

Buzağılarda Pasif Transfer Yetmezliğinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Uğur AYDOĞDU^{1*}, İsmail ŞEN², Hasan GÜZELBEKTEŞ^{2,3}

¹Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları AD, 10145, Balıkesir, TÜRKİYE

²Kırgızistan Türkiye Manas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları AD, 720044, Bişkek, KIRGIZİSTAN,

³Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları AD, 42003, Konya, TÜRKİYE

*e-mail: ugur.aydogdu@balikesir.edu.tr

ÖZET

Buzağılara IgG'nin transferi olarak adlandırılan pasif immune transfer ancak maternal kolostrum alınmasıyla gerçekleşir. Yetersiz kolostral IgG'nin alımı ya da absorpsiyonu pasif transfer yetmezliğine neden olmaktadır. Buzağılarda pasif transfer yetmezliğin belirlenmesi için çeşitli analiz metodları bulunmaktadır. Bu derlemede buzağılarda pasif transfer yetmezliğin tespitinde kullanılan yöntemler ve bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları anlatılmıştır.

MAKALE BİLGİSİ

Derleme

Geliş : 06.10.2019

Kabul: 13.12.2019

Anahtar kelimeler:

Buzağı, pasif transfer yetmezlik, kolostrum.

Methods Used in Determining of Passive Transfer Failure in Calves

ABSTRACT

Passive immune transfer, called IgG transfer to calves, occurs only by taking maternal colostrum. Inadequate colostrum IgG uptake or absorption leads to passive transfer failure. Various analysis methods are available for the determination of passive transfer failure in calves. In this review, the methods used to detect passive transfer failure in calves and their advantages and disadvantages are explained.

ARTICLE INFO

Review

Received: 06.10.2019

Accepted: 13.12.2019

Keywords:

Calf, failure of passive transfer, colostrum.

GİRİŞ

Buzağılara immunoglobulin G (IgG)'nin pasif transferi yaşamlarının ilk saatlerinde sağlanan maternal kolostrum ile olmaktadır. Yeterli kolostral IgG'yi almayan veya absorbe etmeyen buzağılarda pasif transfer yetmezlik (PTY) ortaya çıkmaktadır (Vogels ve ark. 2013). Sütçü buzağılarda PTY önemli bir problemdir (Fecteau ve ark. 2013). PTY oranlarının izlenmesi, sürü yönetimi eksikliklerini ortaya çıkararak buzağılarla ilişkili hastalık riskini ve üreticiler için ekonomik etkiyi azaltmak amacıyla önemli olan zamanında tespit ve tıbbi müdahaleleri sağlayabilir (Tyler ve ark. 1999a; Faber ve ark. 2005; Godden 2008; Furman-Fratczak ve ark. 2011).

Pasif Transfer Yetmezlik

Geleneksel olarak doğum sonrası 24 ve 48.ci saatlerde kan IgG seviyesi 1000 mg/dl'den az olan buzağılar PTY olarak değerlendirilmektedir (Godden 2008). Farklı bir yaklaşımda ise (WittuGüngör ve ark. 2004; Aydogdu ve Guzelbektes 2018), IgG seviyesi <800 mg/dl olan buzağılar pasif transfer yetmezlik, 801-1600 mg/dl ise kısmi pasif transfer ve >1600 mg/dl ise yeterli pasif transfer olarak tanımlanmaktadır. Chigerwe ve ark. (2015) ise sütçü buzağılarda >2001–2500 mg/dl serum IgG konsantrasyonlarının yeterli pasif kolostral immünite transferini göstermek için optimum olduğunu bildirmişlerdir. Pasif transfer yetmezlik hastalık olmayıp, buzağıları hastalık gelişimine predispose kılan bir durumdur (Weaver ve ark. 2000).

Buzağlarda PTY doğum sonrası 1-12. haftalarda mortalite riskini arttırmakta, canlı ağırlık artışı oranlarında azalma ve 1. laktasyonunda süt veriminde azalma ile kesim oranlarında artış gibi riskler taşımaktadır (Robison ve ark. 1988; Wittum ve Perino 1995; Dewell ve ark. 2006).

Pasif Transfer Yetmezliğin Belirlenmesi

Buzağlarda PTY'nin belirlenmesi amacıyla IgG konsantrasyonunu direkt veya indirekt olarak ölçmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Direkt yöntemler arasında radyal immüno difüzyon (RID) analizi (Ameri ve Wilkerson 2008), otomatik türbidimetrik immünoassay (Etzel ve ark. 1997; Alley ve ark. 2012), Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) (Aydogdu ve Guzelbektes 2018) ve kızılötesi spektroskopisi (Elsobaby ve ark. 2014, 2016) bulunmaktadır. İndirekt yöntemler arasında sodyum sülfid türbidite testi, çinko sülfat türbidite testi, glutaraldehit koagülasyon testi, serum/plazma γ -glutamil transferaz aktivitesi, serum total protein seviyesi, serum globulin seviyesi, hızlı test kitleri ve Brix refraktometre analizi bulunur (Tyler ve ark. 1996a; Parish ve ark. 1997; Weaver ve ark. 2000; Mcvicker ve ark. 2002; Deelen ve ark. 2014; Cuttance ve ark. 2019). Direkt IgG seviyesinin tespiti için kullanılan pek çok yöntemin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bu testlerin maliyeti yüksektir, laboratuvar temelli testlerdir, uzun inkübasyon süresi gerektirebilir, sonuçların okunması ve yorumlanması için özel teknik ekipman ve personel ihtiyacı vardır ve pek çoğu kısa bir raf ömrüne sahip reaktifler kullanır. Bu yüzden, birçok çalışma, IgG konsantrasyonlarının ölçülmesi için alternatif indirekt yöntemlere, yani daha kolay, hızlı ve daha ucuz yöntemler kullanılarak IgG konsantrasyonları ile güçlü bir şekilde ilişkili olan analitlerin ölçülmesine yönelmiştir (Godden 2008; Güngör ve ark. 2005; Cuttance ve ark. 2019).

