

**REFRAKTOMETRİK VE ÇİNKO SÜLFAT  
BULANIKLIK YÖNTEMLERİ İLE NORMAL KUZU  
SERUM GAMA GLOBULİN DÜZEYLERİNİN  
SAPTANMASI ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

OlcaY ERGÜN

**GİRİŞ :**

Koyun varlığımız 1980 yılı istatistiklerine göre yaklaşık 46 milyon olup miktar itibarı ile hayvan varlığımız içerisinde kanatlı hayvanlardan sonra ikinci sırayı almaktadır. Eti, yapağısı, derisi ve sütü ile geniş bir yararlanma olanağı sağlayan koyun son yıllarda özellikle arap ülkelerine yapılan dış satımda ilk sıralarda bulunmaktadır.

DPT 1981 verilerine göre ülkemizde neonatal kuzularda görülen ölüm oranı % 12 dir. Temel amaç daha çok, daha sağlıklı ve daha verimli popülasyonların elde edilmesi olup, ülkemizde yetiştirilen yerli koyun ırkları ve kültür ırklarının hastalık etkenlerine karşı gösterdikleri direnç ise farklıdır.

Organizma kendi yapısına daha çok parenteral yolla giren yabancı moleküllere karşı bir tepkime gösterir. Bu durum sıvısal bağışıklığın ortaya çıkması ve ayrıca duyarlı hücrelerin oluşumu ile başlar. İmmunoglobulin yapısındaki özel serum proteini olan antikorlar total serum proteinlerinin % 1-2 si kadar olup belirli bazı hastalık hallerinde artması immunolojik yönden önem taşır. Normal canlılardaki bazı serum immunoglobulinleri belli bir antijene karşı özgül antikor özelliği göstermek yerine bir çok antijene karşı bu özelliği göstererek ayrıcalık taşırlar.

Kuzuların neonatal hastalıklara karşı dirençlerinin immunoglobulin düzeyi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Bu araştırmanın amacı memleketimizde yetiştirilen bazı koyun ırklarının değişik yaş ve cinsiyette olan normal kuzularının kan serumundaki gama globulin düzeylerinin çinko sulfat bulanıklık yöntemi ile ve total serum proteinlerinin refraktometre ile saptanması, ayrıca serum immunoglobulin düzeylerinin saptanmasında çinko sulfat bulanıklık testinin yanından çok daha pratik ve kısa zamanda sonuç veren refraktometre ile ilişkisi ortaya konmak amaçlanmıştır.

Organizmada humoral bağışıklığı sağlayan immunoglobulinlerin antikor aktivitesine sahip, kanda veya vücut sıvılarında bulunan proteinler olduğu bilinmektedir. Serum elektroforezinde immunoglobulinlerin büyük bir kısmı gama globulinler hizasına geldiğinden bunlara gama globulinler de denilmektedir (Morgan 1967, Hiçsönmez 1967). Gama globulinler ekstra-hepatik olarak özellikle lenfoid dokunun plasma hücrelerinde sentezlenip heterojenik bir yapı gösterirler. (Bayşu 1975) Fötal hayatta hayvanların immunoglobulinlere sahip olmadan doğduğu görüşü son on yıl içerisinde değişmiştir. Koyunlarda humoral bağışıklıkta anadan yeni doğanlara antikor esas olarak kollostrumla geçtiği bildirilmektedir. Yapılan çalışmalarda küçük lenfositlerin yavru kanında gebeliğin 60 ncı gününde görüldüğü antikor yapımının ise fötal hayatın 118 inci gününde başladığı saptanmıştır. (Gay 1975, Wamukoya ve Conner 1976). Bununla beraber lakto globulin ihtiva eden kollosturumun yeterli miktarda alan yavru- ların almayanlara oranla serum immunoglobulin düzeyleri daha yüksek, neonatal hastalıklara dirençleri daha fazladır. Doğum sonrası ilk emmeyi takip eden 24 saat içinde kollostrumdaki immunoglobulin düzeyinde önemli azalmalar olmaktadır ki bu süre kuzularda bazı araştırmacılar tarafından 48 saat olarak gösterilmiştir (MC Cartty ve Mc Dougall 1953, Reid 1972 ve Findlay 1973). Belirtilen bu süre içinde kollostrum almalarına rağmen bazı kuzu ve buzağılar agamaglobulinemik olup, neonatal hastalıklara karşı duyarlılık gösterdikleri bilinmektedir. (Fey 1962). Önemli olan bu bir veya iki günden sonra kuzuların bağırsak absorpsiyon kapasiteleri azalarak neticede maksimum düzeyleri azalmalar kaydeder (Al Salami ve Handsinclair 1977, Shubber ve ark. 1979). Sütteki immunoglobulinler zamanla diğer normal proteinlere dönüşürler ve antikor aktivitelerini kaybederler (Erdem 1969).

Çinkosulfat bulanıklık testi gama globulin düzeylerini saptamak üzere ilk olarak Aschaffenburg buzağular üzerindeki çalışmalar için kullanmıştır. Ducker ve Mc Eman da 1972 de aynı yöntemi kuzularda denemişlerdir. Diagnostik amaçla testin kullanımının incelenmesi 1975 de Mullen tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada çinkosulfat bulanıklık testi ile gama globulin saptanması 60 gebe Clun Forest koyunu ve bunlardan elde edilen 84 kuzudan alınan kan plazma örneklerinde yapılmıştır. Sonuçta koyun ve kuzularında çinkosulfat bulanıklık yöntemi ile belirlenen plazma gama globulin düzeyleri arasında yakın bir ilişki olduğu ortaya konmuştur.

Düşük gamaglobulin seviyelerine sahip olan kuzular muhtemelen aşağıdaki nedenlerden tümü veya birine bağlı olarak gama globulinemiktirler veya hipogama globulinemiktirler.

- 1 — Yaşamlarının ilk birkaç saati içinde yetersiz kollostrum almak,
- 2 — Kollostrumdaki laktoglobulin düzeylerinin düşük olması,
- 3 — Laktoglobulin absorpsiyonunun yetersiz olması.

Serum immunoglobulin tayin metodu olan çinkosulfat bulanıklık testi laboratuvarında yapılması ve uzun zaman alması nedeniyle saha çalışmaları için uygun değildir. Bu bakımdan gerek teşhis ve gerekse koruyucu olarak pratik bir metoda gerek duyulmuştur. Refraktometre bu amaca uygun bir metod olarak görülmektedir.

