

## Effects of Two Different Immunomodulators on Calf Diarrhea in Neonatal Calves

Gökhan SAYBER<sup>1</sup>, Mustafa KABU<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Afyon Kocatepe University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine, 03200, Afyonkarabısar, Türkiye

### ABSTRACT

In the study, 18 new calves were used. The calves were divided into 3 groups in each group after the first controls. One of the groups was defined as control group (Group 1) and the other two groups as study groups (Group 2 and Group 3). Two different commercial immunomodulatory preparations were given to Group 2 and Group 3 while physiological saline was given for the placebo to the Control Group. Blood samples were collected at days 0, 3, 7, and 15 for immunoglobulin G (Ig) measurement and at days 0, 7, and 15 for hematological measurements. In hematological examination; Leukocyte (WBC), Lymphocyte (LENF), Monocyte (MON), Granulocyte (GRAN), Lymphocyte percentage (LENF%), Monocyte percentage (MON%), Granulocyte percentage (GRAN%), Red Blood Cells (RBC), Hemoglobin (HGB) Hematocrit (HCT), Mean Cell Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH), Mean Cell Hemoglobin Concentration (MCHC), Red Cell Distribution Width (RDW), Thrombocyte (PLT), Mean Platelet Volume (MPV), Thrombocyte Distribution Range (PDW) was measured. Immunoglobulin G levels were measured in the sera obtained from the blood samples. As a result of the study, IgG level was determined high on the 3rd day in Group 3. In addition, IgG levels decreased in the fastest way on control group especially on the 3rd day. We think that the newborn calves have an effect on the immunoglobulin G levels in the first fifteen days after birth.

**Keywords:** Diarrhea, Calf, İmmunomodulator.

\*\*\*

### Neonatal Buzağlarda İki Farklı İmmunomodülatörün Buzağı İshalleri Üzerine Etkileri

### ÖZ

Sunulan çalışmada yeni doğmuş 18 adet buzağı kullanıldı. Buzağlar ilk kontrolleri yapıldıktan sonra her grupta 6 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Gruplardan biri kontrol grubu (Grup 1) olarak, diğer iki grup ise çalışma grupları (Grup 2 ve Grup 3) olarak belirlendi. Kontrol grubuna plasebo amaçlı fizyolojik tuzlu su verilirken, Grup 2 ve Grup 3'e iki farklı ticari immunomodülatör preparat verildi. Vena jugularisten immünglobulin G (Ig) ölçümü için 0, 3, 7 ve 15. günler, hematolojik ölçümler için 0, 7 ve 15. günler kan örnekleri alındı. Hematolojik muayenede; Lökosit (WBC), Lenfosit (LENF), Monosit (MON), Granülosit (GRAN), Lenfosit yüzdesi (LENF%), Monosit yüzdesi (MON%), Granülosit yüzdesi (GRAN%), Alyuvar (RBC), Hemoglobin (HGB), Hematokrit (HCT), Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV), Ortalama Hemoglobin (MCH), Bir Eritrositteki Ortalama Hemoglobin Hacmi (MCHC), Eritrosit Dağılım Genişliği (RDW), Trombosit (PLT), Ortalama Trombosit Hacmi (MPV), Trombosit Dağılım Aralığı (PDW) ölçüldü. Alınan kanlardan elde edilen serumlarda ise immunoglobulin G seviyeleri ölçüldü. Yapılan çalışma sonucunda IgG seviyesi 3. gün en yüksek Grup 3' te tespit edildi. Ayrıca IgG seviyesi en hızlı kontrol grubunda, 3. günde düştü. Yeni doğan buzağlara 0. gün uygulanan immunomodülatörlerin yeni doğan buzağların, doğumdan sonraki ilk on beş gündeki immunoglobulin G seviyeleri üzerine etkisi olduğunu düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** İshal, Buzağı, İmmunomodülatör.

To cite this article: Sayber G, Kabu M. Effects of Two Different Immunomodulators on Calf Diarrhea in Neonatal Calves. Kocatepe Vet J. (2021) 14(1): 193-200.

