

GEBE İNEKLERDE LEVAMİZOL UYGULAMALARININ DOĞUM SONU MASTİTİS, METRİTİS VE FÖTAL ÖLÜMLER ÜZERİNE ETKİSİ*

Kutlay GÜRBULAK* M. Ragıp KILIÇARSLAN**

The effect of Levamisole administration on the postpartum mastitis, metritis and foetal death in the pregnant cows

Summary: In this study, the effect of immunostimulant effective Levamisole on bovine mastitis, metritis and foetal deaths as well as on some immunological parameters was investigated. The material of the study comprised of 6.5-month pregnant, 20 experiment and 10 control, total 30 Holstein cows from the Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş., Lüleburgaz Sarmısaklı Dairy Farm, aged between 3-7 years, weighing approximately 600 kg, with the same amount of milk production and with no mammary problems. To create immunostimulation in the experimental animals, 2.5 mg/kg of 10% Levamisole was administered I.M. once a week for a total of 6 weeks and continued until a month before parturition. The same was applied to the control group for the same length of time as 15 ml placebo. In order to evaluate clinical results, the rate of mastitis was observed by clinical examination and CMT after birth; the rate of metritis by examining the colour and odour of vaginal discharge and by rectal examination; and rates of foetal deaths were recorded in the intrauterine period, during birth and 2 months after birth. Immunological parameters were used to support clinical results. For this, blood-serum IgG levels 2 weeks before birth, on Day 1 and Day 4 after birth; colostrum-serum IgG levels on Day 1 and Day 4 after birth and blood-serum IgG levels on Day 4 and Day 14 after birth before the calves suckled colostrum following birth were measured using ELISA. Also blood smears were prepared from calves 4 days after birth and leucocyte rates were determined. While in the experimental group mastitis occurred in only 1 animal (5%), it occurred in 2 animals (20%) in the control group. While in the experimental group metritis occurred in 2 animals (10%), it occurred in 4 animals (40%) in the control group. In the experimental group foetal death occurred in 1 animal (5%), while 1 foetal death (10%) was also determined in the control group. While a significant decrease was seen in the occurrence rates of postpartum mastitis and metritis in the group to which levamisole was administered, when compared to the control group, the decrease in foetal deaths in the control group was found to be statistically insignificant ($p>0.05$). When IgG rates in ELISA results were evaluated, they were found to be higher in the experimental group compared to the control group. While the blood-serum IgG levels 2 weeks before birth and on Day 1 and Day 4 after birth of cows in the control group were 14.28 ± 0.437 mg/ml, 9.71 ± 0.328 mg/ml, 17.38 ± 0.481 mg/ml respectively; these values were 11.48 ± 0.129 mg/ml, 5.67 ± 0.308 mg/ml, 10.41 ± 0.317 mg/ml for the control group and were found to be statistically significant ($p<0.05$). When the mean colostrum-serum IgG levels immediately after birth and on Day 4 were evaluated, they were found to be 24.37 ± 0.309 mg/ml, 19.18 ± 0.171 mg/ml respectively in the experimental group and 20.18 ± 0.708 mg/ml, 15.49 ± 0.231 mg/ml in the control group. This was found to be statistically significant ($p<0.05$). When blood-serum IgG

* Birinci yazarın doktora tezinden özetlenmiştir.

* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, KARS.

** İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul.

levels of the calves were measured, they were found to be 5.45 ± 0.319 mg/ml immediately after birth before suckling colostrum, 11.65 ± 0.615 mg/ml 4 days after birth and 9.16 ± 0.411 mg/ml 14 days after birth in the experimental group. The same values were measured as 4.07 ± 0.118 mg/ml, 8.43 ± 0.316 mg/ml and 7.14 ± 0.512 mg/ml respectively in the control group. While in the control group IgG was high immediately after birth before suckling colostrum, this was not found to be statistically significant. On Day 4 and Day 14 after birth, IgG levels were found to be higher in the experimental group compared to the control group and thus statistically significant ($p < 0.05$). An increase with respect to lymphocytes was determined in the leucocyte formula; however, this was not found to be statistically significant ($p > 0.05$).

As a result, we can suggest that Levamisole can be used as an alternative and reliable drug in decreasing the occurrence rate of retentio secundinarum, mastitis and metritis in cows and increasing IgG level in both cows and calves.

Key Words: Levamisole, immunostimulant, bovine, mastitis, metritis, foetal death.

