

NEONATAL İSHALLİ BUZAĞILARDA SERUM İMMUNOGLOBULİNLERİN GLUTARALDEHİD KOAGULASYON TESTİ İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

İsmail Şen¹@ Abdullah Başıoğlu¹ Mahmut Ok¹ Fatih M. Bırdane¹

Hasan Güzelbektas¹ Turan Civelek¹

Serum Immunoglobulins in Neonatal Diarrhoeic Calves Evaluation by Glutaraldehyd Coagulation Test

Summary: The aim of this study, in neonatal calves, to carry out the relationship between diarrhea and passive colostral transfer and the safety of GA test using SRID (Single Radial Immunodiffussion) test for its determination. In this study, healthy 20 and diarrheic 30, totally 50 calves were used as a material. Serum immunoglobulin levels were measured by GA test as semiquantitative and by SRID test as quantitative. In the some diarrheic calves IgG levels were 250-400 mg/dl and their serum incouagulated in 30 minutes. In the meantime, IgG levels of other diarrhoeic calves were 580-800 mg/dl and their serum semisolid (jelous) at between 12-28 minutes. In the healthy calves, serum samples with IgG level of 2400-5800 mg/dl coagulated in 1-5 minutes and serum samples with IgG level of 1600 mg/dl coagulated in 6 to 7 minutes. As a result, it could be said that diarrhea is connected with passive colostral transfer, and calves with negative and jelous GA test have failure of passive colostral transfer and calves with positive GA test have adequate passive colostral transfer.

Key words: Calves, Glutaraldehyde coagulation test, Serum Immunoglobulin G

Özet: Bu çalışmada, neonatal buzağılarda ishallerin pasif immun transferi ile ilgisi ve bunu belirlemede glutaraldehid (GA) koagülasyon testinin güvenilirliğinin, bir kantitatif test olan single radial immunodiffüzyon (SRID) testi kullanarak ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu araştırmanın materyalini, 20 sağlıklı ve 30 ishalleri olmak üzere toplam 50 adet neonatal buzağı oluşturdu. İmmunoglobulin G seviyeleri, kantitatif olarak single radial immunodiffüzyon testi ile; semikantitatif olarak glutaraldehid koagülasyon testi ile ölçüldü. Neonatal ishalleri buzağılarda 30 dakikada pıhtılaşmayan serum örneklerinde IgG konsantrasyonları 250-400 mg/dl iken, 12-28. dakikada yarı pıhtılaşma (jelöz) gösteren serum örneklerinde ise IgG konsantrasyonları 580-800 mg/dl idi. Sağlıklı neonatal buzağılarda 1-5 dakikada pıhtılaşan serum örneklerinde IgG konsantrasyonları 2400-5800 mg/dl iken, 6-7 dakikada pıhtılaşan serum örneklerinde IgG konsantrasyonları 1600-1700 mg/dl idi. Sonuç olarak negatif ve jelöz glutaraldehid test sonucu veren buzağılarda yetersiz pasif kolostral transfere pozitif glutaraldehid test sonucu veren buzağılarda yeterli pasif kolostral transfer gözlenebileceği söylenebilir

Anahtar Kelimeler: Buzağı, glutaraldehid koagülasyon test, serum immunoglobulin G

Giriş

Neonatal buzağı kayıpları sığır yetiştiriciliğinin en önemli problemlerindendir. Bu kayıpların nedenleri arasında ishaller ilk sırada yer alır. İshallere, çevresel şartların uygunsuzluğu ve immun durumun yetersizliği ile birlikte mikroorganizmalar (virus, bakteri, protozon, vs) neden olmaktadır (Allen ve White, 1985; Hall ve ark., 1988; Erganiş ve ark., 1988; Turgut ve Ok, 1997).

Ruminantlarda, plasental yapı nedeniyle, immunoglobulinlerin fetal transferi mümkün değildir. Bu yüzden ruminantlarda pasif immunité sadece

kolostrumla transfer edilir (Blood ve Rodostits, 1989). Yapılan çalışmalar ishallerin şekillenmesinde kolostral pasif transferin yetersizliğini vurgulamaktadır (Blom, 1982; Hopkins ve ark., 1984; Aldrige ve ark., 1992; Wittum ve Perino, 1995). Akut ishaller ve buna bağlı ölümlerin doğum sonrası ilk 10 gün içerisinde ortaya çıktığı dikkate alındığında doğum sonrası immun durumun belirlenmesi işletmecilik açısından oldukça önemlidir. Immun durum, semikantitatif (Sodyum sulfit presipitasyon, Çinko sülfat turbidite, Glutaraldehid koagülasyon, Refraktrometre) ve kantitatif (Single Radyal İmmun Diffüzyon, ELISA, vs) testlerle belirlenmektedir

(Hopkins ve ark., 1984; Beatson ve ark., 1985; Selim ve ark., 1995). Bunlardan glutaraldehid koagülasyon testinin güvenilirliği tartışmalıdır.