Submission: 26.01.2021 Accepted: 07.04.2021 Published Online: 30.04.2021

ORCID ID; GS: 0000-0003-4776-545X, MK: 0000-0003-0554-7278

\*Corresponding author e-mail: mustafakabu@hotmail.com

## GİRİŞ

Neonatal dönem, doğumu takip eden 28 günü tanımlamak için kullanılır ve buzağılarda meydana gelen hastalık ve ölümlerin en yoğun yaşandığı dönemdir. Bu dönemde buzağılarda meydana gelen hastalıklar Dünya’da ve Türkiye’de önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu ekonomik kayıplar yeni doğan buzağı ölümlerinin yanı sıra uygulanan tedavi maliyetleri, verim kaybı, potansiyel damızlık hayvan hacminde azalmadır (Erdoğan ve ark., 2009). Buzağılarda ishale neden olan sebeplerin hızla belirlenmesi ve uygun tedavilerin seçilmesinin, bu dönemde gerçekleşen kayıpları hafifleteceği bildirilmektedir (Kalınbacak, 2003).

Maternal immunoglobulinlerin anneden buzağıya geçişi “Pasif transfer” olarak tanımlanır. Bu durum neonatal buzağuların çevresel patojenlerden korunması için elzemdir (Weaver ve ark., 2000). Maternal immunoglobulin kalitesi ve ilk besleme saati pasif immunitiyi etkileyen en önemli faktörlerdir (Abel ve Quigley, 1993). Doğumdan sonraki ilk 4 saat içerisinde immunoglobulinler en yüksek emilim düzeyine ulaşır ve zamanla bu emilim azalır (Matte ve ark., 1982). Neonatal dönemdeki buzağuların ilk 16 saatte aldıkları kolostrumun %10’undan, 20 saatte %23’ünden ve 24 saatte %50’ünden faydalanmadığı gözlenmiş, İmmunoglobulin G (IgG), İmmunoglobulin M (IgM) ve İmmunoglobulin A (IgA) alımı için bağırsak porlarının kapanma süresi doğumdan sonraki 26. saat olup, bu saatten sonra verilen kolostrum, bağırsak porlarının kapanması nedeniyle faydalı olmayacağı bildirilmiştir (Stott ve Fellah, 1983).

Buzağuların immun sistemi doğumdan sonraki yaklaşık 10. günde kendi immunoglobulinlerini üretmeye başlar ve 2 aylık yaşa geldikleri zaman normal plazma immunoglobulin seviyesine ulaşırlar (Rick, 2005). Gebelik süresince anneden fetusa geçen maddelerin cinsi ve miktarı plasentanın tipi ve yapısı ile doğrudan ilişkilidir. Ruminantlar Sindesmokorial plaseenta yapısına sahiptirler ve gebelik sırasında anneden fetusa immunoglobulin aktarımı yoktur. Bu sebeple buzağular agamaglobulinemik veya hipogamaglobulinemik olarak doğar. Kolostrum ve daha az olarak da sütle doğumdan sonra gerekli immunoglobulinleri alırlar. (Arda, 1994). Bu çalışmada immunomodülatörlerin neonatal dönemdeki buzağuların sağlığı ve immünolojik ve hematolojik parametrelerde meydana meydana getirdiği değişikliklerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

Çalışma ırksal, çevresel ve bireysel farkların çalışma verileri üzerine etkisinin en aza indirilmesi, uygulama ve numune alma işlemlerinin kolay olması amacıyla, tek bir hayvancılık işletmesinde yapıldı. Bu amaçla Afyonkarahisar ili merkez ilçesine bağlı Saadet Köyünde konumlanmış bir damızlık süt işletmesinde

doğan 18 neonatal dönemdeki simental buzağı kullanıldı. Çalışmada kullanılacak buzağular seçilirken anaların aynı dönemde Rotavirus, Koronavirüs ve Escherichia coli suşları içeren inaktif aşular ile aşılanmış olmasına dikkat edildi. Çalışma grupları belirlenirken, buzağuların ilk laktasyon buzağı olmaması, analarının yaşları, buzağuların sağlıklı olması (doğumların normal ve kolay olması, yeterli ve eşit miktarda kolostrum almış olmaları) ve ikiz doğum olmamaları, sürüde uygulanan diğer koruyucu aşuların aynı dönemlerde uygulanması kriterleri göz önünde tutuldu.

Araştırmaya Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu tarafından onay (49533702/10) verildi.

Chigerwe ve ark. (2009) serum IgG düzeyinin istenilen düzeyde olması için verilmesi gereken kolostrum miktarının, doğumu takip eden ilk 4 saat içerisinde 3 L veya 3 L’den fazla olması, 12. saatte ise 1 L olması gerektiğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızın materyalini oluşturan neonatal buzağılarda yeterli pasif immunitenin oluşması için uygulamalar bu doğrultuda yapılmıştır.