Direkt Metodlar

Radyal immüno difüzyon

Radyal immüno difüzyon (RID), serumda IgG konsantrasyonlarını ölçmek için altın standart test olarak kabul edilir. Bu nedenle buzağlarda pasif transfer yetmezliğin tespiti için güvenilir bir metod olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Calloway ve ark. 2002; Chigerwe ve ark. 2005; Ameri ve Wilkerson 2008). Bununla birlikte, uzun bir difüzyon süresi (18-24 saat) gerektirir ve çok sayıda örneğin analizi için pahalı ve zahmetli olmasının yanı sıra özel ekipmana da ihtiyaç vardır (Dawes ve ark. 2002; Constable ve ark. 2018). Ek olarak, RID için raf ömrü kısıtlı olan reaktifler kullanılır ve genellikle dolaylı test yöntemlerinden daha pahalıdır (Riley ve ark. 2007; Biemann ve ark. 2010). Aynı numuneden RID testinin tekrarlı ölçümlerinde tutarsızlık olduğu da bildirilmiştir (Ameri ve Wilkerson 2008).

Türbidimetrik İmmünoassay

IgG'nin direkt ölçümünün bir alternatifi türbidimetrik immünoassaydır, bu test yöntemiyle IgG seviyesi 10 dakikada ölçülebilmekte ve bu testin manuel RID testine alternatif olabileceğini belirtmektedirler (Etzel ve ark. 1997; Dawes ve ark. 2002). Bu test RID'den daha ucuzdur, ancak genellikle laboratuvar tabanlı ve nispeten pahalıdır. Anti-bovine IgG'sini kullanarak daha ucuz bir otomatik türbidimetrik immünoassay Etzel ve ark. (1997) tarafından geliştirilmiştir; bu, numunelerin hala bir laboratuvarda işlenmesi gerekmesine rağmen, 15 dakika içinde IgG konsantrasyonlarının doğru ölçümlerini sağlamıştır. Bu immünojenik testin buzağlarda (Dawes ve ark. 2002) ve taylarda (Davis ve ark. 2005) iyi performans gösterdiği gösterilmiştir. Bu test başlangıçta klinik bir laboratuvar ortamında çalıştırılmak üzere tasarlanmış ve rutin olarak bir çiftlikte kullanılmasını engelleyecek ekipman gerektirmiştir. Bunun yanında daha yakın bir zamanda (Alley ve ark. 2012) ise türbidimetrik immünojenik test taşınabilir bir analiz cihazında kullanılmak üzere uyarlanmıştır. Alley ve ark. (2012) yaptıkları bu çalışmada, buzağlardaki serum IgG konsantrasyonları radyal immüno difüzyonla ölçüldüğünde 460 ila 3.640 mg/dL (ortalama 1.515 ± 71), türbidimetrik immünoassay ile ölçüldüğünde ise 402 ila 3.586 mg/dL (ortalama 1.473 ± 70) arasında değiştiğini bildirmiştir.

Enzyme-linked immunosorbent assay

ELISA metodu buzağlarda serum Ig seviyesinin belirlenmesinde en az RID kadar güvenli olarak kabul edilir (Aydogdu ve Guzelbektes 2018; Cuttance ve ark. 2019). Lee ve ark. (2008) ELISA'nın, tüm cut-off değerlerinde yüksek tanısal performans sergilediğini ve single radial immüno difüzyon (SRID) testi ile iyi bir uyum sağladığını belirlemişlerdir. IgG konsantrasyonunu doğrudan ölçebilen ELISA, maliyet, zaman ve aynı anda çok sayıda numuneyi ölçme kapasitesi açısından RID'ye göre avantajlara sahiptir, bu da sürülerde PTY'nin doğrulayıcı teşhisi için faydalı olabilir (Weaver ve ark 2000; Lee ve ark. 2008; Cuttance ve ark. 2019). Bu avantajlarına rağmen, uygulanabilmesi için laboratuvar donanımına gerek duyulması, ekonomik olmaması ve saha şartlarında uygulama alanının bulunmaması gibi dezavantajları da vardır (Güngör ve Özyurtlu 2005). Sığırlar için IgG kantitatif ELISA protokolünün analiz süresi SRID'ninkinden 4.5 kat daha azdır. Plaka başına çok sayıda test ve test başına düşük maliyet ELISA'yı, tek bir buzağı yerine sürülerde serum IgG konsantrasyonunu analiz etmek için uygun kılar (Lee ve ark. 2008).

Kızılötesi spektroskopisi

Fourier-dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, beşeri ve veteriner hekimlikte biyolojik örneklerin nicel ve nitel karakterizasyonu için güçlü bir teşhis aracı olarak ortaya çıkmıştır (Vijarnsorn ve ark. 2006; Benezeddine-Boussaidi ve ark. 2009; Burns ve ark. 2014; Elsohaby ve ark. 2014, 2016). Bu tekniğin temeli kızılötesi ışığın incelenen madde tarafından soğurulmasına dayanır (Burns ve ark. 2014; Talari ve ark. 2016). Bu teknik kullanarak ölçüm yapılacağına numunenin fiziksel olarak ayrılmasına gerek yoktur ve reaktif gerekmez, bu nedenle test prosedürü nispeten hızlı ve ucuzdur (Riley ve ark. 2007). FTIR spektroskopik analiz ile atlar ve alpakistanın serum veya plazma IgG düzeyleri belirlenmiştir (Riley ve ark. 2007; Burns ve ark. 2014; Hou ve ark. 2014). Elsohaby ve ark. (2014) da FTIR spektroskopisini sığırlarda IgG konsantrasyonlarının ölçümü için değerlendirmiş ve sığır serumunda IgG'nin hızlı bir şekilde ölçülmesi için uygun ve mükemmel doğruluk, özgüllük ve hassasiyetle uygulanabilir bir yaklaşım olduğunu bildirmişlerdir.

