



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2010; 24 (1): 43 - 46
http://www.fusabil.org

Yeni Doğan Buzağlarda Çeşitli Hematolojik ve Biyokimyasal Parametreler İle Kolostral İmmun Globulinler Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi*

Duygu ÇAKIROĞLU¹
Yücel MERAL¹
Didem PEKMEZCİ¹
E. Emek ONUK²
Güvenç GÖKALP¹

¹Ondokuz Mayıs
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
Samsun, TÜRKİYE

²Ondokuz Mayıs
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Klinik Öncesi Bilimler
Bölümü,
Samsun, TÜRKİYE

Bu çalışmada yeni doğan buzağlarda kolostrum alımını takiben serum immunoglobulin seviyeleri ile serum γ -glutamiltransferase (GGT) seviyesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Bu amaçla 30 adet yeni doğan buzağıdan, doğumu takiben ve 24 saat sonra, kan örnekleri alınarak, kan sayımı yapılmış ayrıca total protein, serum GGT ve serum alkaline fosfataz (AP) ve Kuantitatif ELISA yöntemiyle total immunoglobulin G ve total immunoglobulin M oranları belirlenmiştir. Alkalen fosfataz (AP) ve Total protein düzeyleri açısından iki örnekleme arasında herhangi bir farklılık saptanmazken, buzağların immunoglobulin M ve G düzeyleri ile serum GGT düzeylerinde ise 0. gün ve 1. günler arasında istatistik olarak önemli bir farklılık gözlenmiştir.

Sonuç olarak, bu araştırmanın verileri, serum GGT düzeyinin yeni doğan buzağlarda immunoglobulin absorpsiyonu açısından bir indikatör olarak kabul edilebileceği görüşünü destekler niteliktedir.

Anahtar kelimeler: Buzağı, GGT, kolostrum, immunoglobulin.

Demonstration of Relationship Between Variative Haematological and Biochemical Parameters and Immunoglobuline of Colostrum in Newborn Calves

In this study, relationship between the γ -glutamiltransferase (GGT) and immunoglobuline levels of newborn calves was investigated. Blood samples was obtained from 30 calves following birth and 24 hours after birth. Total blood counts were performed. In addition to this, detections of total protein, serum GGT and serum alkaline phosphatase (AP) and also determination of total immunoglobuline G and total immunoglobuline M levels were performed by quantitative ELISA method. A significant difference could not be observed regarding to AP and total protein levels. However, significant differences were observed in 0 day and 1st day with regard to immunoglobuline M and G, and serum GGT levels.

In conclusion, according to data of this study we could say that serum GGT level can be accepted as an indicator of immunoglobuline absorbtion in neonatal calves.

Keywords: Calf, GGT, colostrum, immunoglobuline.

Giriş

Ruminantlarda plasenta, immunoglobulinlerin (Ig) anneden yavruya geçişini engellemektedir (1). Buzağlar hipo ya da agammaglobulinemik doğarlar. Pasif immunitenin sağlanabilmesi, kolostrum ile anneden immunoglobulin almaları yoluyla gerçekleşir. Pasif transferi etkileyen en önemli faktörler arasında kolostral immunoglobulinler (Ig), ilk kolostrum alma zamanı ve alınan immunoglobulinlerin miktarı yer almaktadır (2). Doğumdan 24 saat sonra, buzağların immunoglobulinleri sindirme kapasiteleri dramatik olarak azaldığından, doğum sonrasında hemen kolostrum almaları oldukça önemlidir (3,4). Buzağlar, kendi immunoglobulinlerini yaklaşık 10 günlükken üretmeye başlarlar ve 8 hafta sonunda normal Ig seviyelerine ulaşırlar (5).

Buzağların doğumdan 24 ve 48 saat sonrasında kan IgG seviyelerinin 10 mg/ml'den az olduğu durumlar "Pasif Transfer Yetmezlik" (PTY) olarak tanımlanmaktadır (6). PTY'liği olan buzağların hastalıklara yakalanma ve ölüm oranları, ilk iki aylık dönemde yeterli bağışıklığa erişmiş buzağlara göre daha yüksek olmaktadır. PTY'nin nedenleri arasında, kolostrumun geç verilmesi, buzağının kalitesiz kolostrumla beslenmesi, emilen kolostrumun Ig konsantrasyonu ve annenin yaşı, kolostrumu depolama, annenin ırkı ve buzağlarda şekillenen respiratorik asidozis gibi faktörler bulunmaktadır (6).

