektrumlarının karşılaştırılması sonucunda $4000\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığındaki kritik bantlar belirlenmiş ve biyomoleküler düzeyde anlamlı farklılıklar ortaya konmuştur. Elde edilen önemli bulgulardan biri de, yenidoğan buzağı ishali sırasında meydana gelen hücre zarı hasarı, bozulmuş sinyal iletimi ve doku hasarının, iyileşme süreciyle birlikte yeniden düzenlendiğinin gösterilmesidir. Hasta-Sağlıklı (H-S) ve Hasta-İyileşmiş (H-İ) hayvan grupları arasında yapılan ROC analizlerinin 1,00'e yakın değerler göstermesi, gruplar arasındaki ayrım gücünün yüksekliğini ve spektrokimyasal indekslerin tanısal güvenilirliğini desteklemiştir. Bu sayede, hastalık sürecine özgü biyokimyasal yansımalar bütüncül bir yaklaşımla açıklanmış, patogeneze ile iyileşme arasındaki farkı gösterebilen spektrokimyasal biyobelirteçler tanımlanmıştır.

Bu ölçeklenebilir ve uygun maliyetli yaklaşım, erken tedavi müdahalelerini kolaylaştırma, çiftlik içi karar süreçlerini iyileştirme ve sürdürülebilir hayvancılık yönetimini geliştirme potansiyeline sahiptir. Dolayısıyla, yenidoğan buzağı ishalinin ekonomik ve sağlık üzerindeki etkilerinin azaltılmasında önemli bir adım sunmaktadır. Bununla birlikte, mevcut bulgular, spektrokimyasal analizler ve makine öğrenmesi yöntemlerinin potansiyelini tam olarak yansıtmak için sınırlıdır. Bu nedenle, gelecekte daha geniş veri setleri, çeşitli algoritmalar ve derin öğrenme yaklaşımlarının kullanılması önerilmektedir. Bu tür yöntemler, verilerdeki gizli ilişkileri ve karmaşık kalıpları ortaya çıkararak hastalığın moleküler mekanizmalarının daha ayrıntılı anlaşılmasına katkı sağlayabilir. Ayrıca, farklı bölgelerden ve

ırlardan elde edilecek örneklerin çalışmalara dahil edilmesi ve farklı patojenlerin veya hastalık etmenlerinin etkilerinin araştırılması, analizlerin duyarlılığını ve güvenilirliğini artıracaktır. Bu kapsamda yapılacak ileri çalışmalar, yenidoğan buzağı ishalinin gelişim mekanizmalarını ve tedavi stratejilerine yönelik bilgimizi derinleştirecek niteliktedir.



KAYNAKÇA

- Abdulkhani, A., Marvast, E. H., Ashori, A., Hamzeh, Y., & Karimi, A. N.** (2013). Preparation of cellulose/polyvinyl alcohol biocomposite films using 1-n-butyl-3-methylimidazolium chloride. *International journal of biological macromolecules*, 62, 379-386.
- Ahmed, E. G., Al-Muslet, N. A., Ahmed, M. M., Moharam, M. A., & Musaad, W.** (2010). The use of fourier infrared spectroscopy and laser-Raman spectroscopy in bladder malignancy diagnosis, a comparative study. *Applied Physics Research*, 2(1), 108.
- AKBAĞ, H., Kuru, Ö., & Savaş, T.** (2023). The Effects of Probiotic Supplementation on the Development and Health Status of Holstein Breed Calves in the Pre-Weaning Period. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi*, 11(5).
- Aksoy, C., Kaya, F. A., Kuşkonmaz, B. B., Uçkan, D., & Severcan, F.** (2014). Structural investigation of donor age effect on human bone marrow mesenchymal stem cells: FTIR spectroscopy and imaging. *Age*, 36(4), 9691.
- Aksoy, E., Kara, E., Yagci, B. B., & Azkur, A. K.** (2021). Investigation of Bovine Coronavirus and Bovine Rotavirus in Calves with Neonatal Diarrhea in Kırıkkale and Surrounding Provinces. Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute, 9(3), 38-46.
- Aktaş, M. S.** (2023). A Study on the Relationship between Clinical Course and Serum IL-6 Level in Neonatal Calves with Diarrhoea. *Türk Doğa Ve Fen Dergisi*, 12(4), 123-128.
- Alkan F** (1998). Buzağı ishallerinde rotavirus ve coronavirusların rolü. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 45, 29- 37.
- Al-Kelani, M., & Buthelezi, N.** (2024). Advancements in medical research: Exploring Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy for tissue, cell, and hair sample analysis. *Skin Research and Technology*, 30(6), e13733.
- Alzubi, A. A.** (2024). Detection of Disease in Calves using Artificial Intelligence. *Indian Journal of Animal Research*, 58(12).
- Andargie, T. E., Roznik, K., Redekar, N., Hill, T., Zhou, W., Apalara, Z., ... & Agbor-Enoh, S.** (2024). Cell-free DNA reveals distinct pathology of multisystem inflammatory syndrome in children. *The Journal of clinical investigation*, 133(21).

Apaydm, M. (2011). Tek görüntü probleminde tekil değer ayrışımına dayalı ortak matris yaklaşımı ile yüz tanıma (Master's thesis, Bilecik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).

Ardahanlı, İ., Özkan, H. İ., Özel, F., Gurbanov, R., Teker, H. T., & Ceylani, T. (2022). Infrared spectrochemical findings on intermittent fasting-associated gross molecular modifications in rat myocardium. *Biophysical Chemistry*, 289, 106873.