İndirekt Metodlar

Sodyum sülfat turbidite testi

Sodyum sülfat turbidite testi %14, %16 ve % 18'lik sodyum sülfat test çözeltileri kullanılarak yapılan 3 aşamalı yarı kantitatif bir testtir. Her bir çözelti, ölçülen son nokta olan bulanıklık ile sonuçlanan yüksek moleküler ağırlıklı proteinlerin özellikle de Ig'in çökmesine neden olur. Reaktif veya tuz çözeltisinin konsantrasyonlarının artırılması, yüksek moleküler ağırlıklı proteinlerin daha düşük konsantrasyonlarına bulanıklık oluşturacaktır. Sonuç olarak, %14'lük bir test çözeltisi kullanan bulanıklık, %16'lık bir test çözeltisi kullanan bulanıklıktan daha yüksek serum immünoglobulin konsantrasyonlarının bir göstergesidir. Benzer şekilde, %16 test çözeltisi kullanan bulanıklık, %18 test çözeltisi kullanan bulanıklık oranından daha yüksek serum immünoglobulin konsantrasyonlarının göstergesidir. Ne yazık ki, %14 ve %16 olan düşük 2 dilüsyonları kullanan test uç noktası, hatalı yüksek serum IgG konsantrasyonlarına karşılık gelir. %14 veya %16 test çözeltisi konsantrasyonunun kullanılması, yeterli düzeyde serum immünoglobulin konsantrasyonuna sahip çok sayıda buzağıda PTY'e sahip gibi yanlış sınıflandırma eğiliminde olacaktır. Bu yüzden optimum diagnostik yararın % 18'lik test solüsyonu ile sağlanabileceği, eğer %18'lik solüsyonda bulanıklık oluşmazsa PTY denilebileceği belirtilmektedir (Weaver ve ark. 2000; Constable ve ark. 2018). Tüm örneklerde bulanıklık varsa serum IgG seviyesinin 1500 mg/dl'den fazla olduğunu, %16 ve %18'lik çözeltilerde bulanıklık olması IgG seviyesinin 500-1500 mg/dl arasında olduğunu sadece % 18'lik çözeltide bulanıklık oluşması IgG seviyesinin 500 mg/dl civarında olduğunu göstermektedir (Güngör ve Özyurtlu 2005).

Çinko sülfat turbidite testi

Çinko sülfat turbidite testi, buzağılarda immünoglobulin (Ig) düzeyinin indirekt olarak belirlenmesinde kullanılan semikantitatif bir testtir ve sodyum sülfat bulanıklık testi ile aynı temel prensipte çalışır. Serumda çinko sülfat eklenmesi, globulinlerin çökmesine neden olur ve bu da globulinlerin konsantrasyonu ile orantılı olan bulanıklık ile sonuçlanır. Bu reaksiyon serumdaki IgG konsantrasyonlarının tahminine ve böylece PTY'nin teşhisine adapte edilmiştir. Bulanıklık, bir kolorimetre kullanılarak kantitatif olarak ölçülebilir veya numuneler subjektif olarak değerlendirilebilir ve eğer bulanıklık gazete kağıdının numune tüpünden okunamayacağı bir durumda ise, yeterli IgG içerdiği kabul edilir (Tyler ve ark. 1996; Cuttance ve ark. 2019). Çözeltinin bulanıklığı 0'dan (çökelti yok) ile 3'e (yoğun çökelti) kadar subjektif olarak derecelendirilebilir. Bu değerlendirme yapılırken aynı kişinin değerlendirmeyi yapması güvenilirliği arttıracaktır. Bulanıklığın derecesi ile buzağının pasif transfer durumu arasında pozitif bir ilişki vardır (Güngör ve Özyurtlu 2005). Test performansı, test çözeltisinin konsantrasyonunu artırarak geliştirilebilmektedir. Test çözeltisi çinko sülfat konsantrasyonunun 200 mg/L'den 350 mg/L'ye yükseltilmesi, sensitivitede aşırı miktarda bir azalmaya neden olurken, belirli bir spesifikite ve pozitif prediktif değerde önemli ölçüde geliştirilebileceği gösterilmiştir. Testi standardize etmek amacıyla Hogan ve ark. (2015) teste kullanılan çinko sülfat çözeltisinin konsantrasyonunun artırılmasının, sensitiviteyi düşürmeden spesifikiteyi arttırdığını göstermişlerdir. Uygun cut-off değerinin incelenmesinde ise daha düşük bir kesim noktasının performansı arttıracığını bildirmişlerdir. Bu testin diğer önemli kısıtlamaları hemoliz etkisi (Ig seviyesinde artışa neden olur) ve çözeltilerin atmosferik karbondioksit maruz kaldıklarında kararlı olmadıklarıdır. Düşük bir CO2 atmosferinde depolanmayan eski çözeltiler, düşük pasif IgG konsantrasyonlarının yeterli pasif transfere sahip olduğu gibi yanlış sınıflandırılmasına neden olabilir (Weaver ve ark. 2000). Çinko sülfat fibrinojeni de presipite ettiği için testte plazma kullanılmaz. Dehidrasyon test sonuçlarını etkileyerek Ig ölçümlerinde yanlış yükselmelere neden olabilmektedir (Turgut 2000). Çinko sülfat turbidite testinin ELISA, GGT ve globulin seviyesinden daha az başarılı olduğu bildirilmiştir (Hogan ve ark. 2015).

