



Gebe Sığırlarda İnaktif *Escherichia coli* Aşısının Kolostrum ve Buzağı Kan Serumlarındaki IgG Seviyelerine Etkileri [*]

Sinan SANCAK Timur GÜLHAN*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye

Geliş/Received: 25.02.2021

Kabul/Accepted: 28.04.2021

Yayın/Published: 28.09.2021

Atf yapmak için: Sancak, S. & Gülhan, T. (2021). Gebe Sığırlarda İnaktif *Escherichia coli* Aşısının Kolostrum ve Buzağı Kan Serumlarındaki IgG Seviyelerine Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(3), 318-324.

How to cite: Sancak, S. & Gülhan, T. (2021). Effects of Inactive *Escherichia coli* Vaccine on IgG Levels in Colostrum and Calf Blood Serum in Pregnant Cattle. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(3), 318-324.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-4798-1427>
ID: <https://orcid.org/0000-0001-6768-1048>

***Sorumlu yazarın:**

Timur GÜLHAN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner
Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı,
55220 Atakum, Samsun, Türkiye
✉: timur.gulhan@omu.edu.tr

Öz: Bu çalışmada, gebe sığırlara uygulanan inaktif *Escherichia (E.) coli* aşısının kolostrum ve buzağı kan serumlarındaki immunoglobulin (Ig) G seviyelerine olan etkisinin araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, gebeliklerinin farklı dönemlerindeki sığırlara (son 60 ve 30 gün) ticari bir inaktif *E. coli* aşısı uygulandı. Aşılardan sığırların kolostrumu ve bu kolostrumlarla beslenen buzağuların kan serumlarındaki IgG seviyeleri ELISA ile incelendi. Aşılama grupları ve kontrol grubu arasında IgG seviyelerindeki farklılıklar ölçülerek, gruplar arasındaki IgG değerleri karşılaştırıldı. Kolostrum örneklerine ait veriler incelendiğinde, kontrol grubu ile tek doz ve iki doz aşılardan hayvanlara ait IgG seviyeleri arasındaki farkın önemli ($p < 0,001$) olduğu belirlendi. Benzer şekilde buzağı serumlarına ait veriler değerlendirildiğinde; tek doz ve iki doz aşı yapılan sığırların buzağularında ölçülen kan serum IgG değerlerinde kontrol grubuna göre önemli oranda artış tespit edildi ($p < 0,001$). Diğer yandan kontrol grubundaki 7 buzağının tamamında (%100), tek doz aşılardan sığırlara ait 7 buzağının 5'inde (%71,4) pasif transfer yetersizliği (PTY) görülürken, iki doz aşılardan 7 buzağının hiçbirinde PTY belirlenemedi. Böylece aşılardan hayvanlarda PTY oranlarında önemli oranda düşüş sağlanmış oldu. Sonuç olarak, gebe sığırlara uygulanan inaktif *E. coli* aşısı ile oluşturulan immun yanıtın pasif olarak buzağulara transfer edildiği, gebe sığırların gebeliklerinin son 60 ve 30. gününde iki doz aşılamanın, tek doz aşılama göre daha etkili olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar kelimeler: ELISA, inaktif *E. coli* aşısı, IgG, kan serumu, kolostrum, sığır.

Effects of Inactive *Escherichia coli* Vaccine on IgG Levels in Colostrum and Calf Blood Serum in Pregnant Cattle

Abstract: In this study, it was aimed to investigate the effect of inactive *E. coli* vaccine administered in pregnant cattle on immunoglobulin (Ig) G levels in colostrums and calf blood sera. For this purpose, a commercial inactive *E. coli* vaccine was administered in cattle at different stages of their pregnancy (last 60 and 30 days). The colostrums of vaccinated cattle and IgG levels in blood serum of calves fed with these colostrums were analyzed by ELISA. Differences in IgG levels between vaccination groups and control groups were measured and IgG values between groups were compared. When the data of the colostrum samples were evaluated the differences among control group, animals vaccinated with single dose, and animals vaccinated with two doses were found to be significant ($p < 0.001$). Similarly, when the data of calf sera were evaluated; significant increase was observed in blood serum IgG values measured in calves of cattle receiving single dose and two doses of vaccine compared with the control group ($p < 0.001$). On the other hand, passive transfer failure (PTF) was observed in all 7 calves (100%) in the control group and in 5 (71.4%) of the 7 calves vaccinated with a single dose, while PTF could not be determined in none of the calves vaccinated with two doses. Thus, a significant decrease in PTF rates was achieved in vaccinated animals. As a result, it was concluded that the immune response generated by the inactive *E. coli* vaccine administered in pregnant cattle was transferred to calves passively, and two doses of vaccination on the last 60 and 30 days of pregnancy were determined to be more effective than single dose vaccination.