Özet: Bu çalışmada gebe ineklerde immunostimulant etkili levamizol uygulamalarının doğum sonu mastitis, metritis ve fetal ölümler ile bazı immunolojik parametreler üzerine etkisi araştırıldı. Araştırmanın materyalini Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş.'ne ait Lüleburgaz Sarmısaklı İnek Çiftliği'nde bulunan 6,5 aylık gebe, 3-7 yaşlı, ortalama 600 kg ağırlığında ve memesinde problem olmayan benzer süt verimindeki 20 deney, 10 kontrol olmak üzere toplam 30 adet Holstein ırkı inek oluşturmuştur. Deney hayvanlarında immunostimulasyon oluşturmak amacıyla %10'luk levamizol'den 2,5 mg/kg haftada bir kez toplam 6 kez i.M. uygulandı ve doğumlarına bir ay kala uygulamalara son verildi. Kontrol grubuna ise aynı zamanda 15 ml placebo uygulandı. Doğumdan sonra klinik muayene ve CMT ile mastitis, vaginal akıntının rengi, kokusu ve rektal muayene bulguları ile metritis ve intrauterin, doğum sırasında ve doğumdan sonraki 2 aylık sürede fetal ölüm oranları değerlendirildi. Klinik sonuçları desteklemek amacıyla immunolojik parametrelerden yararlanıldı. Bu amaçla ineklerden doğumdan 2 hafta önce, doğumdan sonraki 1. ve 4. gün kan-serum IgG düzeyleri, doğumdan sonraki 1. ve 4. gün kolostrum-serum IgG düzeyleri, buzağların doğumdan sonra kolostrum emmeden önce, doğumdan sonraki 4. ve 14 gün kan-serum IgG düzeyleri ELISA ile ölçüldü. Ayrıca buzağlarda doğumdan 4 gün sonra kan frotisi hazırlanarak Formül Lökosit oranları tespit edildi. Deney grubunda bir (%5) kontrol grubunda 2 hayvanda (%20) mastitis, deney grubunda 2 (%10), kontrol grubunda 4 hayvanda (%40) retentio secundinarum sonucu metritis gözlenmiştir. Deney grubunda 1 hayvanda fetal ölüm olurken (%5) kontrol grubunda da 1 tane (%10) fetal ölüm olduğu tespit edilmiştir. Levamisol uygulanan grupta doğum sonu mastitis ve metritis görülme oranlarında kontrol grubuna göre belirgin bir azalma görülürken fetal ölümlerde deney grubunda azalma olsa da istatistik olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$). ELISA sonuçlarında IgG oranları değerlendirildiğinde kontrol grubuna göre deney grubunda daha yüksek bulunmuştur. Deney grubundaki ineklerin, doğumdan iki hafta önce, bir ve 4 gün sonra kan-serum IgG düzeyleri sırasıyla 14.28 ± 0.437 mg/ml, 9.71 ± 0.328 mg/ml, 17.38 ± 0.481 mg/ml iken kontrol grubunda bu değerler 11.48 ± 0.129 mg/ml, 5.67 ± 0.308 mg/ml, 10.41 ± 0.317 mg/ml olarak tespit edildi ve aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0.05$). Doğumdan hemen sonra ve 4 gün sonra ortalama kolostrum-serum IgG düzeyleri, deney grubunda sırasıyla 24.37 ± 0.309 mg/ml, 19.18 ± 0.171 mg/ml, kontrol grubunda ise 20.18 ± 0.708 mg/ml, 15.49 ± 0.231 mg/ml olarak tespit edildi ve fark istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0.05$). Buzağların kan-serum IgG düzeylerine bakıldığında ise deney grubunda doğumdan hemen sonra kolostrum emmeden önce 5.45 ± 0.319 mg/ml, doğumdan 4 gün sonra 11.65 ± 0.615 mg/ml ve doğumdan 14 gün sonra 9.16 ± 0.411 mg/ml, kontrol grubunda aynı değerler sırasıyla 4.07 ± 0.118 mg/ml, 8.43 ± 0.316 mg/ml ve 7.14 ± 0.512 mg/ml olarak bulundu. Buzağların doğumdan hemen sonra kolostrum emmeden önce kan-serum IgG düzeyleri kontrol grubundan yüksek olmasına rağmen fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı. Doğumdan 4 ve 14 gün sonra ise IgG değerleri kontrol grubuna göre deney grubunda yüksek ve istatistiksel olarak önemli bulundu ($p < 0.05$). Formül Lökosit oranında lenfosit yönünde artış olduğu ancak aradaki farkın istatistiksel olarak önemli bulunmadığı gözlemlendi ($p > 0.05$).

Sonuç olarak gebe ineklerde Levamizol uygulamalarının doğum sonu retentio secundinarum, mastitis, metritis görülme oranını düşürmede ve hem ineklerde hem de buzağılarda IgG seviyesini yükseltmede alternatif ve güvenli bir ilaç olarak kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

Anahtar Kelimeler: Levamizol, immunostimulant, sıgır, mastitis, metritis, fetal ölüm.

Giriş

İmmunostimulasyon, bir canlının immun sistemini uyarmak olarak tanımlanabilmektedir. İmmunostimulantlarla yapılan bu uyarım, çok belirgin spesifik bir immuniter reaksiyonun artması şeklindedir (5). Levamizol, cimetidine, alpha interferon, isoprinosine, BCG'nin başlıca immunostimulant etkili ajanlar olduğu ileri sürülmektedir (24, 25, 35). Levamizol'ün immunostimulant etkisi ilk kez 1971 yılında, farelerde brucella aşısının koruyucu etkisini arttırdığı tespit edilince bildirilmiştir (1, 7, 23, 32). Levamizol'ün savunma mekanizmasına ilişkin etkisi fagositozis (1, 9, 12, 14, 16), kemotaksis (32), lenfositler (1, 6, 8, 10, 24, 27, 29), lenfokinez üretimi ve hipersensitibilenin gecikmesi (12), interferon oluşumu (12, 32), immunoglobulin seviyesi ve antikor oluşumu (7, 12, 33), sitotoksiste (20, 32), yangı ve yara iyileşmesi (32) üzerine olan bir dizi süreçler sonucu ortaya çıkmaktadır.