Glutaraldehid koagülasyon testi

Glutaraldehid koagülasyon testi (GCT) serumdaki gamaglobulin konsantrasyonunu belirlemek için saha şartlarında kullanılacak ucuz, pratik ve kolay yarı kantitatif bir testtir (Turgut 2000; Güngör ve Özyurtlu 2005). Test, proteinler üzerindeki nötr amino gruplarının, görünür bir pıhtı oluşturan aldehit grupları ile çapraz bağlar oluşturması gerçeğinden yararlanır. Düşük konsantrasyonda glutaraldehid albumin ile reaksiyona girmez. Bununla birlikte, glutaraldehid fibrinojen ile çapraz bağlar oluşturur. Bundan dolayı buzağılardaki PTY'in tespiti için serum kullanılması gerektiği bildirilmiştir (Weaver

ve ark. 2000; Güngör ve Özyurtlu 2005). Buzağılarda pasif transfer yetmezlik tespiti için % 10'luk glutaraldehid solüsyonu kullanılır. Test 1 cam tüp içerisinde 0.5 ml serum örneğinin 50 ul % 10'luk glutaraldehid solüsyonu karıştırılmasıyla yapılır ve sonrasında 1 saat süresince oda ısısında pıhtı oluşumu yönünden belirli aralıklarla incelenir. Eğer tüp yan çevrildiğinde karışım test tüpünün tabanına yapışacak kadar sağlam ise pozitif (>400 mg/dL IgG), halen akışkan ise negative (<400 mg/dL) olarak kabul edilir (Carstairs-Grant ve ark. 1988; Turgut 2000; Güngör ve Özyurtlu 2005). Şen ve ark. (2000) serum IgG konsantrasyonu 2400-5800 mg/dl olan buzağılarda pıhtılaşmanın 1-5 dakikada, 1600-1700 mg/dl olan buzağılarda ise 6-7 dakikada, 580-800 mg/dl arasındakilerde 12-30 dakikada yarı pıhtılaşma oluşurken, serum IgG konsantrasyonu <500 mg/dl olan buzağılarda pıhtılaşma oluşmadığını belirtmişlerdir. Son çalışmalarda da yenidoğan buzağı (Topal ve ark. 2018) ve taylarda (Kasap ve ark. 2019) serum IgG seviyesiyle glutaraldehid koagülasyon testi arasında negative korelasyonunun bulunduğu ve pasif transfer durumunun değerlendirilmesinde güvenilir şekilde kullanılabileceğini gösterilmiştir.

Serum/Plazma gama glutamil transferaz aktivitesi

Gama glutamil transferaz (GGT) kolostrumda yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır (Weaver ve ark. 2000; Aydogdu ve Guzelbektes 2018). Kolostrum tüketiminden sonra buzağuların serum/plazma GGT aktivitesinde çok hızlı bir yükseliş ve takip eden 24. saatte keskin bir düşüş görüldüğü, sonraki iki ayda ise dereceli bir azalma meydana geldiği, bu nedenle yeni doğan buzağuların GGT aktivitesindeki artışın kolostrum tüketiminin bir göstergesi olduğu belirtilmektedir (Weaver ve ark. 2000; Gökçe ve Erdoğan 2013; Aydogdu ve Guzelbektes 2018). Yöntemin en büyük yararı serumda GGT seviyelerinin ölçümünün hidrasyon durumundan etkilenmemesidir (Parish ve ark. 1997). Kolostrum tüketmiş buzağılarda serum GGT aktivitesinin yetişkin sığırlardan 60-160 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (Güngör ve ark. 2004). Aydogdu ve Guzelbektes (2018) düve buzağularında serum GGT aktivitesinin yetişkin sığırlardan yaklaşık 37 kat, 2 ve üzerinde doğum yapan ineklerin buzağularında ise yaklaşık 55 kat daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Kolostrum tüketen buzağuların serum GGT aktivitesi ile serum IgG seviyeleri arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir (Perino ve ark. 1993; Güngör ve ark. 2004; Aydogdu ve Guzelbektes 2018; Topal ve ark. 2018). Perino ve ark. (1993), GGT aktivitesi için önerilen cut-off değerinin sağlıklı 1-7 günlük buzağılarda 200 IU/L olduğunu bildirmişlerdir. Parish ve ark. (1997), buzağılarda bir günlük, dört günlük ve bir haftalık serum GGT aktivitelerinin sırasıyla >200 IU/L, > 100IU/L, >75 IU/L olduğunu ve serum GGT aktivitesi < 50 IU/L olan buzağuların PTY'li olduğunu belirtmişlerdir. Cuttance ve ark. (2017) GGT aktivitesi için test özelliklerinin buzağı yaşına bağlı olarak büyük ölçüde değiştiğini bildirmiş ve <5 günlük yaştaki buzağular için optimal GGT aktivitesinin cut-off değeri 250 IU/L olduğunda duyarlılığın 0.87 ve özgüllüğün 0.96 olduğunu, 5-8 günlük yaştaki buzağular için ise 210 IU/L optimal cut-off değeri kullanılarak duyarlılığın 0.87 ve özgüllüğün 0.88 olduğunu bildirmişlerdir. Hogan ve ark. (2015), <4 günlük buzağılarda 100 IU/L GGT aktivitesini cut-off değeri olarak kullanıldığında PTY'in öngörülmesi için çok yüksek hassasiyet ve özgüllüğe sahip olduğunu belirtmişlerdir. Aydogdu ve Guzelbektes (2018)'de PTY tespiti için GGT aktivitesinin buzağı yaşının ilerlemesiyle bireysel değişkenlikler gösterebileceğini ve bu nedenle GGT aktivitesi için en ideal günün 2. gün olduğunu bildirmişlerdir.