Argenzio, R. A. (1985). Pathophysiology of neonatal calf diarrhea. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 1(3), 461-469.

Argenzio, R. A., Lecce, J., & Powell, D. W. (1993). Prostanoids inhibit intestinal NaCl absorption in experimental porcine cryptosporidiosis. *Gastroenterology*, 104(2), 440-447.

Ates, O., & Yesilbag, K. (2023). Characterization of bovine rotavirus isolates from diarrheic calves in Türkiye. *Molecular Biology Reports*, 50(4), 3063-3071.

Ayan, A., Kilinc, O. O., Khan, J. M., Yilmaz, A. B., Karakus, A. S., Bia, M. M., ... & Lee, D. (2020). Molecular Characterization of Tetratrichomonas Gallinarum in Domestic Turkeys (Meleagris Gallopavo) in Van Province, Turkey. *International Journal of Ecosystems and Ecology Science (IJEES)*, 10(2), 285– 292.

Baba, B., Ceylani, T., Gurbanov, R., Acikgoz, E., Keskin, S., Allahverdi, H., ... & Teker, H. T. (2024). Promoting longevity in aged liver through NLRP3 inflammasome inhibition using tauroursodeoxycholic acid (TUDCA) and SCD probiotics. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 125, 105517.

Backhaus, J., Mueller, R., Formanski, N., Szlama, N., Meerpohl, H. G., Eidt, M., & Bugert, P. (2010). Diagnosis of breast cancer with infrared spectroscopy from serum samples. *Vibrational Spectroscopy*, 52(2), 173-177.

Baker, M. J., Trevisan, J., Bassan, P., Bhargava, R., Butler, H. J., Dorling, K. M., ... & Martin, F. L. (2014). Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nature protocols*, 9(8), 1771-1791.

Balan, V., Mihai, C. T., Cojocaru, F. D., Uritu, C. M., Dodi, G., Botezat, D., & Gardikiotis, I. (2019). Vibrational spectroscopy fingerprinting in medicine: from molecular to clinical practice. *Materials*, 12(18), 2884.

Barauna, V. G., Singh, M. N., Barbosa, L. L., Marcarini, W. D., Vassallo, P. F., Mill, J. G., ... & Martin, F. L. (2021). Ultrarapid on-site detection of SARS-CoV-2 infection using

simple ATR-FTIR spectroscopy and an analysis algorithm: High sensitivity and specificity. *Analytical Chemistry*, 93(5), 2950-2958.

Baris Alkan, B., Atakan, C., & Alkan, N. (2018). Dayanikli lineer diskriminant analizi için yeni bir yaklaşım. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 34(2), 12-19.

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.

Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(9), 1073-1101.

Basoglu, A., Baspinar, N., Tenori, L., Hu, X., & Yildiz, R. (2014). NMR based metabolomics evaluation in neonatal calves with acute diarrhea and suspected sepsis: a new approach for biomarker/S. *Metabolomics*, 4(2), 1.

Belousov, A. I., Verzakov, S. A., & Von Frese, J. (2002). Applicational aspects of support vector machines. *Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society*, 16(8-10), 482-489.

Berchtold, J. (2009). Treatment of calf diarrhea: intravenous fluid therapy. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1), 73-99.

Blanchard PC (2012) Diagnostics of dairy and beef cattle diarrhea. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 28(3): 443-464.

Büyüksırt, T., & Kuleaşan, H. (2014). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and utilization in food.

Caffarena, R. D., Casaux, M. L., Schild, C. O., Fraga, M., Castells, M., Colina, R., ... & Giannitti, F. (2021). Causes of neonatal calf diarrhea and mortality in pasture-based dairy herds in Uruguay: A farm-matched case-control study. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(2), 977-988.

Caffarena, R. D., Castells, M., Schild, C. O., Casaux, M. L., Armendano, J. I., Colina, R., & Giannitti, F. (2022). Determination of an RT-qPCR viral load cutoff point for the etiologic diagnosis of rotavirus A diarrhea in neonate dairy calves. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 952197.