PTY, yetiştiriciliğin tipi ve hayvana göre değişmekle birlikte genellikle %10 ve bazı sürülerde %40'a kadar yükselebilen oranlarda görülen bir problemdir. Ölüm oranı bu buzağlarda, yeteri kadar immunoglobulin alabilen buzağlara kıyasla 3 ile 10 kat daha fazla olmaktadır. Enfeksiyonlardan ölen buzağların %90'ında PTY söz konusudur (2).

* Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından, VET-062 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Geliş Tarihi : 03.03.2010
Kabul Tarihi : 15.03.2010

Yazışma Adresi Correspondence

Duygu ÇAKIROĞLU
Ondokuz Mayıs
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
İç Hastalıklar Anabilim Dalı,
Samsun - TÜRKİYE

duyguc@omu.edu.tr

Enfeksiyöz hastalıklar, 3 günden büyük buzağılardaki mortalite ve morbidite sebeplerinin başında gelmektedir. Son otuz yılda, neonatal morbidite ve mortalite oranları, düşük serum immunoglobulin seviyelerine ya da diğer bir deyişle buzağılarda tanımlanan PTY'liğe bağlanmaktadır (7). Bu nedenle kolostrum kalitesinin hızlı ve kolay bir şekilde tespit edilmesi gerekmektedir. Kolostrum kalitesini belirlemede sayısız metot bulunmakla birlikte bunlardan en kolay uygulanabilir olanı, "Kolostrometre" adı verilen bir araç kullanılarak yapılanıdır (8).

Kolostrometre kolostrumun spesifik gravitesini ölçer ve temelde istatistiksel bir ilişkiyi baz alarak total gammaglobulin seviyesini değerlendirir. Kolostrometre, kolostrumdaki IgG konsantrasyonlarını belirlemede yaygın olarak kullanılmaktadır (8).

Pasif transfer yetmezliğini ölçmek için kolostrometrik yöntem dışında birçok teknik mevcuttur. Radial immunodiffusion ve enzymlerle-linked immunosorbant assay (ELISA) gibi teknikler direkt olarak serum IgG konsantrasyonlarını ölçmektedir. Refraktometre ile total serum solids (TS) ölçümü, sodyum sülfid türbidite testi, çinko sülfat türbidite testi, serum gama-glutamyl transferase aktivitesi ve tam-kan gluteraldehit koagülasyon test teknikleri ise serum IgG konsantrasyonunu indirekt olarak ölçmektedir (9).

GGT, başka pek çok organın yanı sıra meme bezlerindeki duktal hücrelerden de üretilir ve bundan dolayı kolostrumda bulunur. GGT seviyesinin kolostrumun sindirilmesinden hemen sonra hızla yükseldiği tespit edilmiştir. 24 saat sonunda ise GGT seviyelerindeki azalma sonraki 2 aya kadar kademeli bir şekilde devam etmektedir. Bu bulgular sonucunda, buzağılardaki serum GGT aktivitesindeki artışın kolostrumun sindirilmesinden kaynaklandığı ve serum GGT seviyesi ile serum immunoglobulin seviyesi arasında bir korelasyon olduğu düşünülmektedir (6).

Bu çalışmanın amacı, buzağı yaşama oranını etkileyen başlıca parametre olan immunoglobulin seviyesinin tespitinde kullanılan yöntemlerden farklı olarak daha ekonomik ve hızlı bir parametre olarak serum GGT seviyesinin kullanılma ihtimalinin araştırılmasıdır. Bu amaçla buzağuların doğum sonrası 1 ve 24. saatlerdeki kan sayımı, serum total protein, GGT, AP ve serum immunoglobulin G ve M seviyeleri belirlenecektir.

Gereç ve Yöntem

Araştırmada, Samsun Gelemen'de bulunan AKSA Tarım İşletmeleri'nde yetiştirilen 30 adet Holstein inekten doğan 19 adet dişi (n=19) ve 11 adet erkek (n=11), toplam 30 adet Holstein ırkı yenidoğan buzağı kullanılmıştır. Buzağuların seçiminde normal doğum zamanında ve normal doğum yöntemiyle doğmuş olmaları ve klinik olarak sağlıklı olmaları esas alınmıştır.

Tüm buzağılardan, doğumdan hemen sonraki 1 saat içinde kolostrum almadan ve 24 saat sonra vena

jugularis yoluyla heparinli tüplere 2 cc ve düz kan tüplerine 5 cc kan alınmıştır.