Buzağular her grupta (n=6) eşit buzağı bulunacak şekilde ayrıldı. Bütün buzağular doğdukları andan itibaren gruplarına göre işaretlendirilmiş ayrı buzağı kulübelere alınarak Kontrol (Grup 1), Çalışma grupları (Grup 2 ve 3) oluşturuldu. Buzağulara ilk kolostrum verilmeden önce Grup 2’ye İmmunoglobulin Y (IgY) içeren oral pasta (Ig lock-Gold, DAN), Grup 3’e de farklı bir ticari markanın IgY içeren oral pasta ürünü (Novostrum, Nova) ve kontrol grubundaki buzağulara ise plasebo maksatlı fizyolojik tuzlu su oral yol ile uygulandı.

Tüm gruplardaki buzağulardan 0. gün kan örneği alındı ve bu örnekler çalışma öncesi değerler olarak tespit edildi. Çalışmada kullanılan buzağılarda pasif transfer yetmezliği bulunup bulunmadığını tespit etmek amacıyla doğumdan sonraki 3. günler kan alındı. Ayrıca çalışmanın immunitiy üzerindeki uzun etkisini değerlendirmek için doğumdan sonraki 7. ve 15. günler kan alındı.

Çalışmada kullanılan buzağulardan serum ve plazma elde etmek için Vena Jugularisen kan alındı. İmmunoglobulin G titrelerinin ölçülmesi için antikoagülan içermeyen vakumlu kan alma tüplerine 8 ml.; WBC, LNF, MON, GRAN, LNF%, MON%, GRAN%, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV, PDW düzeylerinin belirlenmesi amacıyla antikoagülanlı (K2 EDTA) kan alma tüplerine 8 ml. kan alındı. Koagülanlı tüplere alınan kan örnekleri bekletilmeden hematolojik değerlerin ölçülmesi için laboratuvara gönderildi. Antikoagülan içermeyen tüplere alınan kanlar oda sıcaklığında 1 saat bekletildikten sonra 5000 devir/dakikada 5 dakika santrifüj edildikten sonra serumları alınarak analizlerin yapılacağı güne kadar -20 °C muhafaza edilmiştir. Tüm buzağulardan 3, 7 ve 15. günler alınan gaita örnekleri hızlı ishal test kitleri incelendi.

## BULGULAR

Çalışmada kullanılan buzağular doğumlarından itibaren mekonyum retensiyonu, ishal, pnömoni v.b. hastalıklar yönünden takip edildi. Hastalık belirtisi gösteren hayvanlar kayıt altına alınarak klinik incelemeleri yapıldı. Buzağuların pasif immunitésinin ve humoral bağışıklığın değerlendirilmesi için ticari IgG ELISA kiti (Cloud Clone (USCN) Bovine IgG) kullanıldı. Buzağularda tam kanda WBC, LNF, MON, GRAN, LNF%, MON%, GRAN%, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, MPV, PDW ölçümleri cell counter ile yapıldı. Buzağulardan alınan gaita örnekleri buzağular için özel hızlı ishal test kiti (BoviD-5 AG Test Kiti) ile değerlendirildi.

İstatiksel analizler için SPSS paket programı (One Way Anova, Tukey HSD, Tamhane's T2, zamana bağılı analizler için repeated measures anova, Greenhouse-Geisser) kullanıldı. Kontrol (Grup 1) ve çalışma (Grup 2 ve Grup 3) gruplarındaki hayvanlardan elde edilen IgG konsantrasyonlarının ve hematolojik değerlerin ortalama değerleri hesaplandı. Bu çalışmada belirtilen tüm değerler "ortalama değer ± standart hata" olarak gösterildi.

### Klinik Muayene Bulguları

Kontrol (Grup 1) ve çalışma (Grup2 ve Grup3) gruplarındaki buzağular 3,7 ve 15. günlerde ishal, pnömoni, omfalit ve diğer neonatal hastalıklar için muayene edildi. Buzağuların günlük olarak vücut ısıları ölçüldü ve iştahları kontrol edildi. Kontrol (Grup 1) ve çalışma (Grup2 ve Grup3) gruplarındaki buzağularda çalışma süresince iştah azalması, halsizlik, ishal ya da hastalıktan şüphe ettirecek herhangi bir belirti gözlemlenmedi. Çalışmada kullanılan hayvanlarda ölüm gözlemlenmedi.