- Cakmak, G., Togan, I., & Severcan, F.** (2006). 17β -Estradiol induced compositional, structural and functional changes in rainbow trout liver, revealed by FT-IR spectroscopy: a comparative study with nonylphenol. *Aquatic toxicology*, 77(1), 53-63.
- Cakmak, G., Zorlu, F., Severcan, M., & Severcan, F.** (2011). Screening of protective effect of amifostine on radiation-induced structural and functional variations in rat liver microsomal membranes by FT-IR spectroscopy. *Analytical chemistry*, 83(7), 2438-2444.
- Callaway, T. R., Edrington, T. S., Anderson, R. C., Harvey, R. B., Genovese, K. J., Kennedy, C. N., ... & Nisbet, D. J.** (2008). Probiotics, prebiotics and competitive exclusion for prophylaxis against bacterial disease. *Animal health research reviews*, 9(2), 217-225.
- Calvo-Gomez, O., Calvo, H., Cedillo-Barron, L., Vivanco-Cid, H., Alvarado-Orozco, J. M., Fernandez-Benavides, D. A., ... & Lopez, M. G.** (2022). Potential of ATR-FTIR–chemometrics in Covid-19: disease recognition. *ACS omega*, 7(35), 30756-30767.
- Carter, H. S., Renaud, D. L., Steele, M. A., Fischer-Tlustos, A. J., & Costa, J. H.** (2021). A narrative review on the unexplored potential of colostrum as a preventative treatment and therapy for diarrhea in neonatal dairy calves. *Animals*, 11(8), 2221.
- Ceylan, C., Severcan, F., Ozkul, A., Severcan, M., Bozoglu, F., & Taheri, N.** (2012). Biophysical and microbiological study of high hydrostatic pressure inactivation of Bovine Viral Diarrheavirus type 1 on serum. *Veterinary microbiology*, 154(3-4), 266-271.
- Ceylani, T., Teker, H. T., Keskin, S., Samgane, G., Acikgoz, E., & Gurbanov, R.** (2023). The rejuvenating influence of young plasma on aged intestine. *Journal of cellular and molecular medicine*, 27(18), 2804-2816.
- Chattopadhyay, A. & Maitra, M** (2022). MRI-based brain tumour image detection using CNN based deep learning method, *Neuroscience Informatics*, 2(4), 100060.
- Cherng, J. Y.** (2009). Investigation of DNA spectral conformational changes and polymer buffering capacity in relation to transfection efficiency of DNA/polymer complexes. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 12(3), 346-356.
- Cho, Y. I., & Yoon, K. J.** (2014). An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of veterinary science*, 15(1), 1.
- Chun, S. Y., Son, M. K., Park, C. R., Lim, C., Kim, H. I., Kwak, K., & Cho, M.** (2022). Direct observation of protein structural transitions through entire amyloid aggregation processes in water using 2D-IR spectroscopy. *Chemical Science*, 13(16), 4482-4489.

Clark MA (1993) Bovine coronavirus. *Br. Vet. J.* 149(1), 51-70.

Constable P. D. (2004). Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *Journal of veterinary internal medicine*, 18(1), 8–17.

Constable PD, (2009). Treatment of calf diarrhea: antimicrobial and ancillary treatments. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1): 101-20.

Constable, P. D., Trefz, F. M., Sen, I., Berchtold, J., Nouri, M., Smith, G., & Grünberg, W. (2021). Intravenous and oral fluid therapy in neonatal calves with diarrhea or sepsis and in adult cattle. *Frontiers in veterinary science*, 7, 603358.

Coşar, M., & Deniz, E. (2021). Makine öğrenimi algoritmaları kullanarak kalp hastalıklarının tespit edilmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (28), 1112-1116.

Çokay, D., & Şahin, E. N. G. İ. N. (2024). Makine öğrenme algoritmaları kullanarak ses verilerinde hastalık tespiti. *Kuantum Teknolojileri ve Enformatik Araştırmaları Dergisi*, 2(2).

Delrue, C., Hofmans, M., Van Dorpe, J., Van der Linden, M., Van Gaever, Z., Kerre, T., ... & De Bruyne, S. (2024). Innovative label-free lymphoma diagnosis using infrared spectroscopy and machine learning on tissue sections. *Communications Biology*, 7(1), 1419.

Demirci, M. (2019). Destek vektör makineleri ve M5 karar ağacı yöntemleri kullanılarak yağış akış ilişkisinin tahmini. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 10(3), 1113-1124.

Dogan, A., Gurbanov, R., Severcan, M., & Severcan, F. (2021). CoronaVac (Sinovac) COVID-19 vaccine-induced molecular changes in healthy human serum by infrared spectroscopy coupled with chemometrics. *Turkish journal of biology = Turk biyoloji dergisi*, 45(4), 549–558.

Dong, L., Duan, X., Bin, L., Wang, J., Gao, Q., Sun, X., & Xu, Y. (2023). Evaluation of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy with multivariate analysis as a novel diagnostic tool for lymph node metastasis in gastric cancer. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 289, 122209.

Dou, T., Li, Z., Zhang, J., Evilevitch, A., & Kurouski, D. (2020). Nanoscale structural characterization of individual viral particles using atomic force microscopy infrared spectroscopy (AFM-IR) and tip-enhanced Raman spectroscopy (TERS). *Analytical Chemistry*, 92(16), 11297-11304.

El Naqa, I., & Murphy, M. J. (2015). What is machine learning?. In *Machine learning in radiation oncology: theory and applications* (pp. 3-11). Cham: Springer International Publishing.

Elsohaby, I., McClure, J. T., Riley, C. B., Shaw, R. A., & Keefe, G. P. (2016). Quantification of bovine immunoglobulin G using transmission and attenuated total reflectance infrared spectroscopy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28(1), 30-37.

Erkilic, E., Merhan, O., Kirmizigul, A., Ogun, M., Akyuz, E., & Cital, M. (2019). Salivary and serum levels of serum amyloid a, haptoglobin, ceruloplasmin and albumin in neonatal calves with diarrhoea. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*, 25(4).

Erukhimovitch, V., Bogomolny, E., Huleihil, M., & Huleihel, M. (2011). Infrared spectral changes identified during different stages of herpes viruses infection in vitro. *Analyst*, 136(13), 2818-2824.

Fernandes, J. N., Dos Santos, L. M., Chouin-Carneiro, T., Pavan, M. G., Garcia, G. A., David, M. R., ... & Sikulu-Lord, M. T. (2018). Rapid, noninvasive detection of Zika virus in *Aedes aegypti* mosquitoes by near-infrared spectroscopy. *Science advances*, 4(5), eaat0496.

Field, M., & Semrad, C. E. (1993). Toxigenic diarrheas, congenital diarrheas, and cystic fibrosis: disorders of intestinal ion transport. *Annual review of physiology*, 55(1), 631-655.