Serum total protein seviyesi

Serum IgG seviyesi tahmini için yapılabilecek bir test de serum total protein (TP) seviyesinin ölçümüdür. Kolostral immüoglobulinlerin bağırsaklardan emilmesi neticesinde kandaki TP seviyeleri artacağından bu test immüoglobulin konsantrasyonlarının göstergesi olarak kullanılabilir. Serum protein seviyeleri, plazma protein seviyelerine tercih edilir, çünkü plazma immüoglobülin seviyeleri ile daha zayıf bir korelasyon sağlamaktadır (Naylor ve Kronfield 1977; Hogan ve ark. 2015). Buzağuların serum TP düzeyleri laboratuvar ortamında otoanalizörler kullanılarak yapılabilmektedir (Aydogdu ve Guzelbektes 2018). Ancak TP'nin çiftlikte ölçümü refraktometre ile de mümkündür, çünkü serumun özgül ağırlığı serum TP konsantrasyonunun göstergesidir. İmmüoglobulinler yenidoğan buzağı serumunda proteinin büyük bir bölümünü oluşturduğundan ve buzağı serumunun immüoglobulin olmayan protein konsantrasyonu nispeten sabit olduğundan, refraktometre serum immüoglobulin konsantrasyonunun yakın bir gösterimini sağlar. Genellikle ilk zamanlarda serum TP seviyesini tespit etmek için sıcaklık dengeleyici bir refraktometre tercih edilirken (Naylor ve Kronfield 1977; Tyler ve ark. 1999a), Calloway ve ark. (2002) benzer hassasiyet ve özelliklere sahip sıcaklık dengeleyici olan ve olmayan refraktometre kullanarak ölçüm yaptıklarında benzer sonuçlar alındığını ve sıcaklık sabitleyici olmayan bir refraktometre ile oda ısısında da serum TP seviyelerinin tespit edilebileceğini ifade etmişlerdir. ELISA ve RID kullanılarak ölçülen serum IgG konsantrasyonu ile serum total protein düzeyi arasında güçlü korelasyon gözlenmektedir (Calloway ve ark. 2002; Güngör ve ark. 2004; Godden 2008; Aydogdu ve Guzelbektes 2018). Çalışmalarda buzağılardaki 1000 mg/dL serum IgG seviyesinin 5.2 g/dL serum total proteinine eşit olduğu kabul edilmiştir (Tyler ve ark. 1999b; Cuttance ve ark. 2017). Normal hidrasyonlu (dehidre olmayan) yeni doğan buzağılarda serum total protein konsantrasyonunun >6 g/dL olmasının buzağının yeterli pasif transfere sahip olduğu, serum total protein konsantrasyonunun <5 g/dL olmasının ise PTY olarak değerlendirilebileceği belirtilmektedir (Turgut 2000). Refraktometrenin performansı cut-off seçimine bağlıdır. 5.5 g/dL cut-off ile karşılaştırıldığında 5.2 g/dL'lik cut-off değerinde daha spesifik ancak daha az sensitivdir. Bu, PTY'ye karar vermede alt sınırın kullanılabileceği anlamına gelir (örneğin, PTY olduğu yanlış bir şekilde teşhis edilebilecek bir buzağıdan kaçınmaya çalışmak gibi). Buna karşılık, PTY

(daha düşük yanlış-negatif oran) olmadığına karar verirken yüksek cut-off değeri kullanılabilir (Buczinski ve ark. 2018). Portatif refraktometre ile serum total protein düzeyinin (toplam katı maddelerinin) ölçümü, üreticilerin kolostrum besleme programını izleyebilecekleri uygun, basit, hızlı ve ucuz bir çiftlik aracı sunar. Serum TP sonuçları bireysel buzağuların periyodik olarak yanlış sınıflandırılmasına neden olduğundan, serum TP sonuçlarının bireysel bir hayvan teşhis aracı olarak kullanılması önerilmemektedir. Çünkü çoğu araştırmacı bu testin hasta, dehidre veya ölmek üzere olan buzağularda kullanım için uygun olmadığını öne sürmektedir (Garry ve ark. 1993; Perino ve ark. 1993; Tyler ve ark. 1999a). Ayrıca, albümin seviyelerindeki olası değişiklikler hakkında endişe dile getirilmiştir (Pfeiffer ve ark. 1977). Ancak, sonuçlar grup veya sürü düzeyinde yorumlandığında, serum TP sonuçları PTY'ye sahip olan buzağuların oranını doğru olarak yansıtır, böylece kolostrum yönetim programının başarılı olup olmadığını izlemek için çiftlikte kullanılan bir araç olabilir. Serum örneklerinin 24 saat ile 7 gün arasında klinik olarak normal en az 12 buzağıdan alınması tavsiye edilir (McGuirk ve Collins 2004; Godden 2008).

Serum globulin seviyesi

Yeni doğan buzağularda serum globulin konsantrasyonunun kolostrum tüketimine bağlı olarak arttığı ve serum globulin konsantrasyonu ile IgG seviyeleri arasında güçlü korelasyon olduğu rapor edilmiştir (Rocha ve ark. 2012). Aydogdu ve Guzelbektes (2018) kolostrum tüketimi sonrası serum globülin konsantrasyonunun önemli oranda arttığını ve serum IgG seviyesi ile güçlü ($r^2 >0.8$) korelasyon gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada serum globulin ile IgG korelasyonunun seviyesi TP ve GGT'ye göre daha iyi seviyede korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar globulin seviyelerinin belirlenmesiyle buzağularda pasif immunitenin değerlendirilebileceğini göstermiştir. Hogan ve ark. (2015), serum globulin düzeylerinin, PTY'yi tespit etmede ELISA ve GGT seviyelerine yakın bir performans gösterdiğini bildirmiştir. Buzağılardaki globulin seviyesi, Ig ve diğer globulinlerin kolostrumdan yenidoğanın dolaşımına emildiğinde, TP'ye benzer şekilde fakat albümin seviyelerinde herhangi bir değişiklik olmadan, artış gösterir. PTY'nin bir göstergesi olarak globulin seviyeleri literatürde TP kadar yaygın olarak tartışılmamaktadır (Naylor ve Kronfield 1977; Tyler ve ark. 1999a) Bunun nedeni, muhtemelen TP'nin çiftlikte refraktometre ile kolayca belirlenebilirken globülin seviyelerinin ise belirlenememesidir. Bununla birlikte, laboratuvar ortamında bir numunede globulin seviyelerinin analizi, TP seviyelerine göre daha zor değildir (Hogan ve ark. 2015). Buzağuların serum globulin düzeyleri otoanalizör kullanılarak kolayca tespit edilebilmektedir (Aydogdu ve Guzelbektes 2018).