Mc Beath ve ark. 1971, refraktometre ile buzağı serum protein düzeylerini 3,83 g/100 ml. standart değer olarak vermiştir. İstanbulluoğlu 1978, refraktometre ile enfekte ve normal buzağularla yaptığı bir çalışmada total serum protein değerlerini enfekte hayvanlarda  $5.43 \pm 1.03$  g/100 ml., kontrol grubunda ise  $6.15 \pm 0.9$  g/100 ml. bulmuştur.

Analarından ayrılarak yapay yemle beslenen 72, analarıyla birlikte büyüyen 56 kuzuda serum protein düzeyleri refraktometrede, 1.343-1.352 R.I. bulunmuştur (Harker, 1978).

Kan serumu ve plasmanın refraktif indeksi protein yoğunluğuna bağlıdır. İmmunoglobulin fraksiyonları aşağı yukarı total proteinin 1/3 ünü teşkil eder. İmmunoglobulin seviyesi yetersiz olan daha az total proteine sahip olacaklarından, bunlarda daha düşük refraktometre okumaları görülür.

Çinkosulfat bulanıklık testinde saptanan değerler ile refraktometrede belirlenen total serum protein yoğunluğu arasında  $r = 0.99$  pozitif korelasyon bulunmuştur (Mc Beath ve ark. 1971).

Aynı ilişki (Herkere 1978) tarafından ise kuzularda  $r = 0.89$  olarak saptanmıştır.

#### **MATERYEL VE METOT :**

#### **GEREÇ :**

Bu çalışmada Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Çayır Mer'a, Lalahan Zootehni Araştırma Enstitüsü ve Karacabey Harasından Sağlıklı değişik ırk, cins ve yaş guruplarındaki kuzulardan alınan toplam 93 adet kan serumu kullanıldı.

Denemede total serum proteinlerinin okunması Amerikan Optical Model 10400 Refraktometre ile, gama globulin düzeylerinin saptanmasında ise spektronik 21 Bousch Lomb spektrofotometre kullanılmıştır.

#### **YÖNTEM :**

Kuzuların venöz kan numunelerinden alınan serumlar 6000 devirde 5 dakika santrifüj edilip gama globulin düzeyleri Kunkelin çinko sülfat bulanıklık testi ile spektrofotometrede, serum total proteinleri ise refraktometre ile (Mc Beath ve ark. 1971) işlenerek değerlendirildi.

### I — Çinko Sulfat Bulanıklık Testi (Aras ve Ersen 1975)

**Prensip :** Gama globulin miktarının bir indeksi olarak kabul edilen bu testte prensip bütün bulanık testlerinde olduğu gibi serum gama globulinlerinin çinko sulfat tampon solusyonu ile çökmesi ve bir bulanıklık meydana getirmesi esasında dayanır. Bir başka deyişle bu test iyonik kuvveti düşük olan çözeltilerde gama globulinlerin az eriyebilirliklerine dayanır (Bayşu 1979).

#### Testin Yapılışı :

##### Ayraçlar :

A — Zinc sulfat tampon solusyonu (Kunkel) litrelik bir balona 280 ml. dietil barbitürük asit, 210 ml. sodyum dietil barbitürat ve 900 ml. distile su konur, eritilir, üzerine reaktif olarak kullanılan çinko sulfat 24 ml. ilave edildi. Karışım çalkalanarak distile su ile litreye tamamlandı ve pH 7,5 a ayarlandı.

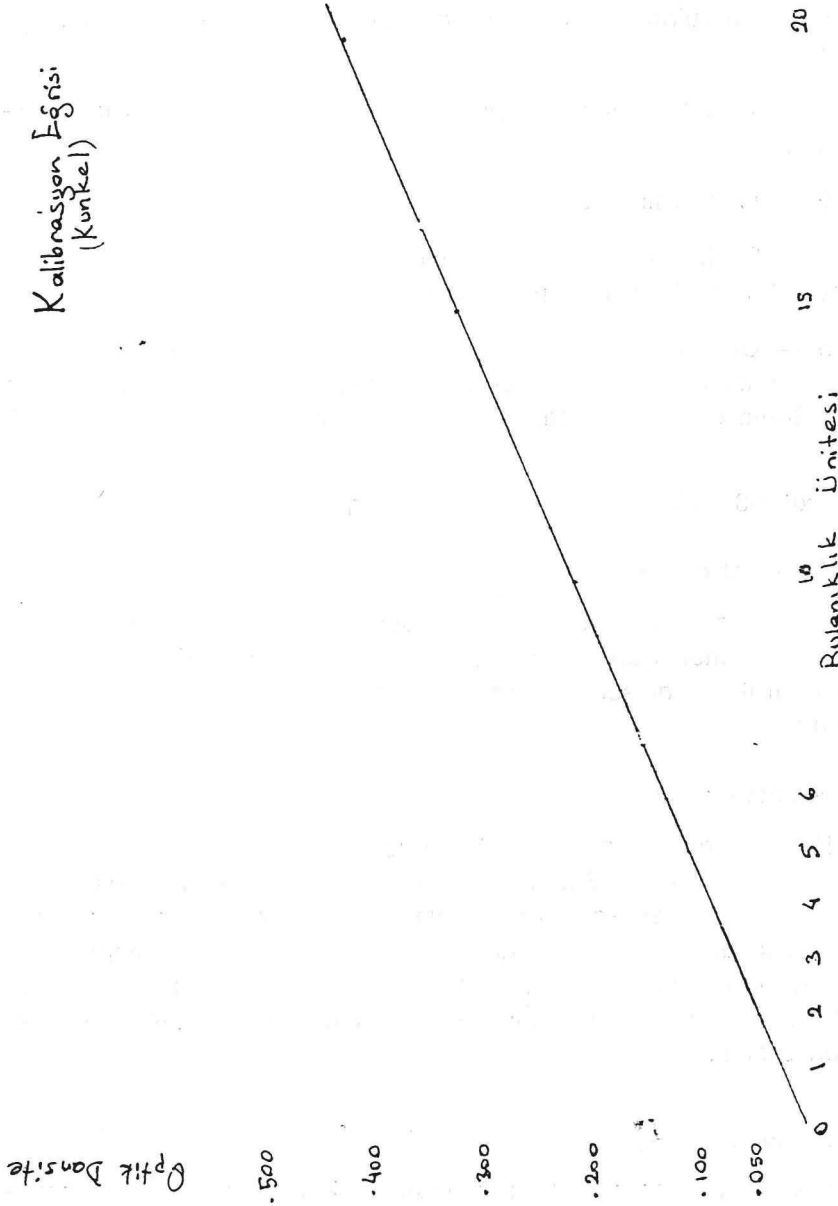
B = Baryum Clorür ( $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ ) : 1.73 gr. saf baryum clorür 100 ml. distile suda eritildi.