Plasentanın tipi ve yapısı hayvan türlerine göre büyük farklılıklar göstermektedir. Prenatal dönemde plasentadan yavruya antikor geçebilmesi, plasentanın tipi ve yapısı ile doğrudan ilişkilidir. Sindesmokorial plasenta tipine sahip ruminantlarda prenatal dönemde fütusa antikor aktarılmadığından buzağılar agamaglobulinemik veya hipogamaglobulinemik olarak doğmakta, gerekli antikorları kolostrum ve az olarak da sütle doğumdan sonra almaktadırlar (2).

Yeni doğan buzağuların yaşamlarının ilk günlerinde patojenik mikroorganizmalara karşı kendilerini savunmada bağımsızlık mekanizmasının önemi oldukça fazladır. Bu koruyucu sistemin neonatal hayvanlarda yetersiz olması, enfeksiyonlara karşı duyarlılığı artırarak hastalanıp ölümlerine neden olmaktadır (2, 17). Kolostrumun spesifik ağırlığı, kolostrumdaki ve kan serumundaki IgG konsantrasyonu, çiftlik idaresi, üreme, hayvanın yaşı, gebelik süresi, iklim gibi pek çok faktörün etkisine bağlı olmaktadır (4). Buzağı ölümlerinin, kandaki antikor miktarı ile çok yakından ilişkili olduğu, gebelerin kanında ne kadar fazla antikor bulunursa, kolostruma o kadar fazla antikor geçebilmekte ve yavruya aktarabilmektedir (2, 3, 11, 19, 34).

Bu çalışmada gebe ineklere levamizol uygulaması ile annede ve doğumdan sonra yavruya nonspesifik hücresel ve humoral immunitiyi artırarak fetal ölümlerin, mastitis ve metritis görülme oranının azaltılması amaçlandı.

Materyal ve Metot

Araştırmanın materyalini Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş.'ne ait Lüleburgaz Sarmısaklı İnek Çiftliği'nde bulunan 6.5 aylık gebe, 3-7 yaşlı, ortalama 600 kg ağırlığında ve memelerinde problem olmayan benzer süt verimindeki 30 adet Holstein ırkı inek oluşturmuştur. Çalışmaya başlamadan önce 20'si deney, 10'nu kontrol grubu olarak ayrılan ineklere genel klinik muayene, memenin ve sütün fiziksel muayenesi ve rektal muayene yapılarak sağlıklı ve 6.5 aylık gebe olanlar çalışmada kullanıldı. Çalışma süresince hayvanların immunolojik tepkilerinin farklı olmaması bakımından, aynı beslenme programında ve aynı ortamda kalmaları sağlandı, ayrıca çalışma ve kontrol grubundaki hayvanlardan klinik ve laboratuvarla ilgili veriler aynı zamanda toplandı. Keza bu süreçte materyale levamisol dışında herhangi bir ilaç ve aşı uygulaması yapılmadı.

Çalışma grubundaki hayvanlara haftada 1 kez %10'luk levamisol (Levajekt®, Vetimex (Vetifarm)) 2.5 mg/kg dozda kas içi yolla, 6 hafta boyunca uygulandı ve doğuma 1 ay kala uygulamaya son verildi. Kontrol grubundaki hayvanlara ise aynı zamanda haftada 1 kez, 6 hafta boyunca 15 ml Placebo İ.M. olarak verildi ve doğuma 1 ay kala uygulama kesildi. Bütün hayvanlardan, doğumdan iki hafta önce, doğumdan hemen sonra ve 4 gün sonra kan alınarak serumları çıkarıldı ve ölçüm yapılabildiği kadar -20°C'de saklandı. Serum IgG düzeyleri Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA) ile tespit edildi.

Çalışma ve kontrol grubundan elde edilen buzağılardan ise, doğduktan hemen sonra (kolostrumu emmeden önce), 4. günde (buzağılar kolostrumu toplam 4 gün emdi) ve 14. günde kan örnekleri alınarak serumu çıkarıldı, -20°C'de deep freeze'de saklandı ve IgG miktarı ELISA ile tespit edildi.

Ayrıca bütün ineklerden, doğumdan hemen sonra, doğumdan sonraki 4. gün, kolostrum örnekleri alınarak serumu çıkarıldı, -20°C'de deep freeze'de saklandı ve IgG miktarı ELISA ile tespit edildi. Bütün buzağuların kan örneklerinden, emdikten sonraki 4. günde froti yapılarak, May grünwald stain ile tespit edildi. Total formül lökosit sayısı hemositometrik yöntemle saptandı. Giemsa boyası ile boyandı ve immersiyon objektif altında 100 hücre sayılarak eozinofil, bazofil, monosit, lenfosit ve nötrofil sayısı değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grubundaki ineklerde memede yangı, indurasyon, ödem, kızarıklık, ağrı semptomları klinik muayene yapılarak, süt ise CMT ile 5 hafta boyunca günlük kontrollerle değerlendirildi. İneklerde fetal ölümler, intrauterin ölüm (gebelikte), doğum esnasında (güç doğuma bağlı), doğum sonrası 2 aylık olana kadarki ölümlerin hepsi fetal ölüm olarak değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grubu ineklerde retentio secundinarum gelişip gelişmediği kontrol edildi. Endometritis ise doğumdan sonra haftada 1 kez, 6 hafta boyunca rektal muayene yapılarak (Envolusyonun kontrolü) ayrıca lochial akıntının rengi, kokusu ve miktarına bakılarak değerlendirildi.