***Corresponding author's:**

Timur GÜLHAN
Ondokuz Mayıs University, Faculty of
Veterinary Medicine, Department of
Microbiology, 55220 Atakum, Samsun, Turkey
✉: timur.gulhan@omu.edu.tr

Keywords: Blood sera, bovine, colostrums, ELISA, inactive *E. coli* vaccine, IgG.

GİRİŞ

Neonatal (yenidoğan) buzağı hastalıkları ve bunlara bağlı buzağı kayıpları Veteriner Hekimlik açısından önemli bir konudur. Bir ayla kadar olan buzağılar neonatal olarak sınıflandırılmaktadır. Sığırlarda, plasenta yapısı anne ile yavrusu arasında sınırlı geçirgenlik özelliği göstermesi nedeniyle (epitelyokordial), prenatal veya intrauterin dönemde immunoglobulinlerin buzağıya geçişi söz konusu değildir. Bu nedenle yenidoğan buzağılar hipo veya agammaglobulinemik olarak dünyaya gelirler. Hayatlarının en zayıf dönemlerinde buzağılar anneden aldıkları kolostrumla bağışıklık kazanırlar. Bağışıklığın istenilen düzeylerde olabilmesi için yüksek kaliteli ve koruyucu düzeyde immunoglobulin konsantrasyonu (>1500 mg/dl) içeren kolostrumla yeterince beslenme şarttır (da Silvavd., 2006).

Doğum sonrası 24 ve 48. saatlerde kan IgG seviyesi 10 mg/ml'den az olması buzağılar için pasif transfer yetmezliği (PTY) olarak kabul edilmektedir. PTY her ne kadar bir hastalık olmasa da, buzağuların hastalıklara olan direncini düşürerek, büyüme oranlarında azalma, üretkenlik kaybı, yemden yararlanmada azalma gibi ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Doğal koşullar altında neonatal buzağılarda PTY oranının %10-35 olduğu bilinmektedir (McGee ve Early, 2019).

Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) suşları insan ve hayvanlarda ishalleri neden olmaktadır. ETEC, çiftlik hayvanlarında *E. coli* kökenli ishal vakalarından en fazla izole edilen bakteridir. Özellikle ruminantlarda yaşamın ilk 12 saatinde bulunan ve 12. saatten sonra kaybolan fimbrialadhezinlerespesifik reseptörler, doğumdan sonra 1-2 saat ETEC suşlarının barsak yüzeyine tutunmasıyla buzağı septimesine sebep olmaktadır. ETEC, barsaktaki sıvı salgısında artıştan sorumlu enterotoksinler ve barsak kolonizasyonu için spesifik enterosit reseptörlerine bağlanmasını sağlayan adezinler/kolonizasyon faktörlerini üretebilmektedir. Adezinler içerisinde en iyi bilinenler F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P), F17, F18 ve F41 fimbriya tipleridir. Bakterinin ince barsak epitel hücrelerine yapışmasını sağlayan F5 (K99) fimbrial antijeni, ishalleri buzağılardan izole edilen klasik ETEC izolatlarında en yaygın saptanan antijenik yapıdır (Piccovd., 2015). ETEC, diğer enteropatojenlerle birlikte, ilk 4 gün ile 2 haftalık yaşa kadar olan buzağılarda yeni doğan ishallerine neden olmaktadır. ETEC'in hayvanlara bulaşması genellikle sindirim sistemi yoluyla olmaktadır (Mohammedvd., 2019).

K99 antijeninin özellikle ETEC suşlarının jejunum ve /veya ileum epitelyum yüzeyindeki glikoproteinlere tutunmada adherens antijeni olarak görev yaptığı ortaya konulmuştur. ETEC'in bağırsak epiteline sıkı bir şekilde yapışması, etkili toksin üretilmesine olanak sağlar. Barsak lümeninde su ve elektrolitlerin salgılanması toksin aktivitesinden kaynaklanır. İshal, % 10'dan az kuru madde

içeren yumuşak dışkı olarak tanımlanmaktadır. Aşırı sıvı kaybına neden olur. Ölümcül ETEC infeksiyonları, özellikle ilk 24 saat içerisinde, ciddi dehidrasyon ve elektrolit dengesizliği sonucu ortaya çıkmaktadır (Dezfouliev., 2019).

Veteriner aşılmanın temel amacı, evcil hayvanların sağlığını ve refahını iyileştirmek, maliyeti düşürerek canlı hayvan üretimini etkin bir şekilde artırmak ve zoonoz hastalıkların hem evcil hayvanlardan hem de yabani hayvanlardan insana geçişini önlemektir (McGee ve Earley, 2019).