Heparinli tüplere alınan kan örnekleri, numune toplanmasından hemen sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı Laboratuvarında, Abacus Vet Junior cihazıyla çalışılmış ve kan sayımı sonuçları (WBC, LYM, MONO, GRA, LY%, MONO%, GR%, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDWc, PLT, PCT, MPW, PDWc) kayıt edilmiştir.

Kan tüplerine alınan diğer örnekler santrifüje edilerek serumları ayrılmış ve bu serumlar dondurulmuştur. Çalışılacak serumlar çözülürldükten sonra, total protein, serum γ -glutamyltransferase (GGT) ve serum alkaline fosfataz (AP) seviyeleri tespit edilmiştir. Serum biyokimyasal parametreler Vet-Test otoanalizör cihazıyla çalışılmıştır.

Serum immunoglobulin seviyeleri, Kuantitatif ELISA yöntemiyle çalışılmıştır. Total immunoglobulin G seviyesini belirlemek amacıyla Bovine IgG ELISA Quantitation kit (Bethyl Laboratories Inc.) ve total immunoglobulin M seviyesini belirlemek amacıyla da Bovine IgM ELISA Quantitation kit (Bethyl Laboratories Inc.) kullanılmıştır. Çalışma test prosedürüne göre yürütülerek, sonuçlar ELISA reader cihazında (Digital and Analog Systems S.R.L.), 450 nm'de okunmuştur.

Çalışma sonuçlarında mevsim etkisi oluşumunun önüne geçmek için tüm örnekler Temmuz ve Ağustos ayları içinde alınmıştır.

Kan parametreleri ve serum Alkalen fosfataz (AP), Total protein (TP), IgM, IgG ve GGT düzeyleri'nin 0. ve 1. gün ölçümleri arasındaki farklılıklar parametrik dağılım gösteren gözlemler için eşleştirilebilen örneklerin testi esasına dayalı eşleştirilebilen t testi ile karşılaştırılmıştır. Parametrik dağılmayan gözlemlerin ortalamaları ise Wilcoxon ilişkili iki örneklem testi ile karşılaştırılmıştır (10).

Bulgular

Tablo 1'de buzağuların doğumdan hemen sonraki ve 1.gün deki kan sayım sonuçları verilmiştir. Tüm kan sayım parametreleri açısından, 0. gün ve 1.gün değerleri mukayese edildiğinde, akyuvar sayısı dışında diğer parametrelerde istatistiki olarak anlamlı bir farklılık olmadığı, fakat akyuvar sayısında 0 ve 1. günler arasında önemli bir farklılık olduğu görülmektedir.

Tablo 2'de Buzağuların 0. ve 1. gün serum Alkalen fosfataz (AP) ve Total protein düzeyleri verilmiş ve iki örnekleme arasında herhangi bir farklılık saptanmamıştır. Aynı tabloda buzağuların 0. gün ve 1.gün immunoglobulin M ve G düzeyleri ile serum GGT düzeyleri görülmektedir. Bu sonuçlara göre İmmunoglobulin M ve İmmunoglobulin G düzeyleri açısından 0. gün ve 1. günlerde istatistiki olarak önemli bir farklılık gözlenirken, aynı durum GGT düzeyi için de geçerlidir.

Tartışma

Doğumdan hemen sonra akyuvar sayısının, yetişkin referans değerlerin üzerinde olduğu, fakat bu zamandan sonra referans değer sınırları içine düşeceği çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (11, 12). Bir stres lökogram olarak değerlendirilebilecek olan bu duruma

bizim çalışmamızda da rastlanmıştır. Total kan sayımı içerisinde, diğer parametrelerde istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiş, fakat akyuvar sayısında 0 ve 1. günler arasında önemli bir farklılık oluşmuş ve doğum sonrası alınan numunelerde referans değerlerin oldukça üzerinde akyuvar sayısı kaydedilmiştir.

Tablo 1. Buzağılarda 0. ve 1. gün kan sayım sonuçları.

PARAMETRE	0.GÜN (N=30) X±SX	1.GÜN (N=30) X±SX	İSTATİSTİKİ ÖNEM DERECESESİ
WBC (10 ⁹ /L)	12.1±2.2	8±2	*
LYM (10 ⁹ /L)	3.1±1	2.7±1.2	ÖD
GRA (10 ⁹ /L)	8±1	5.2±1	ÖD
RBC (10 ¹² /L)	5.9±1.2	6.2±1.4	ÖD
HGB (g/dl)	8.7±1.7	9.2±0.8	ÖD
HCT (%)	34±2.4	32±2	ÖD
PLT (10 ⁹ /L)	218±17	248±24	ÖD

*P<0.05; ÖD; Önemli Değil

Tablo 2. Buzağılarda 0. ve 1. gün serum Alkalen fosfataz (AP), Total protein (TP), IgM, IgG ve GGT düzeyleri.