Bu çalışmada, neonatal dönem buzağılarda ishallerin serum IgG seviyeleri ile ilgisi ve pasif immun transferi belirlemede GA testinin güvenilirliğinin, bir kantitatif test olan SRID yardımıyla ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu araştırmanın materyalini, özel bir hayvancılık işletmesinden sağlıklı, yeteri kadar kolostrum almış, 2-10 günlük 20 (kontrol grubu,) ve S.Ü. Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları kliniğine tedavi amacıyla getirilen 2-20 günlük 30 ishalleri (deneme grubu) olmak üzere toplam 50 adet neonatal buzağı oluşturdu.

Sağlıklı ve ishalleri buzağuların klinik muayeneleri yapıldıktan sonra, kan örnekleri alınarak serumları çıkarıldı. İmmunglobulin G seviyeleri, kantitatif olarak Single Radial İmmunodiffüzyon testi ile; semikantitatif olarak glutaraldehid koagülasyon testi ile ölçüldü.

Glutaraldehid koagülasyon Testi:

Bir test tüpüne 50µl % 10'luk glutaraldehid solusyonu (%25 Merck No: 4239) üzerine 0.5 ml serum ilave edilerek karıştırıldı ve 30 dakika bekledi. Bu süre içerisinde test tüpünün dibinde sert, opak, sarı bir pıhtının oluşumu ve tüp tersine çevrildiği zaman pıhtının hareket etmemesi pozitif; tam olmayan, yarı sert, jel bir pıhtının oluşması jelöz; pıhtılaşmanın olmaması ise negatif reaksiyon olarak değerlendirildi.

Single Radial İmmunodiffüzyon Testi:

Serum immunoglobulinlerin konsantrasyonlarının belirlenmesinde ticari Single Radial İmmunodiffüzyon test kiti (RID kits, VMRD, Pullman, Wash) kullanıldı. Bu testte anti-bovine immunglobulin G'nin standart solusyonları ile birlikte agarose jel içeren radial immundiffüzyon test kapları, standart ve test örneklerini test kabının çukurlarına koymak için 3µl'lik mikropipetler kullanıldı. 3µl serum test kaplarına konduktan sonra 18 saat oda ısısında tutuldu. Sonuçları ifade eden halka çapları bir kompasla ölçüldü. Referans serumlarla meydana gelen halka çaplarına göre standart eğri oluşturuldu. Örneklerin halka çapları da bu standart eğri ile karşılaştırılarak immunglobulin konsantrasyonları belirlendi (Selim ve ark., 1995).

Bulgular

Hasta buzağılarda sulu, sarı bazen pis kokulu

diyareyle birlikte orta ile şiddetli derecede dehidrasyon belirlendi.

Deneme grubuna ait hayvanların serum glutaraldehid koagülasyon test süresi, serumun pıhtılaşma özelliği ve immunglobulin G konsantrasyonları Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre ishalleri buzağular yetersiz pasif kolostral transfere sahipti (375 mg/dl). 30 dakikada pıhtılaşmayan serum örneklerinde IgG konsantrasyonları 250-400 mg/dl iken, 12-28. dakikada yarı pıhtılaşma (jelöz) gösteren serum örneklerinde ise IgG konsantrasyonları 580-800 mg/dl arasında tespit edilmiştir.

Sağlıklı buzağuların serum glutaraldehid koagülasyon test süresi, serumun pıhtılaşma özelliği ve IgG konsantrasyonları Tablo 2'de verilmiştir. Buna göre sağlıklı buzağular yeterli pasif kolostral transfere sahipti (3255). 1-5 dakikada pıhtılaşan serum örneklerinde IgG konsantrasyonları 2400-5800 mg/dl iken, 6-7 dakikada pıhtılaşan serum örneklerinde IgG konsantrasyonları 1600-1700 mg/dl arasında tespit edilmiştir.