ETEC fimbrialarına yönelik yapılan çalışmalar, bu organellerin biyolojisini ve patogenezdaki rolünü detaylandırmış, böylece yeni tanı teknikleri, profilaktik ve terapötik araçlar geliştirilmiştir. Fimbriaların yüksek oranda immünojenik proteinler olduğu, maternalimmünizasyon ile indüklenen kolostral antikörlerin patojen *E. colisuşlarının* enterositlere yapışmayı ve barsak kolonizasyonuna önleyerek neonatal yavruları koruduğu bilinmektedir. *E. coli* anti-adhezi fimbria aşıları, veteriner aşı sektöründe oldukça başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Bu amaçla F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P), F41 gibi antijenik yapılar tercih edilmektedir (Crouchvd., 2001; Dubreuilvd., 2016).

ETEC salgılarının önlenmesinde fimbrialantijenlerin yanı sıra farklı toksijenik (ST, LT vs.) alt yapılar kullanılarak da aşılarda elde edilmektedir. Farklı hayvan türleri için söz konusu antijenlerin purifikasyonu veya attenüasyonu ile geliştirilmiş çok sayıda ticari aşı bulunmaktadır. Ülkemizde, özellikle buzağuların *E. coli* infeksiyonlarından korunması amacıyla üretilen aşılarda bakterinin K99+F41+STa virülensprofiline uygun olarak hazırlanmaktadır. Ancak, pek çok ülkede yaygın olarak kullanılan aşılama süreci ülkemizde sağlıklı bir şekilde sürdürülememektedir. Gebe sığırların neonatal septisemilerin önlenmesi amacıyla aşılama ve takip edilmesi, saha uygulamalarındaki yetersizlik, hayvan yetiştiricilerinin yeterince bilinçli olmaması gibi faktörlere bağlı olarak tam kapsamlı bir şekilde yürütülememektedir.

Bu çalışmada, gebeliklerinin son 30 (tek doz) ve 30. ve 60. günlerinde (iki doz) inaktif bir ticari *E. coli* aşısı ile aşılanan sığırların kolostrum ve bu hayvanlara ait kolostrumla yeterince beslenen buzağuların kan serumlarındaki IgG miktarlarındaki değişikliklerin izlenmesi amaçlandı. Aşılanan hayvan grupları ve kontrol grubundaki hayvanlar arasında kolostrum ve buzağı kan serumu IgG seviyelerindeki değişikliklerin izlenmesi ile sınırlı dahi olsa PTY miktarlarının ölçülmesi hedeflendi. Ayrıca sığır yetiştiricilerinin neonatal buzağı septisemilerinin önlenmesinde gebe sığırları aşılanması konusunda bilinçlendirilmesi ve bu konuda farkındalık oluşturulmaya çalışıldı.