Fischer, S., Bauerfeind, R., Czerny, C. P., & Neumann, S. (2016). Serum interleukin-6 as a prognostic marker in neonatal calf diarrhea. *Journal of dairy science*, 99(8), 6563-6571.

Foster, D. M., & Smith, G. W. (2009). Pathophysiology of diarrhea in calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1), 13-36.

Fujioka, N., Morimoto, Y., Arai, T., Takeuchi, K., Yoshioka, M., & Kikuchi, M. (2004). Differences between infrared spectra of normal and neoplastic human gastric cells. *Journal of Spectroscopy*, 18(1), 59-66.

Garverick, H. A., Harris, M. N., Vogel-Bluel, R., Sampson, J. D., Bader, J., Lamberson, W. R., ... & Youngquist, R. S. (2013). Concentrations of nonesterified fatty acids and glucose in blood of periparturient dairy cows are indicative of pregnancy success at first insemination. *Journal of dairy science*, 96(1), 181-188.

- Gebregiorgis, A., & Tessema, T. S.** (2016). Characterization of *Escherichia coli* isolated from calf diarrhea in and around Kombolcha, South Wollo, Amhara Region, Ethiopia. *Tropical animal health and production*, 48(2), 273–281.
- Godden, S.** (2008). Colostrum management for dairy calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(1), 19-39.
- 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.
- Gould, T. J., Lysov, Z., & Liaw, P. C.** (2015). Extracellular DNA and histones: double-edged swords in immunothrombosis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 13, S82-S91.
- Greenacre, M., Groenen, P. J., Hastie, T., d’Enza, A. I., Markos, A., & Tuzhilina, E.** (2022). Principal component analysis. *Nature Reviews Methods Primers*, 2(1), 100.
- Guleken, Z., Aday, A., Bayrak, A. G., Hindilerden, İ. Y., Nalçacı, M., Cebulski, J., & Depciuch, J.** (2024). Relationship between amide ratio assessed by Fourier-transform infrared spectroscopy: A biomarker candidate for polycythemia vera disease. *Journal of Biophotonics*, 17(9), e202400162.
- Gurbanov, R., & Yıldız, F.** (2017). Molecular Profile of Oral Probiotic Bacteria To Be Used With Functional Foods. *Journal of Food and Health Science*, 12(3), 117–131.
- Gurbanov, R., Karadağ, H., Karaçam, S., & Samgane, G.** (2021). Tapioca Starch Modulates Cellular Events in Oral Probiotic *Streptococcus salivarius* Strains. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(1), 195–207.
- Güney, F. Z.** (2023). Cryptosporidiosis’ li buzağlarda Buparvaquone’un klinik ve kan parametreleri üzerine etkinliğinin değerlendirilmesi (Doctoral dissertation, Bursa Uludag University (Turkey)).
- Güran, A., Uysal, M., & Doğrusöz, Ö.** (2014). Destek vektör makineleri parametre optimizasyonunun duygu analizi üzerindeki etkisi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 16(48), 86-93.
- Hajjo, R., Sabbah, D. A., Bardaweel, S. K., Tropsha, A.** (2021) Identification of Tumor-Specific MRI Biomarkers Using Machine Learning (ML)”, *Diagnostics (Basel)*, 11(5), 742.

Hastie T, Tibshirani R, Friedman J (2009) Springer Series in Statistics the Elements of Statistical Learning-Data Mining, Inference, and Prediction (2nd Edition). Switzerland: Springer.

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.

İsmail, Ş. E. N. (2013). Neonatal buzağı ishalleri: Patofizyoloji, epidemiyoloji, klinik, tedavi ve koruma. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci*, 4(1), 71-8.

Jessop, E., Li, L., Renaud, D. L., Verbrugghe, A., Macnicol, J., Gamsjäger, L., & Gomez, D. E. (2024). Neonatal calf diarrhea and gastrointestinal microbiota: etiologic agents and microbiota manipulation for treatment and prevention of diarrhea. *Veterinary Sciences*, 11(3), 108.

Joshi, V., Gupta, V. K., Bhanuprakash, A. G., Mandal, R. S. K., Dimri, U., & Ajith, Y. (2018). Haptoglobin and serum amyloid A as putative biomarker candidates of naturally occurring bovine respiratory disease in dairy calves. *Microbial pathogenesis*, 116, 33-37.

Kaduková, M., Schreiberová, A., Mudroň, P., Tóthová, C., Gomulec, P., & Štrkolcová, G. (2024). Cryptosporidium infections in neonatal calves on a dairy farm. *Microorganisms*, 12(7), 1416.

Karayel Hacıoğlu, İ. & Alkan, F. (2018). Yeni doğan Buzağı İshallerinin Önemli Viral Etkenlerinden Caliciviruslar. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 29 (2), 167-174.

Kardas, M., Gozen, A. G., & Severcan, F. (2014). FTIR spectroscopy offers hints towards widespread molecular changes in cobalt-acclimated freshwater bacteria. *Aquatic toxicology*, 155, 15-23.

Kargar, S., Roshan, M., Ghoreishi, S. M., Akhlaghi, A., Kanani, M., Shams-Abadi, A. A., & Ghaffari, M. H. (2020). Extended colostrum feeding for 2 weeks improves growth performance and reduces the susceptibility to diarrhea and pneumonia in neonatal Holstein dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 103(9), 8130-8142.

Karlı, M. A., & Evci, Ş. (2018). Buzağı kayıplarının önlenmesinde inek ve buzağı beslemesinin önemi. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 58(3), 23-34.