Tablo 1. Septisemili buzağuların serum glutaraldehid koagülasyon test süresi, serumun pıhtılaşma özelliği ve serum immunglobulin G konsantrasyonları

Hayvan sayısı (n)	GA Test süresi (dakika)	Serumun pıhtılaşma özelliği	IgG (mg/dl)
14	30	negatif	250-400
16	12-28	jelöz	580-800

Tablo 2. Sağlıklı buzağuların serum glutaraldehid koagülasyon test süresi, serumun pıhtılaşma özelliği ve serum immunglobulin G konsantrasyonları

Hayvan sayısı (n)	GA Test süresi (dakika)	Serumun pıhtılaşma özelliği	IgG (mg/dl)
20	1-7	pozitif	1600-5800

Tartışma ve Sonuç

Serum IgG seviyeleri < 800 mg/dl olan buzağuların maternal antikörlerle ilgili pasif transferi yetersiz; serum IgG seviyeleri 800-1600mg/dl olan buzağuların pasif transferi kısmi ve serum IgG seviyeleri >1600 mg/dl olan buzağuların pasif transferi yeterli kabul edilmektedir (Hopkins ve ark.,1984; Perino ve ark., 1993). Sığır yetiştiriciliğinde yeni doğanlarda gözlenen hastalıklar ve buzağı kayıpları dikkate alındığında immun durumla ilgili pasif kolostral transferin belirlenmesi oldukça önemlidir (Allen ve White, 1985; Hall ve ark., 1988; Erganiş ve ark., 1988; Turgut ve Ok, 1997).

Zira birçok araştırmacı (Blom 1982; Petri ve ark 1984; Muggli ve ark., 1984; Perino ve ark., 1993; Wittum ve Perrino, 1995; Selim ve ark., 1995; Perrino, 1997) yetersiz pasif kolostral transferli buzağlarda kısa ve uzun dönemde sağlık durumlarının ve büyüme performansının risk altında olduğunu ve önemli kayıpların meydana geldiğini ifade etmektedirler. Bu görüşe tam olarak katılmayan araştırmacılar (Aldridge ve ark., 1992; Heath, 1992; Başoğlu ve ark., 1999) hipogammaglobulinemin her zaman enfeksiyona ve ölüme neden olmadığını kolostrum sayesinde yüksek oranda pasif immunité sağlanan buzağlarda bile ishal ve diğer hastalıkların da meydana gelebileceğini bildirmektedirler. Bu çalışma sonuçları ise birinci grup araştırmacıları destekler niteliktedir. Zira deneme grubunu oluşturan ishalli buzağlar yetersiz pasif kolostral transfere sahipken, kontrol grubunu oluşturan sağlıklı buzağlar ise yeterli pasif kolostral transfere sahiptir.

Pasif kolostral transferin belirlenmesinde pratik olarak sahada uygulanabilir ve güvenilir testler tercih edilir. Bu testlerden biri olan GA testi tartışmalıdır. Saikku ve ark. (1989) GA testinin pratik, ucuz ve kritik IgG seviyelerinde yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip semikantitatif bir test olduğunu, Turgut ve ark. (1997) da GA testinin sadece şiddetli pasif transfer yetmezliğinin belirlenmesinde oldukça duyarlı bir test olduğunu belirtirken, Hopkins ve ark. (1984) GA testinin koruyucu IgG seviyelerinin (>1600 mg/dl) belirlenmesinde tartışmalı olduğunu ifade etmektedir. Bu çalışmada, kontrol grubunu oluşturan buzağların yeterli pasif kolostral transfere sahip olduğu (IgG seviyeleri 3255 mg/dl) ve GA testinin pozitif sonuç verdiği; deneme grubunu oluşturan buzağların yetersiz pasif kolostral transfere sahip olduğu ve IgG seviyeleri 705 mg/dl olanlarda GA testinin jelöz, IgG seviyeleri 375 mg/dl olanlarda ise GA testinin negatif sonuç verdiği gözlenmiştir. Buna göre bu çalışma da IgG seviyeleri ile GA arasında ters ilişki olduğu şeklindeki görüşleri (Sandholm, 1974; Hopkins ve ark., 1984; Saikku ve ark., 1989) destekler niteliktedir. Sandholm (1974) glutaraldehid indeksi ile plazmadaki α -globulin miktarı arasında ters ilişki olduğunu ve önemli derecedeki hiperglobunemide pıhtılaşmanın 1 dakikadan daha az sürede oluştuğunu vurgulamaktadır. Bu çalışmada da IgG seviyesi en yüksek serumlarda pıhtılaşma en kısa sürede olmuştur.

Sonuç olarak; neonatal dönem ishal vakalarının yetersiz pasif kolostral transferle ilgili olduğu; negatif ve jelöz GA test sonucu veren bu-

zağların yetersiz pasif kolostral transfere; pozitif GA test sonucu veren buzağların ise yeterli pasif kolostral transfere sahip olduğu söylenebilir.