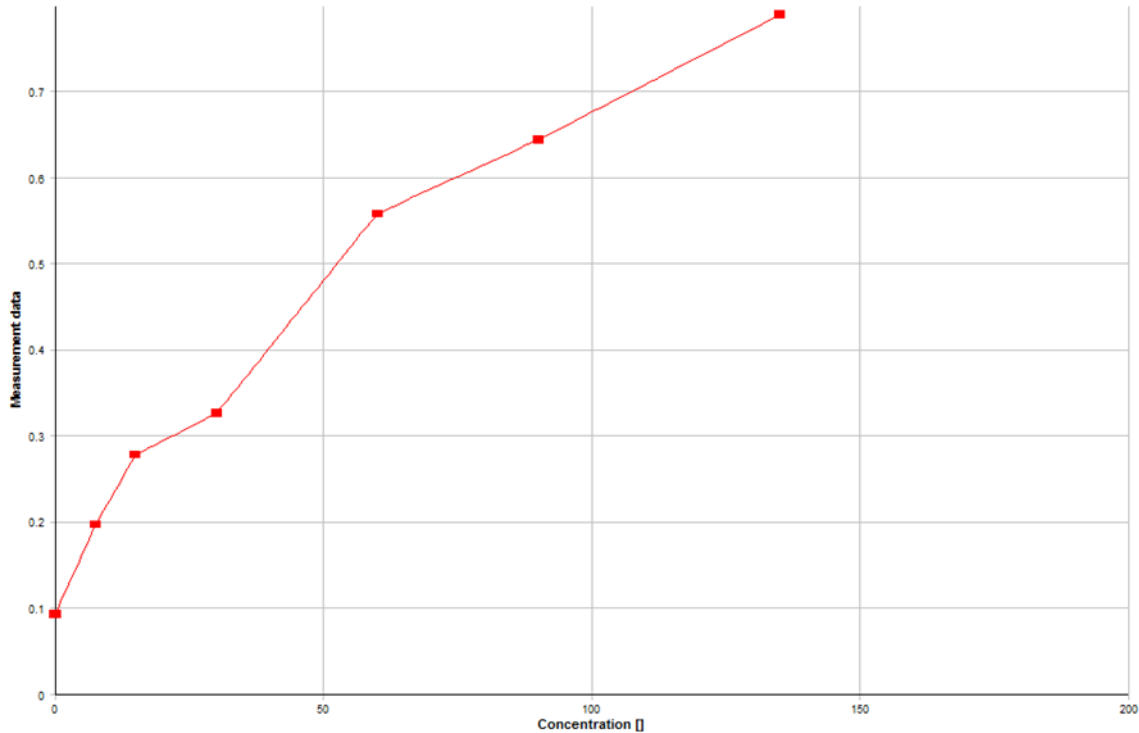
MATERYAL VE METOT

Çalışma planı ve hayvan materyali: Çalışma kapsamında Sivas ili Suşehri ilçesindeki bir işletmede yarı intansif olarak yetiştirilen, klinik olarak sağlıklı, 21 Simental ırkı gebe sığır (3 yaş ve üzeri) ve bu hayvanlara ait 21 buzağıdan (1 günlük) oluşan 42 hayvan kullanıldı. Çalışma kapsamında aşılanacak hayvanlara yerel etik kurul (14.11.2019 tarih ve 68489742-604.01.03-E.25438nolu izin) ve hayvan sahibi onam belgesi (07.11.2019) doğrultusunda işlem yapıldı. Çalışmada kullanılan gruplardaki hayvanlar mümkün olduğunca benzer özellikte (yaş, ırk, klinik durum, önceki aşılama programı vb. açıdan) seçildi ve standart rasyon ile beslendi. Bu süreçte aşılanan hayvanların hiç birinde hayvanın sağlığını bozacak klinik semptom ve olumsuz değişiklik belirlenmedi. Araştırma kapsamında gebe sığırlara ticari bir inaktif *E. coli* aşısı (VBR K99 *E. coli* bakterin, Ata Fen) yapıldı. Bu amaçla, her grupta 7'şer gebe inek ve 7'şer buzağıdan oluşan 3 grup oluşturuldu. Birinci gruba gebeliğin son 60 gününde ilk aşı, izleyen 30 gün sonra ikinci aşı yapıldı. İkinci gruptaki sığırlara ise gebeliğin son ayında tek doz aşı uygulandı. Aşılama işlemi inaktif ticari

aşının 2 ml'si gebe sığırlara deri altı (SC) yolla yapıldı. Kontrol grubundaki gebe sığırlara ise herhangi bir aşılama yapılmadı. Tüm gruplardaki hayvanlardan doğumu takiben kolostrum örnekleri (2'şer ml) alındı. Diğer yandan her guruptaki buzağuların yeterince (2,5 litre) kolostrum alması sağlandı. Kolostrumla beslenen buzağılardan 24 saat sonra, hayvanlara herhangi bir zarar vermeden klasik yöntemlerle yüksek lisans öğrencisi veteriner hekim tarafından vena jugularisten, kan örnekleri (5'er ml) alındı. Alınan kan örneklerinden çıkartılan kan serumları ve kolostrumlar -20°C'de stoklandı.

Ticari ELISA: Kolostrum ve kan serumu örneklerinde IgG seviyelerinin belirlenmesinde ticari sığır IgG ELISA kiti (Bovine Ig ELISA Kit, EB0001, FineTest, Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., Çin) kullanıldı.

Test üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi. Bu amaçla tüm solüsyonlar oda ısısına getirilerek istenilen oranlarda sulandırıldı. Test içeriğinde sunulan standartların sulandırmaları yapıldı. Standartlar 135 µg/ml - 7,5 µg/ml olacak şekilde sulandırıldı ve elde edilen standart eğri Şekil 1'de verildi.



Şekil 1. ELISA standart eğri.

Figure 1. ELISA standard curve.

ELISA pleytinin ilk 6 kuyucuğunda 50'şer µl standart sulandırmaları olacak şekilde, 7. kuyucuk blank amacıyla boş bırakıldı. 8. kuyucuktan başlanarak her kuyucuğa 40 µl örnek dilüsyon buffer eklendi. 8. kuyucuktan itibaren buzağı serum ve kolostrum örnekleri

10 µl eklenerek karıştırıldı. Pleyt 37°C'de 30 dk inkübe edildi. İnkübasyondan sonra pleyt, yıkama solüsyonu ile 5 defa yıkandı. Blank haricinde tüm kuyucuklara 50 µl HRP-Konjugat eklendi. Benzer şekilde pleyt 37°C'de 30 dk inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda pleyt, yıkama

solusyonu ile 5 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 50 µl Kromojen A solüsyonu ve 50 µl Kromojen B solüsyonu eklendi. Pleyt 37°C'de 15 dk ışık almayacak şekilde inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda tüm kuyucuklara 50 µl stop solüsyonu eklendi. Böylece kuyucuklardaki renk maviden sarıya dönmesi sağlandı. Pleyt 450 nm'de ELISA reader cihazına yerleştirilerek sonuçlar okutuldu. ELISA ile elde edilen OD değerleri standart sulandırılmadaki IgG miktarları (135 µg/ml – 7,5 µg/ml) ile karşılaştırılarak her örnek için IgG miktarları (µg/ml) saptandı (Al-Alo, vd., 2018).