İstatistik açıdan deney, kontrol grupları ile bir önceki yılda ineklerde rastlanan mastitis, metritis, fetal ölüm oranlarını karşılaştırmak için khi-kare (χ^2) testi uygulandı. Ayrıca deney ve kontrol grupları arasında kan-serum, kolostrum-serum, buzağı kan-

serum IgG düzeyleri ve buzağuların 4. gün formül lökosit oranları için ortalama değerlerin standart hatası ve t-testi kullanıldı.

Bulgular

Çalışma süresince deney grubunda (n=20) bir klinik mastitis olgusu tespit edilmiş (%5) olup, ayrıca aynı hayvanda metritis ve genel enfeksiyon semptomlarının da şekillenmiş olduğu saptandı. Söz konusu ineğin buzağısı da zayıf doğdu ve doğumdan 1 ay sonra öldü. Kontrol grubunda (n=10) ise 2 tane mastitis olgusu (%20) gözlemlendi (Tablo 1). Deney ve kontrol grupları arasındaki mastitis görülme oran farkı χ^2 testine göre $p<0.05$ oranında önemli bulundu. Bir önceki yıl mastitis görülme oranı ise %8.4 idi. Çalışma sırasında deney grubunda 2 adet metritis olgusu (%10) tespit edildi (Tablo 2). Metritis olgularının ikisi de retentio secundinarum sonucu şekillendi. Bu olguların birinde sistemik bir enfeksiyon tablosu gözlemlendi. Kontrol grubunda ise retentio secundinarum sonucu 4 adet metritis vakası şekillendi (%40). Deney ve kontrol grubu arasındaki metritis görülme oranı farkı χ^2 testine göre $p<0.001$ oranında önemli bulundu. Bir yıl önce ise metritis görülme oranı sürü bazında %47 idi. Deney grubunda bir adet buzağı ölümü görüldü (%5). Bu buzağının zayıf doğduğu, yeteri kadar kolostrum emmediği ve enfeksiyon sonucunda öldüğü tespit edildi. Kontrol grubunda da bir adet buzağı ölümü şekillendi (%10). Gruplar karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmadı (Tablo 3). Bir önceki yılda ise bu oran %9.2 idi. Levamizol uygulanan gruptaki buzağuların, kontrol grubunda bulunan buzağulara göre tüylerinin daha parlak olduğu ve daha hızlı kilo aldıkları gözlemlendi. Deney grubundaki ineklerin, doğumdan iki hafta önce, doğum yaptığı gün (1. gün) ve 4. gün IgG düzeyleri sırasıyla 14.28 ± 0.437 mg/ml, 9.71 ± 0.328 mg/ml, 17.38 ± 0.481 mg/ml iken, kontrol grubunda bu değerler 11.48 ± 0.129 mg/ml, 5.67 ± 0.308 mg/ml, 10.41 ± 0.317 mg/ml olarak tespit edildi (Tablo 4). Gerek doğumdan 15 gün önce gerekse doğumun ilk ve dördüncü gününde kan-serum IgG düzeyleri kontrol grubuna göre deney grubunda daha yüksekti ($p<0.05$). Doğumun birinci ve dördüncü günü deney grubu ineklerde ortalama kolostrum-serum IgG düzeylerinde bir artış olduğu gözlemlendi ($p<0.05$) ve bu değerler deney grubunda sırasıyla 24.37 ± 0.309 mg/ml, 19.18 ± 0.171 mg/ml, kontrol grubunda ise 20.18 ± 0.708 mg/ml, 15.49 ± 0.231 mg/ml olarak tespit edildi (Tablo 5). Buzağuların kan-serum IgG düzeyleri deney grubunda, doğumdan hemen sonra kolostrum emmeden önce 5.45 ± 0.319 mg/ml, doğumdan 4 gün sonra 11.65 ± 0.615 mg/ml ve doğumdan 14 gün sonra ise 9.16 ± 0.411 mg/ml iken kontrol grubunda aynı değerler sırasıyla 4.07 ± 0.118 mg/ml, 8.43 ± 0.316 mg/ml ve 7.14 ± 0.512 mg/ml olarak tespit edildi (Tablo 6). Buzağuların doğumdan hemen sonra kolostrum emmeden önce deney grubunda IgG seviyesi yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p>0.05$). Dördüncü ve 14. günlerde IgG seviyesindeki artış ise istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0.05$). Deney ve kontrol gruplarındaki ineklerden doğan buzağuların 4. gün Formül Lökosit oranları incelendiğinde (Tablo 7), deney grubunun lenfosit oranı (54.55 ± 2.103) kontrol grubuna göre (41.4 ± 2.301) daha yüksek bulundu ancak aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p> 0.05$).

Tablo 1. Deney ve kontrol gruplarında gözlenen mastitis oranları.

	Deney grubu (n: 20)	Kontrol grubu (n: 10)	Daha önceki yıl mastitis sayı ve oranı (n: 250)
Mastitis görülme sayısı	1	2	21
Oran (%)	5 ^a	20 ^b	8.4 ^c

^{a, b, c}: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$, $\chi^2: 11.111$).