PARAMETRE	0.GÜN (N=30) X±SX	1.GÜN (N=30) X±SX	İSTATİSTİKİ ÖNEM DERECESESİ
AP (IU/L)	114±7.6	92±27	ÖD
TP (g/L)	48.7±6.3	45.8±7.6	ÖD
IgM(mg/100ml)	13,94±5,37	547,66±182,97	***
IgG(mg/100ml)	832,27±221,72	5653,60±1359,82	***
GGT(U/L)	28,4±11,35	192,5±28,44	***

*** P<0.001; ÖD; Önemli Değil

Çalışmada her iki örneklemeden elde edilen serum AP ve total protein düzeyleri arasında herhangi bir farklılık saptanmamış ve her iki parametrenin de referans değerler içerisinde olduğu tespit edilmiştir (13).

Morin ve ark.'larının (14), sütçü ineklerin kolostral spesifik gravitelerini etkileyen ırk, laktasyon sayısı, doğum ayı ve yılı gibi faktörleri inceledikleri çalışmada, sonbahar aylarında buzağılayan, üçüncü veya sonraki laktasyondaki Holstein ve Jersey ırkı ineklerin en yüksek kolostral spesifik ağırlıklarına sahip olduklarını ortaya koymuşlardır. Buna karşın, yaz aylarında buzağılayan, birinci veya ikinci laktasyondaki, İsviçre esmeri ve Ayrshire ırkı ineklerin ise kolostral spesifik ağırlıklarının en düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. Bu ve benzeri literatürlere dayanılarak, çalışmamızda mevsim etkisinin bertaraf edilmesi amacıyla numunelerin hepsi Temmuz ve Ağustos ayları içerisinde toplanmıştır.

Araştırmamızda, immunoglobulin M ve immunoglobulin G düzeyleri açısından 0. gün ve 1. günlerde istatistiki olarak önemli bir farklılık gözlenmiştir. Bu durum kolostrum alındığının ve herhangi bir absorpsiyon bozukluğu olmadığına bir göstergesidir. Genel kanı, kolostrumdaki azami immunoglobulin düzeyine 24-48 saat içinde ulaşıldığıdır (15). Benzer olarak bu çalışmada da 24 saat sonra yapılan ölçümlerde kolostrumla alınan immunoglobulinlerin serum yansımaları açık bir şekilde görülmektedir.

GGT, başka pek çok organın yanı sıra meme bezlerindeki duktal hücrelerden de üretilir ve bundan dolayı kolostrumda bulunur. Serum GGT düzeyi ile immunoglobulin seviyeleri arasındaki ilişki çeşitli ruminant türlerinde incelenmiştir. Lombardi ve ark., buffaloda GGT ve gammaglobulin konsantrasyonu arasında önemli bir korelasyon gözlemiştir. Pauli (16), ise kolostrum alan normal kuzuların serum GGT seviyelerinin, yetişkin koyunlardan 140 kat fazla olduğunu, buna karşın kolostrum almayan kuzuların serum GGT aktivitesinin erişkin koyunlara eşdeğer olduğunu ortaya koymuştur.

Buzağılarda da benzer bir durum izlenmektedir. Genel olarak serum GGT düzeyi, yeni doğan buzağılarda immunoglobulin absorpsiyonu açısından bir indikatör olarak kabul edilmektedir (9, 17, 18). Çünkü, bu enzim kolostrumda konsantre olarak bulunur. Kolostrum almış danalarda serum GGT aktivitesi erişkin sığırlardan 60-160 kat fazladır. Kolostrum almayan danalarda serum GGT aktivitesi erişkin sığırlara benzer, bu nedenle pasif transferin ölçülmesinde GGT enzim aktivitesi önemli rol oynar (19). Bu çalışmada elde edilen bulgular da, yukarıdaki araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermekte olup, kolostrum alınmasını takiben serum immunoglobulin seviyelerindeki yükselmeye paralel olarak, serum GGT seviyesinde de önemli bir artış tespit edilmiştir.