İstatistiksel Analiz: Araştırmadan elde edilen verilerin varyans analizi (Tek Yönlü Varyans Analizi) ve ortalamalar arasındaki farklılık (Duncan testi) SPSS 20.0 paket programı kullanılarak yapıldı (IBM Corp., 2011).

BULGULAR

ELISA Sonuçları: Kolostrumla beslenen buzağılardan 24 saat sonra alınan kan serumu ve kolostrum örneklerine ait ELISA sonuçları Tablo 1, Tablo 2, Şekil 2 ve Şekil 3'te sunuldu.

Tablo 1. Buzağı kan serumlarına ait ELISA sonuçlarının gruplara göre dağılımı.

Table 1. Distribution of ELISA results of calf blood sera by groups.

N	Kontrol	Tek Doz Aşı	İki Doz Aşı
1	6,2083	7,0833	32,85
2	5,6667	4,5417	35,4
3	6,735	4,6667	24,265
4	5,4167	10,666	21,565
5	5,755	7,556	26,325
6	5,235	8,253	22,353
7	6,3333	6,7917	23,253
Ortalama	5,907 ^b	7,080 ^b	26,573 ^a
	Standart Hata		2,232
	P 0,000		

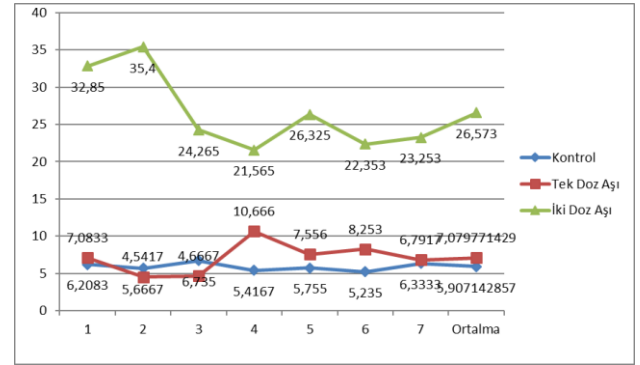
a, b: Ig değerleri açısından gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (P<0,001)

Tablo 2. Kolostrum örneklerine ait ELISA sonuçlarının gruplara göre dağılımı.

Table 2. Distribution of ELISA results of colostrum samples by groups.

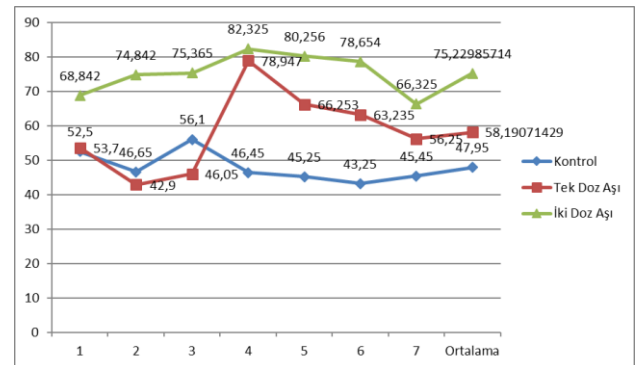
N	Kontrol	Tek Doz Aşı	İki Doz Aşı
1	52,5	53,7	68,842
2	46,65	42,9	74,842
3	56,1	46,05	75,365
4	46,45	78,947	82,325
5	45,25	66,253	80,256
6	43,25	63,235	78,654
7	45,45	56,25	66,325
Ortalama	47,950 ^b	58,191 ^b	75,230 ^a
	Standart Hata		3,055
	P 0,000		

a, b: Ig değerleri açısından gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (P<0,001)



Şekil 2. Gruplara göre buzağı kan serumu ELISA sonuçlarının dağılımı.

Figure 2. Distribution of calf blood serum ELISA results by groups.



Şekil 3. Gruplara göre kolostrum ELISA sonuçlarının dağılımı.

Figure 3. Distribution of colostrum ELISA results by groups.

Serum IgG seviyesine göre IgG seviyesi 8 µg/ml'den daha az olan buzağılar ile kolostrum örneklerinin IgG seviyelerine göre IgG konsantrasyonu 32 µg/ml ve altında olan örnekler PTY olarak değerlendirildi.

Buzağı serumlarına ait veriler değerlendirildiğinde, tek doz ve iki doz aşı yapılan sığırların buzağılarında ölçülen kan serumu değerlerinde kontrol grubuna göre önemli oranda artış tespit edildi (p<0,001). Benzer şekilde kolostrum örneklerine ait veriler incelendiğinde, kontrol grubu ile tek doz ve iki doz aşılardan hayvanlardan elde edilen sonuçlar arasındaki farkın önemli (p<0,001) olduğu belirlendi. Diğer yandan iki doz aşılardan 7 buzağının hiçbirinde PTY belirlenemezken, tek doz aşılardan sığırlara ait 7 buzağının 5'inde (%71,4) ve kontrol grubundaki 7 buzağının tamamında (%100) pasif transfer yetersizliği (PTY) saptandı.