Tablo 2. Deney ve kontrol gruplarında gözlenen metritis oranları.

	Deney grubu (n: 20)	Kontrol grubu (n: 10)	Daha önceki yıl metritis sayı ve oranı (n: 250)
Metritis görülme sayısı	2	4	117
Oran (%)	10 ^a	40 ^b	47 ^b

^{a, b}: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($p < 0.001$, $\chi^2: 23.823$).

Tablo 3. Deney ve kontrol gruplarında gözlenen fetal ölüm oranları.

	Deney grubu (n: 20)	Kontrol grubu (n: 10)	Daha önceki yıl fetal ölüm sayı ve oranı (n: 250)
Fetal ölüm sayısı	1	1	23
Oran (%)	5 ^a	10 ^a	9.2 ^a

^a: Aynı satırda aynı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemsizdir ($p > 0.05$).

Tablo 4. Deney ve kontrol gruplarındaki inek kan-serum IgG düzeyleri (mg/ml)

Gruplar	Doğumdan 2 hafta önce		Doğumdan sonra 1. Gün		Doğumdan sonra 4. Gün	
	\bar{X}	S \bar{x}	\bar{X}	S \bar{x}	\bar{X}	S \bar{x}
Deney Grubu	14.28	± 0.437 ^a	9.71	± 0.328 ^b	17.38	± 0.481 ^a
Kontrol Grubu	11.48	± 0.129 ^b	5.67	± 0.308 ^b	10.41	± 0.317 ^b

^{a, b}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).

Tablo 5. Deney ve kontrol gruplarında inek kolostrum- serum IgG düzeyleri (mg/ml)

Gruplar	Doğumdan hemen sonra		Doğumdan sonra 4. gün	
	\bar{X}	S \bar{x}	\bar{X}	S \bar{x}
Deney Grubu	24.37	± 0.309 ^a	19.18	± 0.171 ^a
Kontrol Grubu	20.18	± 0.708 ^b	15.49	± 0.231 ^b

^{a, b}: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Tablo 6. Deney ve kontrol gruplarında doğan buzağuların kan- serum IgG düzeyleri (mg/ml)

Gruplar	Doğumdan sonra kolostrum emmeden önce		Doğumdan sonra 4. gün		Doğumdan sonra 14. gün	
	\bar{X}	S \bar{x}	\bar{X}	S \bar{x}	\bar{X}	S \bar{x}
Deney Grubu	5.45	± 0.319 ^a	11.65	± 0.615 ^a	9.16	± 0.411 ^a
Kontrol Grubu	4.07	± 0.118 ^a	8.43	± 0.316 ^b	7.14	± 0.512 ^b

^{a, b}: Aynı sütunda farklı harfi taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Tablo 7. Deney ve kontrol gruplarındaki ineklerden doğan buzağuların 4. gün formül lökosit oranları (%)*

	Lenfosit	Nötrofil	Monosit	Eozinofil	Bazofil
Deney grubu (n: 20)	54.55 ± 2.103	39.55 ± 2.024	2.8 ± 0.399	2.65 ± 0.33	-
Kontrol grubu (n: 10)	41.4 ± 2.301	52.5 ± 2.472	2.8 ± 0.346	3.1 ± 0.531	-

* (p>0.05)

Tartışma ve Sonuç

Uzun yıllardan beri at, koyun, sığır, domuz gibi çiftlik hayvanlarında yüksek sayıdaki yavru ölümleri ciddi bir problem oluşturmuştur. Bu kayıplar çoğunlukla enfeksiyöz kaynaklı olup, özellikle neonatal ve postnatal dönemlerde görülmektedir. Bu amaçla immünolojik durumu düzeltecek koruyucu yollara başvurulmaktadır (18).

Ovadia ve ark. (26) doğumdan önce dört kez 15 ml (%10'luk solüsyon) levamizol uygulanan deneme grubunda mastitis oranını %6.6, aynı grupta bir önceki yıl %33.3, kontrol grubunda ise %31.2 ve aynı grupta bir önceki yıl %12.5 olarak bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada Flesh ve ark. (13) levamizol uygulanan grupta mastitis görülme oranını %3.7, kontrol grubunda ise %9.6 olarak belirlemişlerdir. Aynı çalışmanın gebe düvelerde yapılan bölümünde doğumdan sonra mastitis görülme oranını deney grubunda %0.6, kontrol grubunda ise %13 olarak vurgulamışlardır. Ziv ve ark. (36) ineklerde kuru dönemde uygulanan levamizol'ün doğumdan sonra klinik mastitis olaylarında etkili olmadığını bildirmişlerdir. Ancak Anderson (1), Ishikawa ve Shimizu (15), Malinowski ve ark. (22) Levamizol'ün sığırlarda meme immun sistem aktivitesini artırarak, mastitisin kontrolünde kullanılabileceğini hatta bazı aşı ve antibiyotiklerle birlikte mastitisin tedavisine yönelik bir sağaltım seçeneği olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Sunulan çalışmada levamizol uygulanan deney grubunda mastitis görülme oranı %5 iken, kontrol grubunda %20 olarak tespit edilmiştir. Bu oran bir önceki yıl ise %8.4 olarak belirlenmiştir. Deney ve kontrol grupları arasındaki mastitis görülme oranı farkı χ^2 testine göre $p < 0.05$ oranında önemli bulunmuştur. Çalışmada elde edilen bulgular Ovadia ve ark. (26), Anderson (1), Ishikawa ve Shimizu (15), Malinowski ve ark. (22)'nin ileri sürdüğü levamizol uygulanan gebe ineklerde doğumdan sonra mastitis görülme oranında belirgin bir azalma olduğu görüşünü destekler niteliktedir.