C = 0,2 N  $H_2SO_4$  :

##### Timol Calibrasyon eğrisinin hazırlanışı :

Daha önce hazırlanan baryum kloridden 3 ml. alınarak 0,2  $NH_2SO_4$  ile 100 ml ye tamamlandı. Elde edilen bu standart solusyon 20 timol bulanıklık ünitesine eşittir. Daha sonra bu standart solusyon dan 5 tüpe sırası ile 0.25, 5.0, 7.5, 10.0 ml. konuldu. Bütün tüpler distile su ile 10 ml. ye tamamlandı. Bu standartlar 0,5,10,15 ve 20 bulanıklık ünitesine eşittir. Çinko sulfat tampon solusyonu ile spektrofotometre sıfıra ayarlanır. 650 milimikron dalga boyunda standartların optik dansiteleri okundu ve grafik kağıdının ordinatı üzerine optik dansiteler, apsisi üzerine bulanıklık üniteleri işaretlendi. Elde edilen noktalar sıfır noktasından geçen bir hat üzerinde bulunur.

Kalibrasyon Eğrisi  
(Kunkel)



### Testin Yapılışı :

1 — İki deney tüpünden biri test diğeri kör olarak işaretlendi. Bunlardan herbirine zinc sulfat tampon solusyonundan 16 ml. koyuldu.

2 — Test tüpüne mikro pipetle serumdan 0,1 ml. koyun karıştırıldı.

3 — Oda ısısında 30 dakika bırakıldı.

4 — Spektrofotometre kör deney ile sıfıra ayarlanıp testin optik dansitesi 650 milimikronda okundu.

5 — Okunan optik dansite ile timol kalibrasyon eğrisinde bulanıklık ünitesi bulundu. Bu bulunan bulanıklık ünitesi «K» yı ifade eder. Gama globulin miktarını elde etmek için aşağıdaki formül kullanılır.

$$K \times 0.053 + 0.5 = \text{gr/100 ml.}$$

### II — Refraktometre (Mc Beath ve ark. 1971)

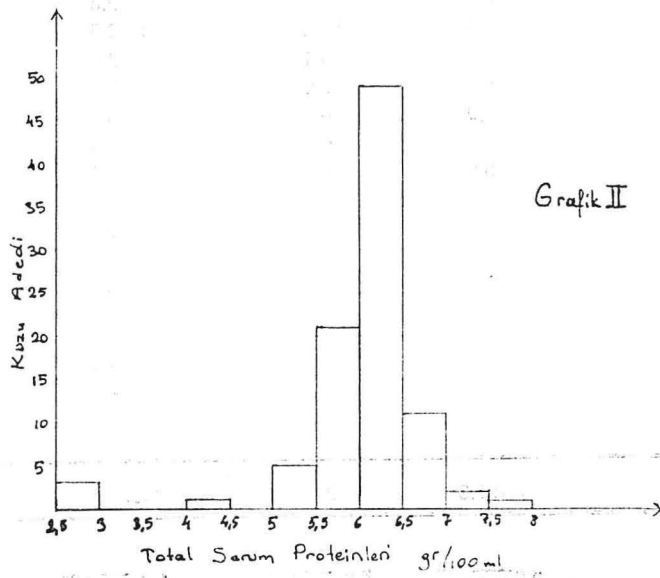
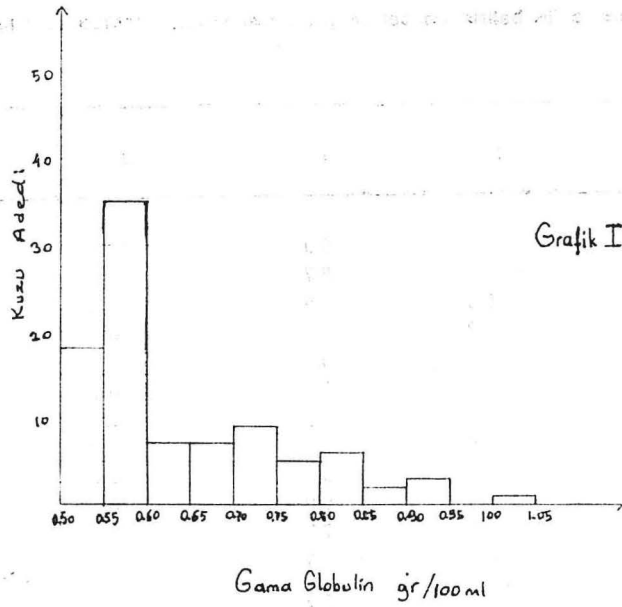
Metod tam yansıma esasına dayanır. Önce alet damıtık su ile sıfıra ayarlandı. Serum örnekleri tek tek 0,1 ml. prizma üzerine damlatılarak total serum proteinleri skaladan gr/100 ml. olarak okundu.

### İstatistiksel Analizler :

Her iki metoddaki bulunan sonuçların ayrı ayrı ırk ve yaşa göre varyans analizleri Snedecor ve Cochran'ın 1967 varyans analiz yöntemine göre) sekse göre T- testi ile ortalama değerlerin standart sapmaları ve ortalama değerler arasındaki farkın önemli olup olmadığı saptandı. Ayrıca serum immunoglobulin ile total protein düzeyleri arasında bir ilişkinin olup olmadığını belirlemek için korelasyon arandı.

### Bulgular :

Dört ayrı müesseseden sağlanan 93 kuzuya ait kan serumunda çinkosulfat bulanıklık testi ele saptanan gama globulinlerin genel dağılımı 1. nolu grafikte gösterilmiştir.