Diğer yandan çalışma populasyonundaki hayvanların uygulama sonrası klinik takiplerinde gruplar arasında önemli farklılıklar kaydedildi. Kontrol grubundaki 7 buzağının 6'sında, tek doz aşı yapılan hayvanlara ait 7 buzağının 3'ünde ishal belirtileri görülürken, iki doz aşılardan sığırlara ait 7 buzağının hiçbirinde ishal semptomları saptanmadı.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Buzağılarda ETEC kökenli ishal ve ölüm vakaları genellikle doğumu takiben ilk birkaç gün içerisinde şekillenmektedir. Bu dönemde yapılacak antibiyotik tedavisi etkisiz kalabilmektedir. Çünkü antibiyotik tedavisinin etkili olabilmesi için en az 3-4 gün gerekmektedir. Bu nedenle buzağılar için kritik olan bu dönemde maternal antikorlar hayati öneme sahiptir. Kolostral antikorlar aracılığı (pasif transfer) ile buzağılarda bağışıklık oluşturma önemli olduğu ve düşük IgG seviyelerine sahip buzağılarda ölüm oranlarının daha yüksek olduğu bilinmektedir. *E. coli*'nin farklı antijenik yapıları kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda; gebe sığırların aşılama sonucu buzağılardaki neonatal ishallerle ilgili ishal ve ölüm oranlarında önemli düşüşler kaydedilmiştir (Figueiredo vd., 2004).

Sağlıklı ve ishalleri buzağuların kan serumlarındaki anti-*E. coli* antikor titreleri arasında önemli farklılıklar olduğu, ishalleri buzağılardaki antikor titresinin sağlıklı olanlardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan ishalleri buzağılarda total IgG konsantrasyonunun sağlıklı buzağılara göre daha düşük seviyelerde olabilmektedir. Benzer şekilde, kolostral anti *E. coli* antikorları ile buzağı kan serumlarındaki anti *E. coli* antikorları arasında yüksek seviyelerde pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu durum, ishallerin önlenmesinde maternal antikorlarla birlikte, anneden yavruya pasif (maternal) olarak aktarılan sitokinler gibi hücresel komponentlerin önemini göstermektedir (Al-Alo vd., 2018).

Gebelik dönemlerinde aşılanmamış sığırlardan doğan ve annelerinden maternal antikor almayan buzağuların neonatal dönemde aşılanmalarında daha düşük başarılar elde edilmiştir (Deluyker vd., 2004). Bu nedenle neonatal koliseptisemilerin önlenmesinde en etkili yol gebe sığırların farklı dönemlerde aşılanması ve annede oluşan maternal antikorların buzağılara kolostrum yoluyla aktarılmasıdır.

Bu amaçla *E. coli*'nin farklı antijenik yapılarından oluşan aşı kompozisyonları ile rota, corona ve parvavirüslerden oluşturulan kombine aşı seçenekleri kullanılarak hazırlanan ticari aşuların etkinliğini belirlemek için çok sayıda araştırma yapılmıştır. Araştırmaların bazılarında antikor titresinde artış sağlanmasına rağmen, buzağı ishallerinin ve ölümlerinin önlenmesine yönelik, koruyuculuk elde edilememiştir (Waltner-Toewsvd., 1985; Snodgrass, 1986). Diğer yandan çalışmaların çoğunda başarılı sonuçlar alınmış, aşılama ile oluşturulan anti K99 kolostral antikorların buzağılara yeterince aktarıldığı ve koruyucu seviyelerde olduğu (Wieda vd., 1987; Crouch vd., 2001), deneysel *E. coli* enfeksiyonlarına karşı tam korunma sağlandığı (Collinsvd., 1988), buzağı ölümlerinin önüne geçildiği (Mensikvd., 1989) aşının gebe sığırlarda

hiçbir yan etkisinin olmadığı (Yano vd., 1995) rapor edilmiştir. İlave olarak tek doz aşı uygulanan gruptaki hayvanlardan elde edilen antikor seviyeleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli bir artış belirlenemezken, iki doz aşı yapılan gruptaki hayvanların kolostrum ve kan serumu örneklerinde kontrol grubundakilere göre istatistiksel anlamda artış saptandığı bildirilmiştir (Figueiredo vd., 2004).