Buna karşın Perino ve ark.'ları (20), kolostrumu sindiren 48 buzağıda serum GGT aktivitelerinde artış

şekillendiğini göstermiştir, fakat serum GGT aktiviteleri ile IgG seviyeleri arasındaki ilişkinin düşük düzeyde olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca Wilson ve ark.'nın (21) 69 etçi buzağında yapmış oldukları çalışmada serum GGT aktivitesinin pasif transfer yetmezliğini ortaya koymada faydalı olduğu doğrulanamamıştır. Bu sonuçlarda, immunoglobulin ölçüm metodundaki farklılıkların yanı sıra, kolostrum emilmesinde oluşması muhtemel sorunlar rol oynayabilir.

Sonuç olarak, bu araştırmanın verileri, serum GGT düzeyinin yeni doğan buzağlarda immunoglobulin

Kaynaklar

1. Arguello A, Castro N, Capote J. Evaluation of a color method for testing immunoglobulin G concentration in goat colostrum. *J Dairy Sci* 2005; 88(5): 1752-1754.
2. Abel Francisco SF, Quigley JD. Serum immunoglobulin concentrations after feeding maternal colostrum or maternal colostrum plus colostrum supplement to dairy calves. *Am J Vet Res* 1993; 54(7): 1051-1054.
3. Zarrili A, Micera E, Lacarpia N et al. Evaluation of ewe colostrum quality by estimation of enzyme activity levels. *Revue Med Vet* 2003;154(8-9): 521-523.
4. Courtney AK, Epperson WB, Wittig TA, et al. Defining failure of passive transfer in South Dakota beef calves. *AES 113th Annual Report*, 2000.
5. Hopkins FM, Dean DF, Greene W. Failure of passive transfer in calves: comparison of field diagnosis methods. *Modern Veterinary Practice* 1984; 625-628.
6. Weaver DM, Tyler FW, Vanmetre DC, et al. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *J Vet Intern Med* 2000; 14: 569-577.
7. Basoglu A, Camkerten I, Sevinc M. Serum Immunoglobulin concentrations in diarrheic calves and their measurement by single radial immunodiffusion. *Israel Vet Med Assoc* 1999; 54(1): 9-10.
8. Quigley JD. Using the colostrometer to measure colostrum quality. <http://www.calfnotes.com/pdf/files/CN022.pdf> 2001/15.10.2009.
9. Wesselink R, Stafford KJ, Mellor DJ, et al. Colostrum intake by dairy calves. *NZ Vet J* 1999; 47: 31-34.
10. John, P.W.M. Statistical design and analysis of experiments (Classics in Applied Mathematics No 22.) Publisher: Society for Industrial Mathematics, 1999.
11. Knowles TG, Edwards JE, Bazeley KJ, et al. Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Veterinary Record* 2000; 147: 593-598.
12. Zanker IA, Hammon HM, Blum JW. Delayed feeding of first colostrums: are there prolonged effects on haematological, metabolic and endocrine parameters and on growth performance in calves? *J Anim Physiol and Anim Nut* 2001; 53-66.
13. Turgut K. Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis. Bahçivanlar Basım Sanayi, 2000.
14. Morin DE, Constable PD, Maunsell FC, et al. Factors associated with colostral specific gravity in dairy cows. *J Dairy Sci* 2001; 84: 937-943.
15. Bradley JA. Serum Immunoglobulin levels in suckled beef calves: Quantity or quality? *Can Vet J* 1985; 26(3): 118-119.
16. Pauli JV. Colostral transfer of gamma glutamyl transferase in lambs. *New Zealand Veterinary Journal* 1983; 31(9): 150-151.
17. Stafford KJ, Mellor DJ, Todd SE et al. The physical state and plasma biochemical profile of young calves on arrival at a slaughter plant. *NZ Vet J*, 2001; 49: 142-149.
18. Braun JP, Tainturier D, Laugier C, et al. Early variations of blood plasma gamma-glutamyl transferase in newborn calves - a test of colostrum intake. *J Dairy Sci.* 1982; 65: 2178-2181.
19. Bilal T. Yeni Doğanların İç Hastalıkları, İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4657, Veteriner Fakültesi Yayın No:25, İstanbul: 2007: 132-433.
20. Perino LJ, Sutherland RL, Woollen NE. Serum γ -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* 1993; 54: 56-59.
21. Wilson LK, Tyler JW, Besser TE, et al. Prediction of serum G₁ concentration in beef calves based on age and serum gamma glutamyl transferase activity. *J Vet Intern Med* 1999;13: 123-125.