TABLO : 1

Refraktometre ile belirlenen serum total proteinleri (gr/100 ml) (Yaşa göre)

Sıra No	1. ay	2. ay	3. ay	4. ay
1	6.8	5.0	5.7	6.4
2	6.0	5.7	6.0	6.6
3	6.3	5.5	6.2	6.0
4	6.3	5.8	6.1	6.2
5	6.1	5.5	6.0	6.5
6	5.8	7.5	6.2	6.0
7	6.2	6.3	5.7	6.1
8	6.5	6.1	6.2	5.4
9	5.6	5.2	5.6	6.0
10	6.0	6.2	6.5	6.3
11	6.0	7.0	6.1	6.4
12	6.1	6.1	6.3	6.2
13	5.9	5.6	5.6	6.0
14	6.4	6.4	6.5	6.6
15	6.0	5.9	2.8	6.2
16	5.8	5.5	6.5	6.6
17	5.3	5.4	2.6	6.0
18	6.1	5.6	5.6	6.4
19	6.0	6.0	6.2	6.1
20	6.2	5.6	6.5	6.2
21	5.9	5.5	6.3	6.4
22			4.2	
23			2.5	
24			6.3	
25			6.1	
26			6.5	
27			6.0	
28			6.3	
29			7.0	
30			6.3	
Toplam	127.3	123.4	172.4	130.6
Ortalama değer	6.06 $\pm$ 0.07	5.87 $\pm$ 0.13	5.75 $\pm$ 0.21	6.22 $\pm$ 0.06

TABLO : 2

Çinko sülfat bulanıklık yöntemi ile serum gama globulin düzeyleri  
(gr/100 ml) (Yaşa göre)

Sıra No	1. ay	2. ay	3. ay	4. ay
1	0,55	0,52	0,93	0,81
2	0,52	0,52	0,76	0,76
3	0,58	0,55	0,87	0,74
4	0,58	0,52	0,76	0,82
5	0,52	0,55	0,78	0,81
6	0,52	0,67	0,74	0,72
7	0,58	0,55	0,55	0,61
8	0,56	0,55	0,56	0,62
9	0,55	0,53	0,56	0,88
10	0,56	0,59	0,70	0,80
11	0,52	0,52	0,56	0,63
12	0,52	0,52	0,68	0,63
13	0,55	0,55	0,63	0,69
14	0,57	0,70	0,73	0,93
15	0,55	0,53	0,58	1,00
16	0,56	0,56	0,62	0,81
17	0,53	0,63	0,55	0,74
18	0,52	0,55	0,58	0,79
19	0,53	0,52	0,55	0,68
20	0,57	0,53	0,56	0,71
21	0,52	0,56	0,66	0,82
			0,55	
23			0,56	
24			0,70	
25			0,56	
26			0,68	
27			0,58	
28			0,67	
29			0,90	
30			0,58	
Toplam	11,46	11,72	19,69	16,00
Ortalama değer	0,54 ± 0,004	0,56 ± 0,01	0,66 ± 0,02	0,76 ± 0,02

**TABLO : 3**  
Çinko sülfat bulanıklık yöntemi ile gama globulin düzeyleri  
(gr/100 ml) (ırklara göre)

Sıra No	Merinos	Karaman	Malya
1	0,52	0,55	0,81
2	0,52	0,52	0,76
3	0,52	0,58	0,93
4	0,52	0,72	0,74
5	0,55	0,61	0,82
6	0,67	0,88	0,81
7	0,55	0,63	0,76
8	0,55	0,76	0,88
9	0,54	0,93	0,62
10	0,59	1,00	0,80
11	0,52	0,78	0,63
12	0,52	0,55	0,68
13	0,55	0,52	0,74
14	0,70	0,53	0,52
15	0,54	0,56	0,55
16	0,56	0,81	0,57
17	0,63	0,74	0,55
18	0,55	0,79	0,56
19	0,52	0,68	0,53
20	0,58	0,71	0,52
21	0,58	0,82	0,53
22	0,52		0,57
23	0,56		0,52
24	0,55		
25	0,56		
26	0,55		
27	0,56		
28	0,56		
29	0,70		
30	0,56		
31	0,68		
32	0,63		
33	0,73		
34	0,58		
35	0,62		
36	0,55		
37	0,58		
38	0,55		
39	0,56		
40	0,66		
41	0,55		
42	0,56		
43	0,70		
44	0,56		
45	0,68		
46	0,58		
47	0,67		
48	0,90		
49	0,58		
<b>Toplam</b>	<b>28,82</b>	<b>14,67</b>	<b>15,50</b>
<b>Ortalama değer</b>	<b>0,59±0,01</b>	<b>0,70±0,03</b>	<b>0,67±0,03</b>

Ortalama değerin  $X = 0.63 \mp 0.012$  gr/100 ml. bulunduğu popülasyonda % 57'yi teşkil eden 53 kuzuya ait değerlerin 0.50-0.60 gr/100 ml. arasında toplandığı görülmüştür. Altı kuzuda ise serum gama globulin düzeyi 0.85-1.00 gr/100 ml. arasında belirlenmiştir.

Refraktometre ile 93 kuzuya ait serum total proteinlerin genel dağılımı 2 nolu grafikte verilmiştir. Ortalama değer  $X = 5.95 \mp 0.078$  gr/100 ml. olup 81 kuzuya ait değerlerin 4.5-7 gr/100 ml. arasında bulunduğu ve ancak 3 kuzuda bu değerlerin 3 gr/100 ml. nin altında olduğu tesbit edilmiştir.

Tablo 1 de yaş gruplarına göre refraktometre ile tayin edilen serum total proteinleri verilmiştir. 1,2,3 ve 4 üncü aya ait ortalama değerleri ve standart hataları sırasıyla  $6.06 \mp 0.07$ ,  $5.87 \mp 0.13$ ,  $5.75 \mp 0.21$  ve  $6.22 \mp 0.06$  gr/100 ml. bulunmuştur. Gruplar arasındaki farklar istatistiki bakımdan önemsiz çıkmıştır ( $P > 0.05$ ). Çinko sulfat bulanıklık yöntemi ile saptanan serum gama globulin düzeylerinin aylara göre dağılımı da tablo 2'de gösterilmiştir. Ortalama değerler ve standart hataları 1. aydan 4. aya doğru sırasıyla  $0.54 \mp 0.004$ ,  $0.56 \mp 0.01$ ,  $0.66 \mp 0.02$  ve  $0.76 \mp 0.02$  gr/100 ml. olarak kaydedilmiştir. 1 ve 2. gruplar arasındaki farklılık istatistiki bakımdan önemsiz ( $P > 0.05$ ) diğer gruplar arasındaki farklılık ise çok önemli ( $P < 0.01$ ) bulunmuştur.