Bu çalışmada, gebeliklerinin farklı dönemlerinde (doğuma 30 ve 60 gün kala) tek ve iki doz şeklinde inaktif bir ticari *E. coli* aşısı ile aşılama sığırlara ait kolostrum örneklerinde ve bu kolostrumlarla beslenen buzağılardan doğumu takiben 24 saat sonra alınan kan serumlarında şekillenen IgG miktarları ELISA ile ölçüldü. ELISA verileri kontrol grubundaki verilerle karşılaştırıldığında, aşılama sığırlarda oluşturulan immunoglobulinlerin buzağılara pasif transferinin gerçekleştiği, özellikle iki doz aşılama sonrası şekillenen antikor titresinde tek doz aşı ve kontrol grubuna göre önemli derecede artış belirlendi ve aradaki farkın istatistiksel olarak önemli ($p < 0.001$) olduğu saptandı. Diğer yandan gruplar PTY açısından karşılaştırıldığında iki doz aşılama hayvanlara ait buzağılarda PTY görülmezken, tek doz aşılama hayvanlarda PTY %71.4, kontrol grubundakilerde ise %100 olarak kaydedildi.

Konuyla ilgili yapılan literatür taramasında geçmişten günümüze kadar en güncel çalışma verileri yorumlanmıştır. Ancak gebe sığırlarda yapılan aşı çalışmalarına ait çok güncel verilere ulaşılamamıştır. Bu nedenle tartışma mevcut literatür verilerine göre yapılmıştır. Önceki çalışmaların genellikle aşı etkinliğini tespit etmek ve bir kısmının oluşturulan antikorların deneysel enfeksiyonlara karşı koruyuculuk seviyelerini belirlemek amacıyla yapıldığı görülmektedir. Bu çalışmada inaktif *E. coli* aşısı ile oluşturulan IgG seviyelerinin kontrol grubu hayvanlardaki IgG seviyeleri ile karşılaştırılarak aşılamanın total IgG seviyelerine olan etkisi araştırıldı. Aşılama sonrası deneysel enfeksiyon oluşturularak, buzağılara pasif olarak aktarılan maternal anti-K99 antikorlarının koruyuculuk seviyeleri ölçülmedi. Aşı içeriğinde olan antijenlere (K99/F41/F17(Fy)) tek tek spesifik antikor artışı incelenmedi. Bu yönüyle çalışma aşırıya ait spesifik bir IgG artışını ortaya koymakta sınırlı kalmaktadır. Ancak aşılanmamış hayvanlardan oluşan kontrol grubundaki hayvanlara ait verilerle aşılanmamış hayvanlardan elde edilenler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmesi, klinik olarak aşı grubundaki buzağılarda ishal sayılarında önemli düşüşlerin tespit edilmesi aşının koruyucu olduğuna işaret etmektedir. Böylece sınırlı hayvan üzerinde dahi olsa aşı etkinliği ve PTY oranlarında önemli seviyelerde azalma görüldüğü ortaya konulmuş oldu.

Bu araştırmada elde edilen verilerin sunulan aşı çalışmalarında belirtilen ve sığırların gebeliklerinin farklı dönemlerinde özellikle iki doz şeklinde gerçekleştirilen deneme sonuçları ile uyumlu olduğu görüldü. Her ne kadar bazı çalışma sonuçları ile farklılıklar olsa dahi, genellikle sonuçların paralellik arz ettiği görülmektedir. Diğer araştırmalarda da belirtildiği gibi sonuçlar arasındaki farklılıklar, çalışılan hayvan populasyonları arasındaki, ırk, yaş, bakım-besleme şartları vb. değişkenlere ve taramada kullanılan yöntem farklılıklarından kaynaklanabilmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma kapsamında neonatal buzağı ishallerinin önlenmesine yönelik pilot bir aşılama çalışması gerçekleştirildi. Aşılanan hayvanlarda aşılama sonrası herhangi bir yan etki görülmedi. Tüm gruplardaki hayvanlar beklenen zamanda doğum yaptı ve buzağuların yeterince kolostrum alması sağlandı. Araştırma sonuçlarına göre aşılanan gruplar ile kontrol grubu arasında IgG seviyeleri açısından önemli farklılıklar saptandı. Özellikle gebeliklerinin son 60 ve 30. gününde iki doz şeklinde gerçekleştirilen inaktif *E. coli* aşılmasının hem kolostrum hem de buzağı kan serumlarındaki IgG seviyelerinde önemli derecede artış ve PTY'lerin önlenmesine yönelik başarı sağladığı kanaatine varıldı. Çalışma populasyonundaki hayvanların uygulama sonrası klinik takiplerinde gruplar arasında önemli farklılıklar kaydedildi. Kontrol grubundaki 7 buzağının 6'sında, tek doz aşı yapılan hayvanlara ait 7 buzağının 3'ünde ishal belirtileri görülürken, iki doz aşılanan sığırlara ait 7 buzağının hiçbirinde ishal semptomları saptanmadı. Ancak bu araştırma çok sınırlı bir hayvan üzerinde gerçekleştirildiği için, *E. coli* kökenli neonatal buzağı septisemilerinin engellenmesine yönelik daha fazla hayvan populasyonunda gerçekleştirilecek kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Böylece buzağı ishallerinden kaynaklanan ekonomik kayıpların önüne geçilmesi adına önemli adımlar atılabilecektir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya PYO.VET.1904.20.004 nolu proje kapsamında maddi destek sağlayan Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığınca teşekkür ederiz. Bu araştırma, aynı isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

KAYNAKLAR

Al-Alo, K.Z.K., Nikbakht Brujeni, G., Lotfollahzadeh, S., Moosakhani, F. & Gharabaghi, A. (2018). Correlation between neonatal calf diarrhea and the level of maternally derived antibodies. *Iranian Journal of Veterinary Research*, *19*(1), 3-8.