Hızlı test kiti

Yanal akış immünoassay (Lateral-flow Immunoassay), bildirilen yüksek hassasiyet ve özgüllük ile doğrudan serum veya plazmadaki IgG'yi ölçebilen testtir. Bu test çiftlikte pasif transfer yetmezliği belirlemek için kullanılabilir. Test çiftliklerde buzağının yanında gerçekleştirilebilmekte ve sonuçlar 20 dakika içinde görüntülenebilmektedir. Yanal akış immünoassay, pasif transferi belirleme yöntemi olarak bir (1000 mg/dl'den daha büyük IgG konsantrasyonu) veya iki (1000 mg/dl'den daha düşük IgG konsantrasyonu) kırmızı çizgilerin görsel bir sonucudur (Godden 2008; Constable ve ark. 2018). 204 buzağı kullanan bir çalışmada, yanal akış immünolojik testi, RID ile belirlenen pasif transfer sonuçları ile karşılaştırıldığında % 95 kesinliğe, % 99 duyarlılığa ve % 89 özgüllüğe sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca yanal akış immünoassay, refraktometre veya çinko sülfat turbidite testlerine göre daha doğru olduğu da gösterilmiştir (McVicker ve ark. 2002). İmmünoassay'ın bir sınırlaması, sadece pozitif veya negatif bir sonuç vermesidir, ancak gerçek serum IgG konsantrasyonunun bir tahminini vermemesidir (Godden 2008).

Brix refraktometre

Son yıllarda buzağılardaki pasif transfer durumunu değerlendirmek amacıyla Brix refraktometresi pratik bir araç olarak kullanılmaya başlanmıştır. Dijital ve optik olabilen bu cihazlar Brix ölçeğinde sıvıların kırılma indeksini ölçer. Serumun kırılma indeksi, doğrudan TP (g/L) ölçümü olarak veya Brix (% 1 Brix, 100 g çözelti içindeki 1 g şeker çözeltisinin kırılma indeksine eşdeğerdir) olarak ölçülebilir ve ünite seçimi basitçe kullanılan refraktometreye bağlıdır, çünkü aynı refraktometrede ölçülen Brix ve TP arasında sistematik bir fark yoktur. Serumun kırılma indeksi, immüoglobulinlerin konsantrasyonunun bir göstergesi olan protein konsantrasyonunu tahmin eder. Çalışmalarda Brix refraktometre ölçümlerinin serum IgG seviyesi ve TP düzeyleriyle iyi korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Deelen ve ark. 2014; Thornhill ve ark. 2015; Cuttance ve ark. 2017; Buczinski ve ark. 2018; Topal ve ark. 2018). Araştırmalarda buzağılarda PTY tespiti için farklı cut-off değerleri bildirilmiştir. Brix refraktometre kullanılarak PTY tespiti için cut off olarak Morrill ve ark. (2013) %7.8 öngörürken, Deelen ve ark. (2014) ise %8.4 Brix'i FPT'nin göstergesi olarak tanımlamıştır. Thornhill ve ark. (2015) buzağılarda yetersiz immüoglobülinlere sahip olduğunu göstermek için Brix skorlarının <%10 olduğunun varsayılabilirliğini göstermiştir. Son bir çalışmada da Topal ve ark. (2018) buzağılarda pasif transfer durumunun değerlendirilmesi için brix skorlamasının cut-off değerinin %9 olduğunu belirtmişlerdir. Thornhill ve ark. (2015), optik ve dijital brix refraktometrelerin benzer performans gösterdiklerini bildirmişlerdir. Optik cihaz dijital cihazın maliyetinin yalnızca bir kısmını oluşturur ve ayrıca kullanımı kolaydır. Brix refraktometrenin bir avantajı santrifüjlenmiş ve santrifüj edilmemiş buzağı serumundan elde edilen sonuçların

birbirine çok yakın olması nedeniyle (Wallace ve ark. 2006) cihazların güvenilir sonuçlar vermesi için kanın santrifüjlenmesi gerekmediğini gösterir.

Sonuç olarak, buzağılarda PTY'nin belirlenmesi için en ideal yaklaşımların direkt IgG düzeyini ölçen testler olduğu bilirse de, bu testlerin bazı dezavantajları (yüksek maliyet, kısa raf ömrüne sahip reaktif kullanımı, laboratuvar şartları ve teknik ekipman ve yetkili sağlanması gibi) nedeniyle dolaylı yoldan IgG tahmini sağlayabilen optik TP ve Brix refraktometrenin basit ucuz, kolay ve çiftlikte başarılı bir şekilde uygulanabilmesi nedeniyle güvenilir bir araç olduğu ifade edilebilir.