- Kazarian, S. G., & Chan, K. L. A.** (2006). Applications of ATR-FTIR spectroscopic imaging to biomedical samples. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1758(7), 858-867.
- Kılıç, G. B. & Karahan, A. G.** (2010). Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması. *Gıda*, 35 (6), 445-452.
- Kim, E. T., Lee, S. J., Kim, T. Y., Lee, H. G., Atikur, R. M., Gu, B. H., ... & Kim, M. H.** (2021). Dynamic changes in fecal microbial communities of neonatal dairy calves by aging and diarrhea. *Animals*, 11(4), 1113.
- Kiraz, A., & Erdemir, B.** (2022). Bir Perakende Firmasında Metin Benzerliği ve Tekil Değer Ayırımı Algoritması Tabanlı Ürün Öneri Sisteminin Oluşturulması. *Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 5(2), 173-188.
- KOZAT, S.** (2024). Identification and prevalence of some important pathogens playing a role in neonatal calf diarrhea in different regions of turkey. studies in the field of veterinary medicine, 17.
- Lee, S. H., Kim, H. Y., Choi, E. W., & Kim, D.** (2019). Causative agents and epidemiology of diarrhea in Korean native calves. *Journal of Veterinary Science*, 20(6), e64.
- Lewis, L. D., & Phillips, R. W.** (1978). Pathophysiologic changes due to coronavirus-induced diarrhea in the calf. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 173(5), 636-642.
- Li, H., Wang, J., Li, X., Zhu, X., Guo, S., Wang, H., ... & He, F.** (2024). Comparison of serum from lung cancer patients and from patients with benign lung nodule using FTIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 306, 123596.
- Lorenz, I.** (2021). Calf health from birth to weaning-an update. *Irish Veterinary Journal*, 74(1), 5.
- 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), 9.
- Lorenz, I., Huber, R., & Trefz, F. M.** (2021). A high plane of nutrition is associated with a lower risk for neonatal calf diarrhea on bavarian dairy farms. *Animals*, 11(11), 3251.

- Luke, T. D. W., Nguyen, T. T. T., Rochfort, S., Wales, W. J., Richardson, C. M., Abdelsayed, M., & Pryce, J. E.** (2019). Genomic prediction of serum biomarkers of health in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 102(12), 11142-11152.
- Lundberg, S. M., Nair, B., Vavilala, M. S., Horibe, M., Eisses, M. J., Adams, T., ... & Lee, S. I.** (2018). Explainable machine-learning predictions for the prevention of hypoxaemia during surgery. *Nature biomedical engineering*, 2(10), 749-760.
- Maier, G. U., Breitenbuecher, J., Gomez, J. P., Samah, F., Fausak, E., & Van Noord, M.** (2022). Vaccination for the prevention of neonatal calf diarrhea in cow-calf operations: a scoping review. *Veterinary and animal science*, 15, 100238.
- Malik, Y. S., Verma, A. K., Kumar, N., Touil, N., Karthik, K., Tiwari, R., ... & Singh, R. K.** (2019). Advances in diagnostic approaches for viral etiologies of diarrhea: from the lab to the field. *Frontiers in microbiology*, 10, 1957.
- Marangoni-Ghoreyshi, Y. G., Franca, T., Esteves, J., Maranni, A., Portes, K. D. P., Cena, C., & Leal, C. R.** (2023). Multi-resistant diarrheagenic *Escherichia coli* identified by FTIR and machine learning: a feasible strategy to improve the group classification. *RSC advances*, 13(36), 24909-24917.
- Martinez-Cuazitl, A., Mata-Miranda, M. M., Sanchez-Brito, M., Valencia-Trujillo, D., Avila-Trejo, A. M., Delgado-Macuil, R. J., ... Vazquez-Zapien, G. J.** (2023). Clinical, Biochemical, and ATR-FTIR Spectroscopic Parameters Associated with Death or Survival in Patients with Severe COVID-19. *Journal of Spectroscopy*, 2023(1), 3423183.
- Martinez-Cuazitl, A., Vazquez-Zapien, G. J., Sanchez-Brito, M., Limon-Pacheco, J. H., Guerrero-Ruiz, M., Garibay-Gonzalez, F., ... & Mata-Miranda, M. M.** (2021). ATR-FTIR spectrum analysis of saliva samples from COVID-19 positive patients. *Scientific Reports*, 11(1), 19980.
- Mead, P. S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L. F., Bresee, J. S., Shapiro, C., Griffin, P. M., & Tauxe, R. V.** (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging infectious diseases*, 5(5), 607–625
- Meganck, V., Hoflack, G., & Opsomer, G.** (2014). Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56(1), 75.

Mello, M. L. S., & Vidal, B. C. (2012). Changes in the infrared microspectroscopic characteristics of DNA caused by cationic elements, different base richness and single-stranded form

Morris, A. P., Scott, J. K., Ball, J. M., Zeng, C. Q. Y., O'Neal, W. K., & Estes, M. K. (1999). NSP4 elicits age-dependent diarrhea and Ca^{2+} mediated I^- influx into intestinal crypts of CF mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 277(2), G431-G444.

Movasaghi, Z., Rehman, S., & ur Rehman, D. I. (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134-179.

Mukhtar, Y., Mamo, G., Tesfaye, B., & Belina, D. (2015). A review on major bacterial causes of calf diarrhea and its diagnostic method. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 7(5), 173-185.