Irklara göre guruplanan Merinos, Karaman, Malya kuzularının gama globulin düzeyleri tablo 3'de gösterilmiş olup ortalama değer ve standart hataları sırasıyla  $0.59 \mp 0.01$ ,  $0.70 \mp 0.03$  ve  $0.67 \mp 0.03$  gr/100 ml. bulunmuştur. Karaman ve Malya ırkları arasındaki farklılık istatistiki bakımdan önemsiz ( $P > 0.05$ ), Merinos, Karaman ve Merinos Malya arasındaki farklılıklar ise çok önemli ( $P < 0.01$ ) bulunmuştur.

Irklara göre serum total proteinleri ortalama değer ve standart hataları Merinoslarda  $5.86 \mp 0.14$ , Karamanlarda  $6.06 \mp 0.7$  ve  $6.06 \mp 6$  gr/100 ml. olup bu değerler tablo 4 de gösterilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar önemli çıkmamıştır ( $P > 0.05$ ).

Tablo 5 de dişi ve erkek kuzulara ait çinko sulfat bulanıklık yöntemi ile saptanan gama globulin düzeyleri verilmektedir. Bu değer erkek kuzularda  $0.64 \mp 0.01$  ve dişi kuzularda  $0.62 \mp 0.02$  gr/100 ml. olup fark istatistiki bakımdan önemsizdir ( $P > 0.05$ ).

Kuzu gamma globulin düzeyi — Ergün

**TABLO : 5**  
Refraktometre ile belirlenen serum total proteinleri (gr/100 ml.) (Irkara göre)

İra No	Merinos	Karaman	Malya
1	6.0	5.5	6.4
2	5.0	5.8	6.6
3	5.7	6.2	5.7
4	5.8	6.0	6.0
5	5.5	6.1	6.2
6	7.5	6.0	6.5
7	6.3	6.4	6.0
8	6.1	6.1	6.2
9	5.2	6.6	5.4
10	6.2	6.2	6.3
11	7.0	6.0	6.2
12	6.1	5.6	6.0
13	5.6	6.0	6.2
14	6.4	5.6	6.1
15	5.9	5.5	5.9
16	5.5	6.6	6.4
17	5.4	6.0	6.0
18	6.8	6.4	5.8
19	6.0	6.1	5.3
20	6.3	6.2	6.1
21	6.3	6.4	6.0
22	6.1		6.2
23	6.5		5.9
24	5.8		
25	6.0		
26	5.7		
27	6.2		
28	5.6		
29	6.5		
30	6.1		
31	6.3		
32	5.6		
33	6.5		
34	2.8		
35	6.5		
36	2.6		
37	5.6		
38	6.2		
39	6.5		
40	6.3		
41	4.2		
42	2.5		
43	6.3		
44	6.1		
45	6.5		
46	6.0		
47	6.3		
48	7.0		
49	6.3		
<b>Toplam</b>	<b>287.2</b>	<b>127.3</b>	<b>139.4</b>
<b>Ortalama değer</b>	<b>5.86 ± 0.14</b>	<b>6.06 ± 0.07</b>	<b>6.06 ± 0.06</b>

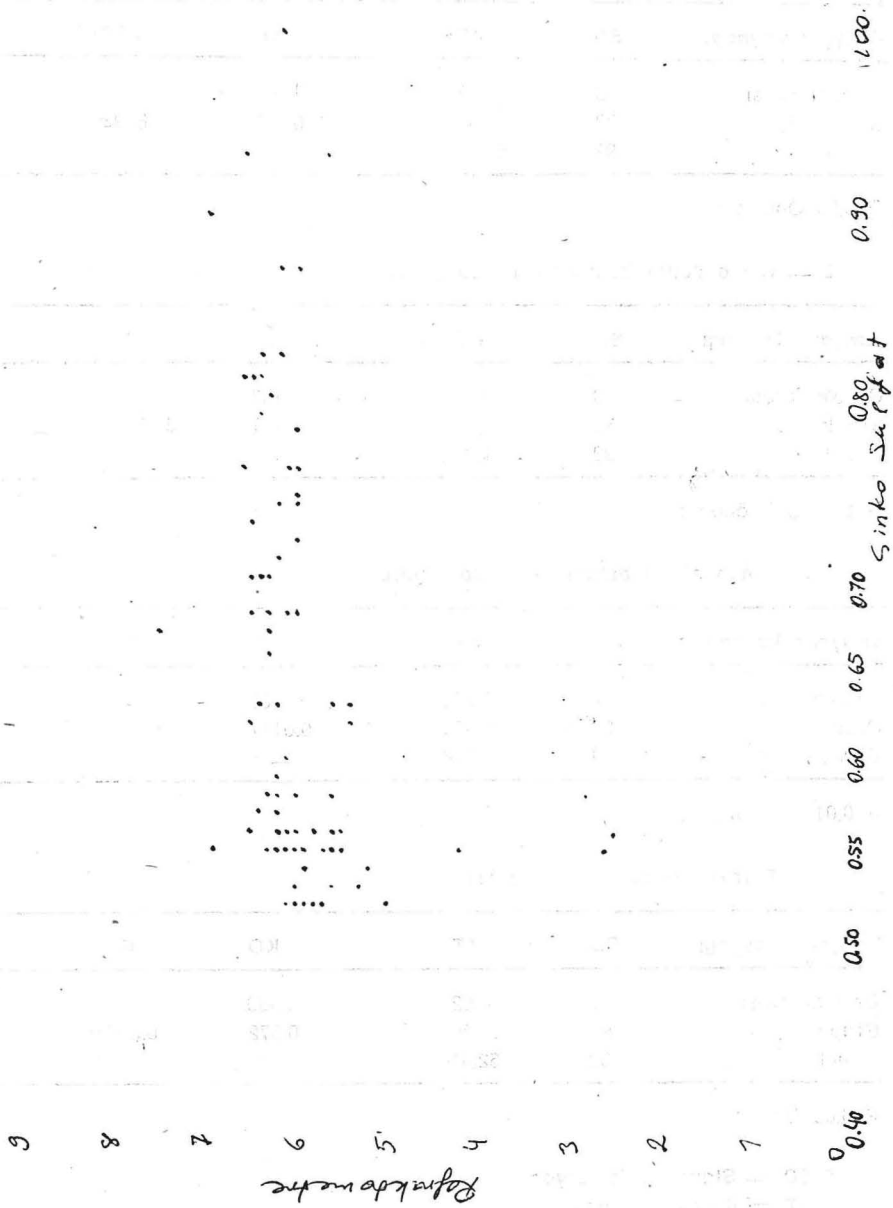
Tablo : 5  
Çinko sülfat bulanıklık yöntemi ile gama globulin  
düzeyi (gr/100 ml.) (Seks'e göre)