Radoslavov ve ark. (28) kuruya çıkarılmış ineklerde haftada 1 kez, 6 hafta boyunca levamizol uyguladıkları deney grubunda %16.5 oranında retentio secundinarum ve %21.5 akut metritis olgusu belirlemişler, kontrol grubunda ise bu oranların sırasıyla %18.6 ve %47.8 olduğunu bildirmişlerdir. Flesh ve ark. (13) doğumdan sonra metritis görülme oranını deney grubunda %6.4, kontrol grubunda %24.3 olarak tespit etmişlerdir. Sunulan çalışmada deney grubunda retentio secundinarum ve metritis görülme oranı %10, kontrol grubunda %40, bir önceki yıl ise sürü bazında metritis görülme oranı %47 olarak saptandı. Bu bulgular Radoslavov ve ark. (28) ile Flesh ve ark. (13)'nin çalışmalarında vurguladığı gibi gebelik sırasında uygulanan levamizol'ün doğum sonrası retentio secundinarum ve metritis görülme oranını azaltıcı yönde rol oynadığını ortaya koymaktadır. Yine Flesh ve ark. (13) yaptıkları çalışmada intrauterin ölümler, güç doğum sırasındaki ölümler ve sonradan şekillenen enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz ölümler fetal ölüm olarak değerlendirilmiş, levamizol uygulanan deney grubunda bu oran % 4.8, kontrol grubunda ise %24.8 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda da fetal ölümler aynı şekilde değerlendirilmiş olup deney grubunda bu oran %5, kontrol grubunda %10 olarak saptanmıştır. Flesh ve ark. (13), gebelik sırasında levamizol uygulanması ile doğum sonrası fetal ölüm görülme oranında bir azalma olacağını ileri sürmelerine rağmen çalışmamızda deney ve kontrol grupları arasında belirgin bir fark tespit edilmemiştir.

Sunulan çalışmada deney grubundaki ineklerin, doğumdan 2 hafta önce, doğum yaptığı gün (1. gün) ve 4. gün IgG düzeyleri sırasıyla 14.28 ± 0.437 mg/ml, 9.71 ± 0.328 mg/ml, 17.38 ± 0.481 mg/ml iken, kontrol grubunda bu değerler 11.48 ± 0.129 mg/ml, 5.67 ± 0.308 mg/ml, 10.41 ± 0.317 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Deney grubundaki

ineklerin kan-serum IgG düzeylerinin, kontrol grubundakilere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Pasif immunitenin düşüklüğü, diğer bir anlatımla IgG konsantrasyonunun yetersiz oluşu, yeni doğmuş yavrularda enfeksiyonlara karşı duyarlılığı artırmaktadır. Kolostrumdaki immunolojik değerleri yükseltmek için doğal ve sentetik immunostimulantlar, özellikle IgG'yi artıran nonspesifik immunostimulantlar kullanılabilir (17-19). Çalışmada doğumun 1. ve 4. günü ortalama kolostrum-serum IgG düzeyleri deney grubunda 24.37 ± 0.309 mg/ml, 19.18 ± 0.171 mg/ml, kontrol grubunda ise 20.18 ± 0.708 mg/ml, 15.49 ± 0.231 mg/ml olarak tespit edilmiş ve her 2 grup arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer araştırmacıların (17-19) ileri sürdükleri bu konudaki görüşler ve elde edilen bulgular, gebelik sırasında levamizol uygulanan ineklerde hem kan-serum IgG hem de kolostrum-serum IgG düzeylerinde belirgin bir artış sağlanabileceğini, böylece immun sistemi güçlü olan ve bunu yavrularına aktarabilme kabiliyetine sahip anneler elde edilebileceğini göstermektedir. Postpartum dönemin ilk 6 saatinde (beslenmeden 5 saat sonra) IgG'nin %50'sinden daha fazlası emilirken, IgM'in % 40'ı ve IgA'nın sadece %30'u emilir ($IgA < IgM \leq IgG$). Bu nedenle IgG seviyesinin ölçülmesi genellikle total immunoglobulin seviyesi hakkında yeterli bilgi vermektedir (21). Sunulan çalışmada buzağuların kan-serum IgG düzeyleri, deney grubunda doğumdan hemen sonra, kolostrum emmeden önce 5.45 ± 0.319 mg/ml, doğumdan 4 gün sonra, 11.65 ± 0.615 mg/ml ve doğumdan 14 gün sonra 9.16 ± 0.411 mg/ml iken kontrol grubunda aynı değerler sırasıyla 4.07 ± 0.118 mg/ml, 8.43 ± 0.316 mg/ml ve 7.14 ± 0.512 mg/ml olarak tespit edilmiştir. Doğumdan hemen sonra, kolostrum emmeden önce deney grubundaki buzağuların kan-serum IgG seviyesi, kontrol grubundakilere göre rakamsal olarak yüksek çıkmasına rağmen aradaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmadı. Deney ve kontrol gruplarındaki buzağuların, doğumdan sonraki 4. ve 14. günlerde ölçülen kan-serum IgG seviyeleri arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli bulundu ($p<0.05$). Elde edilen bulgulara göre gebelik sırasında uygulanan levamizol, ineklerde kan-serum IgG ve kolostrum IgG seviyelerinde belirgin bir artış sağlamak ancak plasentadan geçerek yavrunun da immun sistemini uyarmakta yeterli olmamaktadır. Yine elde edilen bulgular, annenin sahip olduğu immun potansiyelin, yavruya aktarılmasında kolostrumun önemini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Strohmaier ve ark. (31) deneysel olarak Bovine Viral Diarrhea (BVAV) enfeksiyonu oluşturulmuş buzağulara levamizol uygulamışlar, deney ve kontrol gruplarının kan parametreleri arasında önemli bir farklılığın olmadığını bildirmişler ancak Saperstein ve ark. (30) yaptıkları aynı çalışmada levamizol uygulanan deney grubundaki buzağuların lökosit sayılarında artış olduğunu, ayrıca kontrol grubunda saptanan lenfopeni'nin deney grubunda görülmediğini ileri sürmüşlerdir. Sunulan çalışmada deney ve kontrol gruplarındaki ineklerden doğan buzağuların, doğumdan sonraki 4. gün formül lokosit oranları incelendiğinde, deney grubunda lenfosit oranı ($\%54.55\pm 2.103$) kontrol grubuna ($\%41.4\pm 2.301$) göre daha yüksek bulundu ancak istatistiksel olarak önemli bulunmadı ($p>0.05$). Çalışmadaki bu bulgular levamizol'ün