Naseer, K., Ali, S., & Qazi, J. (2021). ATR-FTIR spectroscopy based differentiation of typhoid and dengue fever in infected human sera. *Infrared Physics & Technology*, 114, 103664.

Ojcius, D. M., Perfettini, J. L., Bonnin, A., & Laurent, F. (1999). Caspase-dependent apoptosis during infection with *Cryptosporidium parvum*. *Microbes and Infection*, 1(14), 1163-1168.

Ozcan, İ., Tasar, B., Tatar, A. B., & Yakut, O. (2019). Destek vektör makinesi algoritması ile kalp hastalıklarının tahmini. *Computer Science*, 4(2), 74-79.

Ozek, N. S., Tuna, S., Erson-Bensan, A. E., & Severcan, F. (2010). Characterization of microRNA-125b expression in MCF7 breast cancer cells by ATR-FTIR spectroscopy. *Analyst*, 135(12), 3094-3102.

Özgür, S. B. (2021). Algoritmalar, yapay zekâ, makine öğrenmesi, derin öğrenme ve uygulamaları: Beşerî fayda üretiminin yazılımlar tarafından karşılanması. *Ekonomi ve Yönetim Araştırmaları Dergisi*, 10(1), 1-29.

Öztürkler, O., Kızıltepe, S., Alkan, H., & Hacıömeroglu, S. (2022). Investigation of some microbial and protozoon factors with rapid test kits in neonatal diarrheas in calves in Kars province.

Panel, E. A., Nielsen, S. S., Alvarez, J., Bicout, D. J., Calistri, P., Canali, E., ... & Michel, V. (2023). Welfare of broilers on farm. *EFSA Journal*, 21(2), e07788.

- Penazzi, L., Pagliara, E., Nervo, T., Ala, U., Bertuglia, A., Romano, G., ... & Prola, L.** (2025). Dietary supplementation of new-born foals with free nucleotides positively affects neonatal diarrhoea management. *Irish veterinary journal*, 78(1), 7.
- Piras, C., Hale, O. J., Reynolds, C. K., Jones, A. B., Taylor, N., Morris, M., & Cramer, R.** (2022). LAP-MALDI MS coupled with machine learning: an ambient mass spectrometry approach for high-throughput diagnostics. *Chemical Science*, 13(6), 1746-1758.
- Prosser, H. M., Bortoluzzi, E. M., Valeris-Chacin, R. J., Baker, E. C., & Scott, M. A.** (2025). Application of artificial intelligence and machine learning in bovine respiratory disease prevention, diagnosis, and classification. *American Journal of Veterinary Research*, 86(S1), S22-S26.
- Rocha, T. G., Silva, F. D. F., Bortoletto, C., Silva, D. G., Buzinaro, M. G., Zafalon, L. F., & Fagliari, J. J.** (2016). Serum concentrations of acute phase proteins and immunoglobulins of calves with rotavirus diarrhea. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinaria E Zootecnia*, 68(04), 865-872.
- Roth, E., & Bergmann, M.** (1999). Importance of cytokine metabolism for malnutrition, catabolism and endocrinological state in sepsis. *Cytokines in Severe Sepsis and Septic Shock*, 227-243.
- Roy, S., Perez-Guaita, D., Bowden, S., Heraud, P., & Wood, B. R.** (2019). Spectroscopy goes viral: Diagnosis of hepatitis B and C virus infection from human sera using ATR-FTIR spectroscopy. *Clinical Spectroscopy*, 1, 100001.
- Roy, S., Perez-Guaita, D., Bowden, S., Heraud, P., & Wood, B. R.** (2019). Spectroscopy goes viral: Diagnosis of hepatitis B and C virus infection from human sera using ATR-FTIR spectroscopy. *Clinical Spectroscopy*, 1, 100001.
- Rumaling, M. I., Chee, F. P., Bade, A., Hasbi, N. H., Daim, S., Juhim, F., ... & Rasmi, R.** (2022). Methods of optical spectroscopy in detection of virus in infected samples: A review. *Heliyon*, 8(9).
- Sajid, J., Elhaddaoui, A., & Turrell, S.** (1997). Fourier transform vibrational spectroscopic analysis of human cerebral tissue. *Journal of Raman spectroscopy*, 28(2-3), 165-169.
- Sakudo, A., Baba, K., & Ikuta, K.** (2012). Discrimination of influenza virus-infected nasal fluids by Vis-NIR spectroscopy. *Clinica Chimica Acta*, 414, 130-134.

Samak, M. (2021). İshalli buzağılarda zeolit kullanımının na^+ , k^+ ve cliyonları üzerine etkisi (Doctoral dissertation).

SANCAK, S. (2020). Neonatal buzağı septisemilerinde *Escherichia Coli*. (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veterinerlik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Santos-Rivera, M., Woolums, A., Thoresen, M., Blair, E., Jefferson, V., Meyer, F., & Vance, C. K. (2021). Profiling Mannheimia haemolytica infection in dairy calves using near infrared spectroscopy (NIRS) and multivariate analysis (MVA). *Scientific Reports*, 11(1), 1392.

Schaefer B. (2000). Untersuchungen von Todesursachen bei Kaelbern in den Jahren 1964-1997. Hannover, Inaugural- Dissertation, Tierärztliche Hochschule.

Schapire, R. E. (2003). The boosting approach to machine learning: An overview. In Nonlinear estimation and classification (pp. 149-171). Springer, New York.