Sıra No	Erkek	Dişi
1	0,93	0,81
2	0,74	0,76
3	0,81	0,82
4	0,63	0,76
5	0,76	0,72
6	0,93	0,88
7	0,55	0,61
8	0,56	0,62
9	0,56	0,88
10	0,70	0,80
11	0,56	0,63
12	0,68	0,68
13	0,63	1,00
14	0,72	0,78
15	0,57	0,74
16	0,62	0,52
17	0,55	0,52
18	0,57	0,55
19	0,55	0,52
20	0,56	0,52
21	0,65	0,55
22	0,57	0,56
23	0,56	0,63
24	0,70	0,52
25	0,56	0,52
26	0,68	0,57
27	0,57	0,56
28	0,67	0,52
29	0,90	0,55
30	0,57	0,57
31	0,52	0,55
32	0,55	0,56
33	0,52	0,53
34	0,55	0,52
35	0,67	0,53
36	0,55	0,52
37	0,53	0,57
38	0,59	0,52
39	0,70	0,55
40	0,53	0,52
41	0,55	0,53
42	0,57	0,56
43	0,57	
44	0,52	
45	0,55	
46	0,56	
47	0,81	
48	0,74	
49	0,79	
50	0,68	
51	0,71	
52	0,82	
Toplam	33,17	25,61
Ortalama değer	0,64 $\pm$ 0,01	0,62 $\pm$ 0,02

Kuzu gamma globulin düzeyi — Ergün

TABLO : 6  
Refraktometre ile belirlenen total serum proteinleri  
(gr/100 ml.) (Seks'e göre)

Sıra No	Erkek	Dişi
1	5,7	6,4
2	6,0	6,6
3	6,5	6,2
4	6,4	6,0
5	6,1	6,0
6	6,6	6,2
7	5,7	6,1
8	5,2	5,4
9	5,6	6,0
10	6,5	6,3
11	6,1	6,2
12	6,3	6,0
13	5,6	6,2
14	6,5	6,0
15	2,8	6,2
16	6,5	6,0
17	2,6	5,7
18	5,6	6,3
19	6,2	7,0
20	6,5	6,1
21	6,3	5,6
22	4,2	5,5
23	2,5	5,4
24	6,3	6,0
25	6,1	5,8
26	6,5	6,2
27	6,0	6,5
28	6,3	6,1
29	7,0	5,9
30	6,3	6,4
31	5,0	6,0
32	5,5	5,8
33	5,8	6,1
34	5,5	6,0
35	7,5	6,2
36	6,1	5,9
37	5,2	5,6
38	6,2	6,0
39	6,4	5,6
40	5,9	5,5
41	6,8	
42	6,3	
43	6,3	
44	6,1	
45	5,6	
46	6,0	
47	6,6	
48	6,0	
49	6,4	
50	6,1	
51	6,2	
52	6,4	
Toplam	307,4	246,3
Ortalama değer	5,91 ± 0,13	6,00 ± 0,05





## Varyans analiz sonuçları

## 1 — Refraktometre (Yaşa göre)

Varyans kaynağı	SD*	KT**	KO***	F****
Gruplar arası	3	3.13	1.043	
Gruplar içi	89	49.39	0.555	1.8792—
Genel	92	52.52	—	

P 0,05 Önemsiz

## 2 — Çinko sülfat bulanıklık (Yaşa göre)

Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
Gruplar arası	3	0.643	0.2143	
Gruplar içi	89	0.631	0.0070	30.61++
Genel	92	1.274	—	

P 0,01 Çok önemli

## 3 — Çinko sülfat bulanıklık (Irkara göre)

Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
Gruplar arası	2	0.220	0.1100	
Gruplar içi	90	1.054	0.0117	9.40++
Genel	92	1.274	—	

P 0,01 Çok önemli

## 4 — Refraktometre (Irkara göre)

Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
Gruplar arası	2	0.92	0.460	
Gruplar içi	90	51.49	0.572	0.804—
Genel	92	52.41	—	

P 0,05 Önemsiz

\* SD = Standart deviasyon

\*\* KT = Kareler toplamı

\*\*\* KD = Kareler ortalaması

\*\*\*\* F = F değeri

Refraktometre yöntemi ile belirlenen serum total proteinlerinin dişi ve erkek kuzulara göre dağılımında 6 nolu tabloda verilmiştir. Bu değer erkek kuzularda  $5.91 \pm 0.13$  ve dişi kuzularda  $6.00 \pm 0.05$  gr/100 ml. olup, iki seks grubu arasındaki fark istatistiki yönden önem taşımaktadır ( $P > 0.05$ ).

Üç numaralı grafikte iki yöntem arasındaki ilişki işlenmiş, korelasyon katsayısı  $r = 0.3 \pm 0.09$  olarak hesaplanmıştır. Bu korelasyon değeri gerçek ve önemli olması nedeni ile ayrıca regresyon katsayısı da hesaplanmış ve doğrusal regresyon formülü  $Y = 4.7195 \pm 1.95x$  ortaya konmuştur. Bu sonuç çinkosulfat bulanıklık yöntemi ile yapılan hesaplamada, ortalamaya göre 1 birimlik artışın refraktometre hesaplamasında 1.95 birimlik bir artışa yol açtığını göstermektedir.

Yaş grupları ve ırklara göre iki metodun sonuçlarına ilişkin varyans analiz tablolarıda ayrıca verilmiştir.