Kaynaklar

- Aldridge, B., Garry, F., Adams, R. (1992). Role of Colostral Transfer in Neonatal Calf Management Failure of Acquisition of Passive Immunity. *The Compendium*, 14, 2, 265-270.
- Allen, SD., White, RD. (1985) Dairy Calf Diarrhea. *Agri-practice*, 6, 4, 23-31.
- Başoğlu, A., Çamkerten, I., Sevinç, M. (1999). Serum Immunoglobulin Concentrations in Diarrheic Calves and Their Measurement by Single Radial Immunodiffusion. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 54, 1, 9-10.
- Beatson, SA., Hilbert, BJ., Mills, JN. (1985). The Use of the Gluteraldehyde Cougulation Test for Detection of Hypogammaglobulineamia in Neonatal Foals. *Aust. Vet.J.*, 62, 279-281.
- Blom, J. (1982). The Relationship between Serum Immunoglobulin Values and Incidence of Respiratory Disease and Enteritis in Calves. *Nord. Vet. Med.*, 34, 276-284.
- Blood, DC. and Radostits, OM. (1989). *Veterinary Medicine*, 7th Ed. Bailliere Tindall, London.
- Erganiş, O., Ateş, M., Çorlu, M., Kaya, O., İstanbulluoğlu, E. (1988). İshalli Buzağlardan Elde edilen E.coli Suşlarından K99 Fimbria'nın Varlığı Üzerine Bir Çalışma. *DOĞA TU. Vet. ve Hay. D.*, 12, 185-190.
- Hall, GA., Reynolds, DJ., Parsons, KR., Bland, AP., Morgan, JH. (1988). Pathology of Calves with Diarrhea in Southern Britain. *Research in Veterinary Science*, 45, 240-250.
- Heath, SE. (1992). Neonatal Diarrhea in Calves: Investigation of Herd Management Practices. *The Compendium*, 14, 3, 385-393.
- Hopkins, FM., Dean, DF., Greene, W. (1984). Failure of Passive Transfer in Calves Comparasion of Field Diagnosis methods. *Modern Veterinary Practice*, August, 625-628.
- Muggli, NE., Hohenbaken, WD., Cundiff, LV., Velle, KW. (1984). Inheritance of Maternal Immunoglobulin G₁ concentration by the Bovine Neonate. *Journal of Animal Science*, 59, 1, 39-48.
- Perino, LJ. (1997). A Guide to Colostrum Management in Beef Cows and Calves. *Veterinary Medicine*, January, 75-82.
- Perino, LJ., Sutherland, RL., Woollen, NE. (1993). Serum glutamyletransferase Activity and Pretein Concentration at Birth and after Suckling in calves with Adequate and Inadequate Passive Transfer of ImmunoglobulinG. *Am. J. Vet. Res.*, 54, 1, 56-59.
- Petrie, L., Acres, SD., McCartney DA. (1984). The Yield of Colostrum and Colostral Gammaglobulin in Beef Cows

and the Absorption of Colostral Gammaglobulins by Beef Calves. The Canadian Veterinary Journal, 25, 7, 273-279.

Saikku, A., Koskinen, E., Sandholm, M. (1989). Detection of Hypogammaglobunemia in Neonatal Foals using the Gluteraldehyde Coagulation Test. J. Vet. Med. B, 36,168-174

Sandholm, M. (1974). A Preliminary Report of A Rapid Method for the Demonstration of Abnormal Gammaglobulin Levels in Bowin Whole Blood. Res. Vet. Sci., 17, 32-35.

Selim, SA., Smith, BP., Cullar, JS., Blanchard, P., Farver, TB., Hoffman, R., Dilling, G., Roden, L., Wigenburg, B. (1995). Serum Immunoglobulins in Calves: Their Ef-

fects and Two Easy, Reliable means of Measurement. Veterinary Medicine, April, 387-404.

Turgut, K. ve Ok, M. (1997). Veteriner Gastroenteroloji. Bahçivanlar, KONYA

Turgut, K., Başoğlu, A., Sevinç, M., Şen, İ., Yıldız, M., Kaleli, S. (1998). Plasma Transfusion in Calves with Failure of Passive Colostral Transfer. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 22,123-130.

Wittum, TE., Perino, LO. (1995). Passive Immun Status at Postpartum Hour 24 and Long-term Health and Performance of Calves. Am. J. Vet. Res., 56, 9, 1149-1154.