Schroeder, M. E., Bounpheng, M. A., Rodgers, S., Baker, R. J., Black, W., Naikare, H., ... & Clavijo, A. (2012). Development and performance evaluation of calf diarrhea pathogen nucleic acid purification and detection workflow. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 24(5), 945-953.

Schwaiger, K., Storch, J., Bauer, C., & Bauer, J. (2022). Abundance of selected bacterial groups in healthy calves and calves developing diarrhea during the first week of life: Are there differences before the manifestation of clinical symptoms?. *Frontiers in Microbiology*, 13, 958080.

Schwaiger, K., Storch, J., Bauer, C., & Bauer, J. (2023). Lactobacillus (Limosilactobacillus) reuteri: a probiotic candidate to reduce neonatal diarrhea in calves. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1266905.

Selles, S. M. A., Kouidri, M., Belhamiti, B. T., Ait Amrane, A., Benia, A. R., Hammoudi, S. M., ... & Boukraa, L. (2018). Enteropathogens associated with neonatal calves diarrhea in Tiaret area (Western Algeria). *Veterinaria*, 67(2).

Senthilkumar, C., C, S., Vadivu, G., & Neethirajan, S. (2024). Early detection of lumpy skin disease in cattle using deep learning—a comparative analysis of pretrained models. *Veterinary Sciences*, 11(10), 510.

- Sert, F. & Polat Açık, İ.** (2020). Yeni Doğan Buzağların Beslenmesinde Ağız Sütünün Önemi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3 (2), 193-198.
- Severcan, F., Ozyurt, I., Dogan, A., Severcan, M., Gurbanov, R., Kucukcankurt, F., ... & Zorlu, Y.** (2024). Decoding myasthenia gravis: advanced diagnosis with infrared spectroscopy and machine learning. *Scientific Reports*, 14(1), 19316.
- Sheng, D., Wu, Y., Wang, X., Huang, D., Chen, X., & Liu, X.** (2013). Comparison of serum from gastric cancer patients and from healthy persons using FTIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 116, 365-369.
- Shuai, W., Wu, X., Chen, C., Zuo, E., Chen, X., Li, Z., ... & Chen, C.** (2024). Rapid diagnosis of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis based on Fourier transform infrared spectroscopy and deep learning. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 45, 103885.
- Smith, D. R.** (2012). Field disease diagnostic investigation of neonatal calf diarrhea. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 28(3), 465-481.
- Snodgrass DR, Terzolo HR, Sherwood D, Campell I, Menzies JD** (1986) Aetiology of diarrhoea in young calves. *Vet Rec.* 119(2): 31-4.
- Stec-Martyna, E., Wojtczak, K., Nowak, D., & Stawski, R.** (2025). Battle of the Biomarkers of Systemic Inflammation. *Biology*, 14(4), 438.
- Steinwart, A. & Christmann, I** (2008). *Support Vector Machines* (1st Edition). New York: Springer-Verlag
- Swapna, P., Geetha, M., Nuthana, B., & Rohan, R.** (2024). Using AI and Machine Learning for Early Detection and Management of Cattle Diseases to Improve Livestock Health and Productivity. *Int. Res. J. Educ. Technol*, 6, 1815-1822.
- Szczerbowska-Boruchowska, M., Dumas, P., Kastyak, M. Z., Chwiej, J., Lankosz, M., Adamek, D., & Krygowska-Wajs, A.** (2007). Biomolecular investigation of human substantia nigra in Parkinson's disease by synchrotron radiation Fourier transform infrared microspectroscopy. *Archives of biochemistry and biophysics*, 459(2), 241-248.
- Şahal, M., Terzi, O. S., Ceylan, E., & Kara, E.** (2018). Calf diarrhea and prevention methods. *Journal of Lalahan Livestock Research Institute*, 58(3).

- Taneja, M., Byabazaire, J., Jalodia, N., Davy, A., Olariu, C., & Malone, P. (2020).** Machine learning based fog computing assisted data-driven approach for early lameness detection in dairy cattle. *Computers and Electronics in Agriculture*, 171, 105286.
- Teker, H. T., Ceylani, T., Keskin, S., Samgane, G., Allahverdi, H., Acikgoz, E., & Gurbanov, R. (2024).** Supplementing probiotics during intermittent fasting proves more effective in restoring ileum and colon tissues in aged rats. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 28(6), e18203.
- Teker, H. T., Ceylani, T., Keskin, S., Samgane, G., Mansuroglu, S., Baba, B., ... & Gurbanov, R. (2023).** Age-related differences in response to plasma exchange in male rat liver tissues: insights from histopathological and machine-learning assisted spectrochemical analyses. *Biogerontology*, 24(4), 563-580.
- Tiernan, H., Byrne, B., & Kazarian, S. G. (2020).** ATR-FTIR spectroscopy and spectroscopic imaging for the analysis of biopharmaceuticals. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 241, 118636.
- Tokgoz, G., Kirboga, K. K., Ozel, F., Yucepur, S., Ardahanli, I., & Gurbanov, R. (2024).** Spectrochemical and explainable artificial intelligence approaches for molecular level identification of the status of critically ill patients with COVID-19. *Talanta*, 279, 126652.
- Tokgöz, B. S., Özdemir, R., Turut, N., Mirioğlu, M., İnce, H., Mahanoğlu, B., Yoldas, A., & Tuzcu, N. (2013)** Adana Bölgesinde Görülen Neonatal Buzağı Enfeksiyonlarının Morbidite ve Mortaliteleri ve Risk Faktörlerinin Belirlenmesi. *Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 3, 7-14.
- Tokgöz, G. (2025).** *COVID-19 patogenezinin moleküler düzeyde tanımlanması ve tahmini için spektrokimyasal ve açıklanabilir yapay aekâ yaklaşımlarının birlikte değerlendirilmesi* (Master's thesis, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü).
- Topraksever, N., & Artuç, G. Ö. (2023).** Kantitatif tayinde yeşil yöntem: ATR-FTIR; farmasötik preparatta parasetamol tayini. *İstanbul Ticaret Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 22(44), 425-433.
- Tosunoğlu, E., Yılmaz, R., Özeren, E., & Sağlam, Z. (2021).** Eğitimde makine öğrenmesi: Araştırmalardaki güncel eğilimler üzerine inceleme. *Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi Dergisi*, 3(2), 178-199.