- Collins, N.F., Halbur, T., Schwenck, W.H., Hoogeveen, P., Pierce, R.L., Behan, R.W. & Pankratz, D. (1988).** Duration of immunity and efficacy of an oil emulsion *Escherichiacolibacterin* in cattle. *American Journal of Veterinary Research*, *49*(5), 674-677.
- Crouch, C.F., Oliver, S. & Francis, M.J. (2001).** Serological, colostral and milk responses of cows vaccinated with a single dose of a combined vaccine against Rotavirus, Coronavirus and *Escherichiacoli* F5 (K99). *Veterinary Record*, *149*, 105-108.
- da Silva, É.B.R., da Silva, W.C., de Sousa, E.D.V., da Cruz Gato, A.P., Araújo, L.J.S., de Moraes Sales, R., do Couto, T.M. & da Silva, A.A. (2019).** Major diseases affecting neonatal calves. *Research Society and Development*, *8*(8), e04881173. DOI: 10.33448/rsd-v8i8.1173
- Deluyker, H.A., Rossitto, P., Van Oye, S.N. & Cullor, J.S. (2004).** Efficacy of an *Escherichiacoli* J-5 mutant strain bacterin in the protection of calves from endotoxin disease caused by subcutaneous challenge with endotoxins from *Escherichiacoli*. *Vaccine*, *23*, 709-717.
- Dezfoulie, M.R.M., Lotfollahzadeh, S., Heidari, M. & Boroujeni, G.N. (2019).** Clinical and paraclinical changes in experimental colisepticemia in neonatal calves. *Journal of Istanbul Veterinary Science*, *3*(2), 49-56.
- Dubreuil, J.D., Isaacson, R.E. & Schifferli, D.M. (2016).** Animal enterotoxigenic *Escherichiacoli*. *EcoSal Plus*, *7*(1), ESP-0006. DOI: 10.1128/ecosalplus
- Figueiredo, H.C.P., Lage, A.P., Pereira Júnior, F.N. & Leite, R.C. (2004).** Passive immunity in cattle against enterotoxigenic *Escherichiacoli*: serologic evaluation of a bacterin containing K99 and F41 fimbriae in colostrum of vaccinated females and calf serum. *Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science*, *56*(4), 425-432.
- IBM Corp, (2011).** IBM SPSS Statistics for windows, Version 20.0. IBM Corporation, Armonk, NY.
- McGee, M. & Earley, B. (2019).** Review: passive immunity in beef-suckler calves. *Animal*, *13*(4), 810-825.
- Mohammed, S.A.E.M., Marouf, S.A.E.M., Erfana, A.M., El-Jakee, J.K.A., Hessain, A.M., Dawoud, T.M. & Moussa, I.M. (2019).** Risk factors associated with *E. coli* causing neonatal calf diarrhea. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *26*, 1084-1088.
- Picco, N.Y., Alustiza, F.E., Bellingeri, R.V., Grosso, M.C., Motta, C.E., Larriestra, A.J., Vissio, C., Tiranti, K.I., Terzolo, H.R., Moreira, A.R. &**

- Vivas, A.B. (2015).** Molecular screening of pathogenic *Escherichiacoli* strains isolated from dairy neonatal calves in Cordoba province, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, **47**(2), 95-102.
- Snodgrass, D.R. (1986).** Evaluation of a combined rotavirus and enterotoxigenic *Escherichiacoli* vaccine in cattle. *Veterinary Record*, **119**(2), 39-42.
- Yano, T., Garcia, M., Leite, D.S., Pestana-de-Castro, A.F. & Shenk, M.A. (1995).** Determination of the efficiency of K99-F41 fimbrial antigen vaccine in newborn calves. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **28**(6), 651-654.
- Waltner-Toews, D., Martin, S.W., Meek, A.H., McMillan, I. & Crouh, C.F. (1985).** A field trial to evaluate the efficacy of a combined rotavirus-coronavirus/*Escherichiacoli* vaccine in dairy cattle. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, **49**, 1-9.
- Wieda, J., Bengelsdorff, H.J., Bernhardt, D. & Hungerer, K.D. (1987).** Antibody levels in milk of vaccinated and unvaccinated cows against organisms of neonatal diarrhoea. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, **34**, 495-503.