hücre sel bağışıklıkta pozitif rolü olmadığını savunan araştırmacıların (32) görüşlerini destekler niteliktedir.

Sonuç olarak gebe ineklere levamisol 2.5 mg/kg dozda, haftada bir kez, 6 hafta boyunca, doğuma bir ay kalana kadar uygulandığında, doğum sonrası mastitis, metritis görülme oranında önemli bir azalma ve hem ineklerde hem de buzağuların IgG seviyelerinde belirgin bir yükselme sağlanabileceği kanısına varılmıştır. Bundan dolayı postpartum dönemde gelişen puerperal hastalıkların ve enfeksiyonlara bağlı buzağı ölümlerinin azaltılmasında levamisol'ün diğer tedavi yöntemlerine alternatif olarak kullanılabilmesi söylenebilir.

Kaynaklar

1. **Anderson, J.C.:** Levamisole and bovine mastitis. The Veterinary Record, 1984; February 11: 138-140.
2. **Arda, M.:** Meme Dokusunun ve Sekresyonlarının İmmünolojik Fonksiyonları; Neonatal Bağışıklık. In: Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker KS (eds). İmmünoloji. Medisan, Ankara. 1994; 107-118.
3. **Arthington, J.D., Cattell, M.B., Quigley, J.D.:** Effect of dietary IgG source (Colostrum, serum or milk-derived supplement) on the efficiency of Ig absorption in newborn Holstein calves. J. Dairy Sci., 2000; 83 (7): 1463-1470.
4. **Aydın, N.:** İmmünostimulasyon ve İmmünostimulantlar; İmmunomodulasyon ve İmmunomodulatorler. In: Arda M, Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker KS (eds). İmmünoloji. Medisan, Ankara. 1994; 291-304.
5. **Babiuk, L.A., Misra, V.:** Effect of levamisole in immune responses to bovine herpesvirus-1. Am. J. Vet. Res., 1982; 43 (8): 1349-1354.
6. **Block, E., McDonald, W.A., Jackson, B.A.:** Efficacy of levamisol on milk production of dairy cows: A Field Study. J. Dairy Sci., 1987; 70: 1080-1085.
7. **Brunner, C.J., Muscoplat, C.C.:** Immunomodulatory effect of levamisole. JAVMA, 1980; 176, 10 (2): 1159-1161.
8. **Conner, J.G., Eckersall, P.D., Doherty, M., Douglas, T.A.:** Acute phase response and mastitis in the cow. Research in Veterinary Science, 1986; 41: 126-128.
9. **Delespesse, G., Vrijens, R., Maubeuge, J., Hudson, D., Kennes, B.:** Influence of levamisole on the immune response of old people. Int Archs. Allergy Appl. Immun., 1977; 54: 151-7.
10. **Dinç, A.:** Evcil Hayvanlarda Memenin Deri Hastalıkları, Dolaşım Bozuklukları ve Operasyonları. Konya, 1995.
11. **Eisenhauer, P., Lambrecht, K., Petzoldh, K., Henkel, E.:** Comparison of nephelometry and single radial immunodiffusion for the determination of IgG and IgM concentrations in newborn foal and their dams. Zbl. Vet. Med., 1984; 31: 481-486.
12. **Euzeby, J.P.:** Propriétés immunostimulantes du levamisole. Revue. Med. Vet., 1986; 137 (6) 417-426.