#### TARTIŞMA :

Çalışmamızdaki 93 kuzuya ait gamaglobulin değerleri incelendiğinde, materyalin % 57 sini teşkil eden 53 kuzuya ait değerlerin 0.50-0.60 gr/100 ml. arasında yoğunlaştığı, 0.85-1.00 gr/100 ml arasındaki değerlere sahip hayvan sayısının ise 6 olduğu anlaşılmıştır. Total serum proteinleri, 2 nolu grafikte hayvanların % 87 si olan 81 kuzuya ait değerlerin 5.5-7 gr./100 ml. (1.345-1.348 Rİ) arasında olduğu izlenmektedir. Serum total protein miktarları 3 gr./100 ml. nin altında 3 kuzu bulunmuştur (1.340 Rİ).

Harker 1978, 128 kuzu üzerinde yaptığı çalışmada ilk 24 saat içinde 1.343-1.350 Rİ arasında değerler tesbit etmiştir, bu değerler 5.5-8.1 gr/100 ml. ye eşit olup araştırmamızdaki değerlere uyum içindedir. Tablo 1 de refraktometre ile bulunan total serum protein miktarları yaşlara göre verilmiştir.

Perk ve Lobl 1960, 3 aylık erkek ve dişi kuzularda total serum protein düzeylerini 5.65 ve 5.78/100 ml. bulmuştur. Aynı hayvanlarda 1. ve 3. yaşlarda total serum protein miktarlarının arttığı ve nedeniyle kan serum globulin düzeylerindeki yükselme olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2 de yaşa göre yapılan gruplamadaki sonuçlara göre ilk iki ay içerisindeki serum gama globulin düzeyleri büyük bir değişiklik göstermemekle birlikte 3. ve 4. aylarda önemli artışlar görülmektedir. Yaşın ilerlemesine bağlı olarak serum gama globulin düzeyindeki artışı Dobson 1966 tarafından antijenik uyarımdaki fazlalaşmaya bağlanmıştır. Üç numaralı tabloda ırklara göre serum gama globulin düzeylerindeki gruplamada Karaman, Malya kuzularına ait gruplar arasındaki farklar istatistiki bakımdan önemsiz ( $P > 0.05$ ) Merinos, Karaman ve Merinos, Malya kuzuları arasındaki farklılıklar ise çok önemlidir ( $P < 0.01$ ).

Harker 1974, İskoç dağ ve ova bölgesi koyunların kuzularında çalışmış ve ırklar arasındaki farkı önemli bulmamıştır. Perk ve Lobl 1960. total serum proteinlerini ırklara göre şöyle saptamışlardır. İleesilerde 6.06 Rambouillet 6.0 - 6.5, Corriedale 6.1, Karagüllerde 5.8, Somanilerde 6.6, East Friessiyamda 6.1 gr/100 ml. tesbit etmiş ve ırklar arasında önemli bir fark saptamamıştır.

Dobson 1966, Merinos X Borderleicester 9 aylık melez kuzularda bu düzeyi  $6.52 \pm 0.017$  göstermiştir. Bu değerlerle, araştırmamızdaki ırklara göre total serum proteinleri incelendiğinde bir örneklilik göstermektedir.

Araştırmadaki kuzular erkek ve dişiler şeklinde gruplandırıp tablo 5 ve 6 da gama globulin ve serum total proteinleri değerleri karşılaştırılmıştır. Perk ve Lobl 1960, üç aylık ivesi dişi kuzularda total serum prote'in düzeylerinin 5.78, erkek kuzularda ise 5.65 gr/100 ml. olduğunu bildirirler. İki yöntem arasındaki ilişki 3 nolu grafikte gösterilmiş olup Harker 1978, 128 kuzu üzerinde yaptığı araştırmada Rİ ve ZSTT ünitesi arasındaki ilişkide  $r = 0.89$  olarak hesaplanmıştır. Mc Beat ve Ar. 1971, danalar üzerinde yaptıkları bir araştırmada bu ilişkiyi  $r = 0,72$  bulmuşlardır. Araştırmamızdaki korelasyon kat sayısı standart hatası ile birlikte  $r = 0.3 \pm 0.09$  bulundu. Bu katsayının tesadüfe bağlı olup olmadığını + değerini hesaplayarak

$$\frac{r}{Sr} = \frac{0.3}{0.09} = 3.333$$

bulunmuş ki bu değer % 99 güven eşliğinde istatistiki bakımdan önemlidir. İki yöntem arasında aynı yönde (müsbet) bir ilişki mevcut olup, bu ilişki tesadüfen ortaya çıkmış değildir. Bir diğer deyişle yön-

temlerden biri, diğeri yerine kullanılabilir. İki yöntem sonuçları arasındaki ilişki sayısal olarak regresyon katsayısı ile  $Y = 4.7195 \mp 1.95 x$  formüldeki gibi ZSTT yöntemi ile yapılan hesaplamada ortalamaya göre 1 birimlik artış, refraktometre hesaplamasında 1.95 birimlik yükselişe yol açmaktadır. Refraktometre bu sonuçlara göre saha da kolaylıkla kullanılabilen seri makul değerler vermektedir.

### ÖZET :

Bu araştırmanın temel amacı, Türkiye'de yetiştirilen bazı koyun ırklarının değişik yaş ve cinsiyetteki kuzularının kan serumlarındaki gama globulin düzeylerini çinkosulfat bulanıklık yöntemi ile serum proteinlerinin refraktometre ile saptanmasıdır. Ayrıca iki yöntemle bulunan değerler arasındaki ilişkide istatistiki bakımdan incelenmiştir. Çalışmada çeşitli müesseselerden alınan 93 kuzu kan serumu kullanılmıştır. Total protein yönünden araştırılan 1., 2., 3., ve 4. aylarda ait numunelerde gruplar arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Bu gruplar gama globulin yönünden incelendiğinde 1. ve 2. ay arasındaki fark önemsiz ( $P > 0.05$ ), diğer aylar arasındaki ise çok önemli ( $P > 0.01$ ) olarak saptanmıştır.

Aynı kuzular ırklara göre Merinos, Karaman ve Malya olarak gruplandırılmış, ırklar arasında serum total proteinleri önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ).

Çinko sulfat bulanıklık yöntemi ile bulunan serum gama globulin düzeyleri bakımından Karaman, Malya kuzuları arasındaki fark önemsiz ( $P > 0.05$ ), Karaman, Merinos ve Malya Merinos kuzuları arasındaki farklar ise çok önemli bulunmuştur ( $P > 0.01$ ). Dişi ve erkek kuzularda serum total protein ve gama globulin düzeyleri arasındaki fark önemsizdir ( $P > 0.05$ ).