- Tsolis, R. M., Adams, L. G., Ficht, T. A., & Bäuml, A. J.** (1999). Contribution of *Salmonella typhimurium* virulence factors to diarrheal disease in calves. *Infection and immunity*, 67(9), 4879–4885
- Uetake, K.** (2013). Newborn calf welfare: A review focusing on mortality rates. *Animal Science Journal*, 84(2), 101-105.
- 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.
- Verdonck, M., Denayer, A., Delvaux, B., Garaud, S., De Wind, R., Desmedt, C., ... & Goormaghtigh, E.** (2016). Characterization of human breast cancer tissues by infrared imaging. *Analyst*, 141(2), 606-619.
- Walsh RB, Walton JS, Kelton DF, LeBlanc SJ, Leslie KE, Duffield TF** (2007): The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *J Dairy Sci*, 90:2788- 2796.
- Wang, Y., Li, Q., Chu, M., Kang, X., & Liu, G.** (2023). Application of infrared thermography and machine learning techniques in cattle health assessments: A review. *Biosystems Engineering*, 230, 361-387.
- Wei, X., Wang, W., Dong, Z., Cheng, F., Zhou, X., Li, B., & Zhang, J.** (2021). Detection of infectious agents causing neonatal calf diarrhea on two large dairy farms in Yangxin County, Shandong Province, China. *Frontiers in veterinary science*, 7, 589126.
- Wei, X., Wang, W., Dong, Z., Cheng, F., Zhou, X., Li, B., & Zhang, J.** (2021). Detection of infectious agents causing neonatal calf diarrhea on two large dairy farms in Yangxin County, Shandong Province, China. *Frontiers in veterinary science*, 7, 589126.
- Wilson, D. J., Habing, G., Winder, C. B., & Renaud, D. L.** (2023). A scoping review of neonatal calf diarrhea case definitions. *Preventive Veterinary Medicine*, 211, 105818.
- Windeyer, M. C., Leslie, K. E., Godden, S. M., Hodgins, D. C., Lissemore, K. D., & LeBlanc, S. J.** (2014). Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive veterinary medicine*, 113(2), 231-240.

- Wood, B. R., Kochan, K., Bedolla, D. E., Salazar-Quiroz, N., Grimley, S. L., Perez-Guaita, D., ... & Heraud, P.** (2021). Infrared based saliva screening test for COVID-19. *Angewandte Chemie*, 133(31), 17239-17244.
- Wu, X., Shuai, W., Chen, C., Chen, X., Luo, C., Chen, Y., ... & Wu, L.** (2023). Rapid screening for autoimmune diseases using Fourier transform infrared spectroscopy and deep learning algorithms. *Frontiers in Immunology*, 14, 1328228.
- Yanar, K. E.** (2022). Yenidoğan buzağı ishallerinin nedenleri, tedavileri ve korunma yöntemleri. *Palandöken Journal of Animal Sciences Technology and Economics*, 1(1), 54-59.
- Yang, X., Ou, Q., Qian, K., Yang, J., Bai, Z., Yang, W., ... & Liu, G.** (2021). Diagnosis of lung cancer by ATR-FTIR spectroscopy and chemometrics. *Frontiers in Oncology*, 11, 753791.
- Yayan, M., Basbugan, Y., Yüksek, N., & Çatalkaya, E.** (2021). Neonatal Buzağı İshal Tedavilerine İlave Probiyotik Kullanımının İmmunglobulin M (IgM) ve İmmunglobulin G (IgG) Seviyelerine Etkisi. *Van Sağlık Bilimleri Dergisi*, 14(2), 131-136.
- Yonar, D., Severcan, M., Gurbanov, R., Sandal, A., Yilmaz, U., Emri, S., & Severcan, F.** (2022). Rapid diagnosis of malignant pleural mesothelioma and its discrimination from lung cancer and benign exudative effusions using blood serum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1868(10), 166473.
- Yonar, D., Severcan, M., Gurbanov, R., Sandal, A., Yilmaz, U., Emri, S., & Severcan, F.** (2022). Rapid diagnosis of malignant pleural mesothelioma and its discrimination from lung cancer and benign exudative effusions using blood serum. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1868(10), 166473.
- Zhang, J., Huang, P., Wang, Z., & Dong, H.** (2017). Application of FTIR spectroscopy for traumatic axonal injury: a possible tool for estimating injury interval. *Bioscience Reports*, 37(4), BSR20170720.
- Zheng, N., Yang, T., Liang, M., Zhang, H., Li, L., Sunnassee, A., & Liu, L.** (2010). Characterization of protein in old myocardial infarction by FTIR micro-spectroscopy. *Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences]*, 30(4), 546-550.