KAYNAKLAR

- Alley ML, Haines DM, Smith GW (2012). Evaluation of serum immunoglobulin G concentrations using an automated turbidimetric immunoassay in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 95 (8): 4596-4599.
- Ameri M, Wilkerson MJ (2008). Comparison of two commercial radial immunodiffusion assays for detection of bovine immunoglobulin G in newborn calves. *J. Vet. Diagn. Invest.* 20 (3): 333-336.
- Aydogdu U, Guzelbektes H (2018). Effect of colostrum composition on passive calf immunity in primiparous and multiparous dairy cows. *VET. MED-CZECH* 63 (1): 1-11.
- Benezzeddine-Boussaidi L, Cazorla G, Melin AM (2009). Validation for quantification of immunoglobulins by Fourier transform infrared spectrometry. *Clin. Chem. Lab. Med.* 47 (1): 83-90.
- Bielmann V, Gillan J, Perkins NR, Skidmore AL, Godden S, Leslie KE (2010). An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 93 (8): 3713-3721.
- Buczinski S, Gicquel E, Fecteau G, Takwoingi Y, Chigerwe M, Vandeweerd JM (2018). Systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum refractometry and brix refractometry for the diagnosis of inadequate transfer of passive immunity in calves. *J. Vet. Intern. Med.* 32 (1): 474-483.
- Burns J, Hou S, Riley CB, Shaw RA, Jewett N, McClure JT (2014). Use of Fourier-transform infrared spectroscopy to quantify immunoglobulin G concentrations in alpaca serum. *J. Vet. Intern. Med.* 28 (2): 639-645.
- Calloway CD, Tyler JW, Tessman RK, Hostetler D, Holle J (2002). Comparison of refractometers and test end points in the measurement of serum protein concentration to assess passive transfer status in calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 221 (11): 1605-1608.
- Carstairs-Grant SJ, Crawshaw GJ, Mehren KG (1988). A comparison of the glutaraldehyde coagulation test and total serum protein estimation as indicators of gamma globulin levels in neonatal ruminants. *J. Zoo Animal Med.* 19 (1): 14-17.
- Chigerwe M, Dawes ME, Tyler JW, Middleton JR, Moore MP, Nagy DM (2005). Evaluation of a cow-side immunoassay kit for assessing IgG concentration in colostrum. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227 (1): 129-131.
- Chigerwe M, Hagey JV, Aly SS (2015). Determination of neonatal serum immunoglobulin G concentrations associated with mortality during the first 4 months of life in dairy heifer calves. *J. Dairy Res.* 82 (4): 400-406.
- Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W (2018). *Veterinary Medicine A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats.* 11th ed. Saunders Ltd, Philadelphia.
- Cuttance EL, Mason WA, Denholm KS, Laven RA (2017). Comparison of diagnostic tests for determining the prevalence of failure of passive transfer in New Zealand dairy calves. *N. Z. Vet. J.* 65 (1): 6-13.
- Cuttance EL, Regnerus C, Laven RA (2019). A review of diagnostic tests for diagnosing failure of transfer of passive immunity in dairy calves in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 67 (6): 277-286.
- Davis DG, Schaefer DM, Hinchcliff KW, Wellman ML, Willet WE, Fletcher JM (2005). Measurement of serum IgG in foals by radial immunodiffusion and automated turbidimetric immunoassay. *J. Vet. Intern. Med.* 19 (1) : 93-96.
- Dawes ME, Tyler JW, Hostetler D, Lakritz J, Tessman R (2002). Evaluation of a commercially available immunoassay for assessing adequacy of passive transfer in calves. *Am. Vet. Med. Assoc.* 220 (6): 791-793.
- Deelen SM, Ollivett TL, Haines DM, Leslie KE (2014). Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 97 (6): 3838-3844.
- Dewell RD, Hungerford LL, Keen JE, Laegreid WW, Griffin DD, Rupp GP, Grotelueschen DM (2006). Association of neonatal serum immunoglobulin G1 concentration with health and performance in beef calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 228 (6): 914-921.
- Elsohaby I, Keefe GP (2015). Preliminary validation of a calf-side test for diagnosis of failure of transfer of passive immunity in dairy calves. *J. Dairy Sci.* 98 (7): 4754-4761.
- Elsohaby I, McClure JT, Riley CB, Shaw RA, Keefe GP (2016). Quantification of bovine immunoglobulin G using transmission and attenuated total reflectance infrared spectroscopy. *J. Vet. Diagn. Invest.* 28 (1): 30-37.
- Elsohaby I, Riley CB, Hou S, McClure JT, Shaw RA, Keefe GP (2014). Measurement of serum immunoglobulin G in dairy cattle using Fourier-transform infrared spectroscopy: A reagent free approach. *Vet. J.* 202 (3): 510-515.
- Etzel LR, Strohhahn RE, McVicker JK (1997). Development of an automated turbidimetric immunoassay for quantification of bovine serum immunoglobulin G. *Am. J. Vet. Res.* 58 (11): 1201-1205.