Serum total protein ve gama globulin düzeyleri arasındaki ilişkide korelasyon katsayısı " $r = 0.3$ " olarak hesaplanmıştır.

### SUMMARY

The main purpose of this study was to carry out to determine the gamma globulin level and total protein in the serum of different age and breed lambs by ZSTT and refraktometer. The relationship between refraktometer readings and zinc sulphate turbidity test values were also statisti cally investigated. In this experiment, 93 blood

sera lambs taken from different state farms were used. The differences in terms of total protein between serum samples during the 1., 2., 3., and 4 months were not found significant ( $P>0.05$ ), according to the gamma globulin levels of these groups, the differences between the first group and the second were not significant ( $>0.05$ ) and the differences between the other months were determined as significant ( $P>0.01$ ).

Same lambs were grouped according to the breed such as Karaman, Merinos lamb and Malya. According to the total protein, in sera were not statistically significant ( $P>0.05$ ). In point of gamma globulin levels in sera determined by ZSTT, the differences between Karaman and Malya lambs were not significant ( $P>0.05$ ), but the differences between Karaman and Merinos and between Malya and Merinos lambs were found statistically significant ( $P<0.01$ ). The differences among the serum total protein and gamma globulin levels in male and female were not significant ( $P>0.05$ ). The correlation coefficient between serum total protein and gamma globulin was found to be  $r = 0.3$ .

#### KAYNAKLAR

- 1 — AL SALAMI, M.T.H. and SINCLAIR, K.B. (1977) : Use of the zinc sulphate turbidity test for determining plasma globulin in sheep. *Vet. Rec.*, 100 : 93.
- 2 — ARAS, K. ve ERSEN, G. (1975) : *Klinik Biyokimya*, 5. Baskı, XIV+1191. A.Ü. Basımevi, Ankara.
- 3 — BAYŞU, N. (1979) : *Temel Biyokimya*, F.Ü. Vet. Fak. Yayınları No. 18; A.Ü. Basımevi, Ankara.
- 4 — DOBSON, C. (1966) : Cellulose acetate electrophoresis of the serum proteins of sheep : A study of developmental changes in young lambs (brief communication). *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 44 : 575-580.
- 5 — DUCKER, M.J. and Mc EWAN, A.D. (1972) : The estimation of immunoglobulin levels in neonatal lamb serum using a Turbidity test (short communications). *Br. Vet. J.*, 128 : IX-XI.
- 6 — ERDEM, R. (1969) : Immunoglobulinler ve Brucella Serolojisindeki değerleri. *Pendik Vet. Kont. Araş. Enst. Derg.*, II (1) : 36-48.
- 7 — FEY, H. (1962) : Neuere Untersuchungen über die Colisepsis des Kalbes. *Schweiz. Arch. Tierheilk.*, 104 : 1-12.
- 8 — FINDLAY, C.R. (1973) : Serum immunoglobulin levels in lambs under a week old. *Vet. Rec.*, 92 : 530-532.

- 9 — GAY, C.C. (1975) : In utero immunization of calves against colisepticemia, Am. J. Vet. Res., 36 : 625.
- 10 — HARKER, D.B. (1974) : Serum immunoglobulin level in artificiallyreared lambs. Vet. Rec., 95 : 229-231.
- 11 — HARKER, D.B. (1978) : Evaluation of the optical refractometer for lamb serum immunoglobulin estimation. Vet. Rec., 102 : 213-214.
- 12 — HİÇSÖNMEZ, G. (1968) : Immunoglobulinler ve eksiklikleri. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Hacettepe Üniversitesi Derg., 11 (2-3) : 90-98.
- 13 — İSTANBULLUOĞLU, E. (1978) : Septicaemia neonatorumlu buzağılardan izole edilen Escherichia coli suşlarının biyokimyasal, serolojik, enterotoksijenik, antibiyotiklere duyarlılık, bulaşıcı tip plazmid (R-Faktör) taşıma özellikleri ile enfekte ve normal buzağılardan elde edilen serum örneklerinin immunoglobulin (IgG, IgA, IgM) miktarları üzerinde incelemeler, Doçentlik tezi.
- 14 — Mc BEATH, D.G., PENHALE, W.J. and LOGAN, E.F. (1971) : An examination of the influence of Husbandry on the plasma immunoglobulin level of the newborn calf. Using a Rapid Refractometer Test for Assessing immunoglobulin Content. Vet. Rec., 88 : 266-270.
- 15 — Mc CARTHY, E.F. and Mc DOUGALL, E. (1953) : Absorption of immunoglobulin by the young lamb after ingestion of colostrum. Biochem. J., 55 : 177-182.
- 16 — Mc EWAN, A.D., FISHER, E.W., SELMAN, I.E. and PENHALE, W.J. (1970) : Clin. Chim. Acta., 27 : 155 (Alınmıştır lit. 18).
- 17 — MORGAN, W.J.B. (1967) : The serological diagnosis of bovine brucellosis. Vet. Rec., 80 : 612-620.
- 18 — MULLEN, P.A. (1975) : In «The Veterinary Annual» 15 th issue, Ed. by C.S.G. Hill. 451. J. Wight and Sons Ltd., Bristol (Alınmıştır lit. 1).
- 19 — PERK, K. and LOBL, K. (1960) : Chemical and paper electrophoretic analysis of normal sheep serum proteins and lipoproteins. Br. Vet. J., 66 : 167-174.
- 20 — REID, J.F.S. (1972) : Serum immunoglobulin concentrations of Newborn-Hill Lambs. Vet. Rec., 90 : 371-372.
- 21 — SHUBBER, A.H., DOXEY, D.L., BLACK, W.J.M. and FITZ SIMONS, J. (1979) : Colostrum production by ewes and the amounts ingested by lambs. Res. Vet. Sci., 27 : 280-282.
- 22 — SNEDECOR, G.W. and COCHRAN, W.G. (1967) : Statistical Methods, 6th Ed Iowa State University press, Ames Iowa U.S.A.
- 23 — WAMUKOYA, P.O. and CONNER, G.H. (1976) : Local immun response in bovine fetus vaccinated in utero with Esherichia coli antigen. Am. J. Vet. Res., 37 : 159.