13. **Flesh, J., Harel, W., Nelken, D.:** Immunopotentiating effect of levamisole in the prevention of bovine mastitis, fetal death and endometritis. *The Veterinary Record*, 1982; 17: 56-57.
14. **Hennessy, K.J., Blecha, F., Pollmann, D.S., Kluber, E.F.:** Isoprinosine and levamisole immunomodulation in artificially reared neonatal pigs. *Am. J. Vet. Res.*, 1987; 48 (3): 477-9.
15. **Ishikawa, H., Shimizu, T.:** Depression of B-lymphocytes by mastitis and treatment with levamisole. *J. Dairy Sci.*, 1983; 66 (3): 556-561.
16. **Jeney, G., Anderson, D.P.:** Enhanced immune response and protection in rainbow trout to *Aeromonas salmonicida* bacterin following prior immersion in immunostimulants. *Fish & Shellfish Immunology*, 1993; 3 (1): 51-58.
17. **Kohn, C.W., Knight, D., Hueston, W., Jacobs, R., Reed, S.M.:** Colostral and serum IgG, IgA, and IgM concentrations in standardbred mares and their foals at parturition. *JAVMA*, 1989; 195 (1): 64-68.
18. **Krakowski, L., Krzyzanowski, J., Wrona, Z., Siwicki, A.K.:** The effect of nonspecific immunostimulation of pregnant mares with 1.3/1.6 glucan and levamisole on the immunoglobulins levels in colostrum, selected indices of nonspecific cellular and humoral immunity in foals in neonatal and postnatal period. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 1999; 68 (1): 1-11.
19. **LeBlanc, M.M., Tran, T., Baldwin, J.L., Pritchard, E.L.:** Factors that influence passive transfer of immunoglobulins in foals. *JAVMA*, 1992; 200 (2): 179-183.
20. **Leitner, G., Yadliin, B., Glickman, A., Chaffer, M.:** Systemic and local immune response of cows to intramammary infection with staphylococcus aureus. *Research in Veterinary Science*, 2000; 69 (2): 181-184.
21. **Logan, E.F., McMurray, C.H., Neill, D.G.O., McParland, P.J., Merory, F.J.:** Absorption of colostrum immunoglobulins by the neonatal calf. *Br. Vet. J.*, 1978; 134: 258-262.
22. **Malinowski, E., Klossowska, A., Markiewicz, H., Szalbierz, M., Biegala, T.:** Terapia i profilaktyka mastitis za pomocą różnych leków w okresie zasuszenia. *Medycyna Wet.*, 1993; 49 (9): 400-402.
23. **Massaro, A.R., Cioffi, R.P., Laudisio, A., Schiavino, D., Mariani, M.:** Four year double-blind controlled study of levamisole in multiple sclerosis. *J. Neural. Sci.*, 1990; 11: 595-9.
24. **Mulcahy, G., Quinn, P.J.:** A new of immunomodulators and their application in veterinary medicine. *J. Vet. Pharmacol Therap.*, 1986; 9: 119-139.
25. **Mulcahy, G., Quinn, P.J., Hannan, J.:** The effect of isoprinosine and levamisole on factors relevant to protection of calves against respiratory disease. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 1991; 14: 156-169.
26. **Ovadia, H., Flesh, J., Nelken, D.:** Prevention of bovine mastitis by treatment with levamisole. *Israel J. Med. Sci.*, 1978; 14 (3): 394-396.
27. **Ozan, K., Şener, S., Keleş, O., Yıldırım, M., Gürel, A., Özcan, M.:** Tavuklarda hücresel immun yanıt üzerine Levamisol'ün etkisi. *Pendik Vet. Mik. Derg.*, 1993; 24 (2): 175-183.

28. **Radoslavov, V., Buradaro, I., Konstantinov, I.:** Influence of levamisole on the puerperium in cows. *Vet. Sibirka.*, 1987; 85 (1): 12-13.
29. **Roberson, E.L.:** Antinematodal Drugs. In: Booth NH, McDonald LE (eds). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa State University Press/Ames, 1988; 897-902.
30. **Saperstein, G., Mohanty, S.B., Rockemann, D.D., Russek, E.:** Effect of levamisole on induced bovine viral diarrhoea. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1983; 183 (4): 425-427.
31. **Strohmaier, J.E., Mohanty, S.B., Robl, M.G., Rockemann, D.D.:** Effect of a single therapeutic dose of levamisole on bovine viral diarrhoea virus infection in calves. *Microbiologica*, 1985; 8 (4): 339-346.
32. **Symoens, J., Rosenthal, M.:** Levamisole in the modulation of the immune response: The current experimental and clinical state. *Journal of the Reticuloendothelial*, 1977; 21 (3): 175-207.
33. **Şanlı, Y.:** Veteriner Farmakoloji Kemoterapotik İlaçlar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları No: 412 Ders Kitabı, Ankara, 1988; 483-490.
34. **Tizard, I.:** *Veterinary Immunology An Introduction*. 4. ed. WB Saunders, Mexico, 1992.
35. **Yip, D., Strickland, A.H., Karapetis, C.S., Hakins, C.A., Harper, P.G.:** Immunomodulation therapy in colorectal carcinoma. *Cancer Treatment Reviews*, 2000; 26 (3): 169-190.
36. **Ziv, G., Storper, M., Saran, A.:** The effect levamisole therapy during the dry period on clinical and subclinical bovine mastitis. *Refuah Veterinarith.*, 1981; 38 (3): 108-1.