- Faber SN, Faber NE, McCauley TC, Ax RL (2005). Effects of colostrum ingestion on lactational performance. *Prof. Anim. Sci.* 21 (5): 420-425.
- Fecteau G, Arsenault J, Pare J, Van Metre DC, Holmberg CA, Smith BP (2013). Prediction of serum IgG concentration by indirect techniques with adjustment for age and clinical and laboratory covariates in critically ill newborn calves. *Can. J. Vet. Res.* 77 (2): 89-94.
- Furman-Fratczak K, Rzasa A, Stefaniak T (2011). The influence of colostrum immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. *J. Dairy Sci.* 94 (11): 5536-5543.
- Garry F, Adams R, Aldridge B (1993). Role of colostrum transfer in neonatal calf management: current concepts in diagnosis. *Comp. Cont. Educ. Pract.* 15 (8): 1167-1175.
- Godden S (2008). Colostrum management for dairy calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 24 (1): 19-39.
- Gökçe E, Erdoğan HM (2013). Neonatal buzağılarda kolostrum immunoglobulinlerin pasif transferi. *Türkiye Klinikleri J. Vet. Sci.* 4 (1): 18-46.
- Güngör Ö, Bastan A, Erbil MK (2004). The Usefulness of the γ -glutamyltransferase activity and total proteinemia in serum for detection of the failure of immune passive transfer in neonatal calves. *Revue Med. Vet.* 155 (1): 27-30.
- Güngör Ö, Özyurtlu N (2005). Neonatal buzağılarda pasif transfer yetersizliğinin belirlenmesinde kullanılan testler. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 11 (2): 185-188.
- Hogan I, Doherty M, Fagan J, Kennedy E, Conneely M, Brady P, Ryan C, Lorenz I (2015). Comparison of rapid laboratory tests for failure of passive transfer in the bovine. *Ir. Vet. J.* 68 (1): 18.
- Hou S, McClure JT, Shaw RA, Riley CB (2014). Immunoglobulin G measurement in blood plasma using infrared spectroscopy. *Appl Spectrosc.* 68 (4): 466-474.
- Kasap S, Kennerman E, Babaeski S, Dulger H (2019). Comparison of serum IgG concentration, total protein, glutaraldehyde coagulation test and gamma glutamyl transferase in neonatal foals. *J. Res. Vet. Med.* 38 (1): 35-38.
- Lee SH, Jaekal J, Bae CS, Chung BH, Yun SC, Gwak MJ, Noh GJ, Lee DH (2008). Enzyme-linked immunosorbent assay, single radial immunodiffusion, and indirect methods for the detection of failure of transfer of passive immunity in dairy calves. *J. Vet. Intern. Med.* 22 (1): 212-218.
- McGuirk SM, Collins M (2004). Managing the production, storage and delivery of colostrum. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 20 (3): 593-603.
- McVicker JK, Rouse GC, Fowler MA, Perry BH, Miller BL, Johnson TE (2002). Evaluation of a lateral-flow immunoassay for use in monitoring passive transfer of immunoglobulins in calves. *Am. J. Vet. Res.* 63 (2): 247-250.
- Morrill KM, Polo J, Lago A, Campbell J, Quigley J, Tyler H (2013). Estimate of serum immunoglobulin G concentration using refractometry with or without caprylic acid fractionation. *J. Dairy Sci.* 96 (7): 4535-4541.
- Naylor JM, Kronfield DS (1977). Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn dairy calf: Comparison with the zinc sulphate turbidity test and single radial immunodiffusion. *Am. J. Vet. Res.* 38 (9): 1331-1334.
- Parish SM, Tyler JW, Besser TE, Gay CC, Krytenberg D (1997). Prediction of serum IgG1 concentration in Holstein calves using serum gamma glutamyltransferase activity. *J. Vet. Intern. Med.* 11 (6): 344-347.
- Perino LJ, Sutherland RL, Woollen NE (1993). Serum gamma-glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer of immunoglobulin G. *Am. J. Vet. Res.* 54 (1): 56-59.
- Pfeiffer NE, McGuire TC, Bender RB, Weikel JM (1977). Quantitation of bovine immunoglobulins: Comparison of single radial immunodiffusion, zinc sulfate turbidity, serum electrophoresis and refractometer methods. *Am. J. Vet. Res.* 38 (5): 693-698.
- Riley CB, McClure JT, Low-Ying S, Shaw RA (2007). Use of Fourier-transform infrared spectroscopy for the diagnosis of failure of transfer of passive immunity and measurement of immunoglobulin concentrations in horses. *J. Vet. Intern. Med.* 21 (4): 828-834.
- Robison JD, Stott GH, DeNise SK (1988). Effects of passive immunity on growth and survival in the dairy heifer. *J. Dairy Sci.* 71 (5): 1283-1287.
- Rocha TG, Nociti RP, Sampaio AAM, Fagliari JJ (2012). Passive immunity transfer and serum constituents of crossbred calves. *Pesq. Vet. Bras.* 32 (6): 515-522.
- Şen İ, Başoğlu A, Ok M, Birdane MF, Güzelbekteş H, Civelek T (2000). Neonatal ishali buzağılarda serum immunoglobulinlerin glutaraldehid koagulyasyon testi ile değerlendirilmesi. *Vet. Bil. Derg.* 16 (1): 143-146.
- Talari ACS, Martinez MAG, Movasaghi Z, Rehman S, Rehman IU (2016). Advances in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Appl. Spectrosc. Rev.* 52 (5): 456-506.
- Thornhill JB, Krebs GL, Petzel CE (2015). Evaluation of the Brix refractometer as an on-farm tool for the detection of passive transfer of immunity in dairy calves. *Aust. Vet. J.* 93 (1-2): 26-30.
- Topal O, Batmaz H, Mecitoğlu Z, Uzabacı E (2018). Comparison of IgG and semiquantitative tests for evaluation of passive transfer immunity in calves. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 42 (4): 302-309.

- Turgut K (2000). Veteriner Klinik laboratuar Teşhis. 2. baskı. Bahçıvanlar baskı, Konya.
- Tyler JW, Hancock DD, Parish SM, Rea DE, Besser TE, Sanders SG, Wilson LK (1996a). Evaluation of 3 assays for failure of passive transfer in calves. *J. Vet. Intern. Med.* 10 (5): 304-307.
- Tyler JW, Hancock DD, Thorne JG, Gay CC, Gay JM (1999a). Partitioning the mortality risk associated with inadequate passive transfer of colostral immunoglobulins in dairy calves. *J. Vet. Intern. Med.* 13 (4): 335-337.
- Tyler JW, Parish SM, Besser TE, Van Metre DC, Barrington GM, Middleton JR (1999b). Detection of low serum immunoglobulin concentrations in clinically ill calves. *J. Vet. Intern. Med.* 13 (1): 40-43.
- Vijarnsorn M, Riley CB, Shaw RA, McIlwraith CW, Ryan DA, Rose PL, Spangler E (2006). Use of infrared spectroscopy for diagnosis of traumatic arthritis in horses. *Am. J. Vet. Res.* 67 (8): 1286-1292.
- Vogels Z, Chuck G, Morton J (2013). Failure of transfer of passive immunity and agammaglobulinaemia in calves in southwest Victorian dairy herds: Prevalence and risk factors. *Aust. Vet. J.* 91 (4): 150-158.
- Wallace MM, Jarvie BD, Perkins NR, Leslie KE, (2006). A comparison of serum harvesting methods and type of refractometer for determining total solids to estimate failure of passive transfer in calves. *Can. Vet. J.* 47 (6): 573-575.
- Weaver DM, Tyler JW, VanMetre DC, Hostetler DE, Barrington GM (2000). Passive transfer of colostral immunoglobulin in calves. *J. Vet. Intern. Med.* 14 (6): 569-577.
- Wittum TE, Perino LJ (1995). Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. *Am. J. Vet. Res.* 56 (9): 1149-1154.