### İmmunolojik Bulgular

Çalışmada Kontrol (Grup 1) ve çalışma (Grup2 ve Grup3) gruplarındaki IgG konsantrasyonları ve gruplar arası değişimler Tablo 1'de belirtilmiştir. 3. günde Grup 3 ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). 3. günde Grup 2'nin IgG konsantrasyonu grup ortalaması, kontrol grubuna göre daha yüksek olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. ( $p>0,05$ ) Grupların zamana göre değişimi anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Kontrol grubu içerisinde 0. gün ile 3. gün IgG değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Ancak 0, 7 ve 15.günlerdeki yapılan ölçümlerde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilememiştir ( $p>0,05$ ).

**Tablo 1.** Kontrol Grubu, Grup 2 ve Grup 3'ün İmmunoglobulin G Değerleri ( $\mu\text{g/mL}$ )

	1.gün	3.gün	7.gün	15.gün	
Kontrol Grubu	6,1943±0,36 <sup>a</sup>	2,6293±0,44 <sup>bX</sup>	4,6885±0,34	4,5030±0,17	$p<0,05$
Grup 2	7,5001±1,93 <sup>a</sup>	3,6591±0,3 <sup>b</sup>	3,4983±0,37	4,2678±0,09	$p<0,05$
Grup 3	6,4226±1,79 <sup>a</sup>	4,4111±0,86 <sup>bY</sup>	4,1335±0,21	4,4465±0,18	$p<0,05$
	$p>0,05$	$p<0,05$	$p>0,05$	$p>0,05$	

\*Takip edilen günlerdeki (grup içi) farklar küçük harf (a,b,c,d) örneklem günündeki fark (gruplar arası) büyük harf (X,Y,Z) ile gösterilmiştir.

### Hematolojik Bulgular

Sunulan çalışmada tüm değerler Tablo 2 ve Tablo 3' de verilmiştir. WBC değerleri Kontrol grubunda 0. günden 15. güne kadar artış göstermiştir. Grup 2'de 0. günden 15. güne kadar azalma göstermiştir. Grup 3'ün WBC değerlerinde bir değişiklik tespit edilemedi. En düşük WBC değerleri Kontrol grubunda (7,01±0,17 109/L) 0.gün, Grup 2 'de (6,88±1,11 109/L) 15.gün ve Grup 3'te (13,51±2,55 109/L) 7.gün tespit edilmiştir. WBC değerlerin zaman içerisinde değişiminde istatistiksel bir fark tespit edilemedi ( $p>0,05$ ). Grupların zamanla değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 2).

GRAN değerleri Kontrol Grubunda 0. günden 7. güne kadar azalmış, 7. günden 15. güne kadar artmıştır. Grup 2 ve Grup 3'te 0. günden 15. güne kadar azalma göstermiş olup, en düşük GRAN değerleri Kontrol Grubunda (3,28±0,38 109/L) 7. gün, Grup 2'de (2,38±0,50 109/L) ve Grup 3'te (5±1,36 109/L) 15. gün tespit edildi. GRAN değerlerinin zamanla değişimi istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p<0,05$ ). Grupların zamanla değişimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup, Grup 3 Kontrol grubundan farklıdır ( $p<0,05$ ) (Tablo 2).

**Tablo 2.** Kontrol Grubu, Grup 2 ve Grup 3'ün Hematolojik Değerleri

		0.gün	7.gün	15.gün	P
WBC (10 <sup>9/l</sup> )	Kontrol	7,01±0,17a	9,08±0,59	12,91±1,19a	P>0,05
	Grup 2	10,2±2,96	9,31±1,75	6,88±1,11b	P>0,05
	Grup 3	14,33±1,81b	13,51±2,55	14,41±1,63b	P>0,05
	P	P<0,05	P>0,05	P<0,05	
LENF (10 <sup>9/l</sup> )	Kontrol	2,18±0,11	5,18±0,36 <sup>a</sup>	7,78±0,94 <sup>a</sup>	P<0,05
	Grup 2	2,63±0,35	2,66±0,24 <sup>b</sup>	3,85±0,51 <sup>b</sup>	P<0,05
	Grup 3	3,4±0,51	5,56±0,99 <sup>a</sup>	8,15±1,16 <sup>a</sup>	P<0,05
	P	P>0,05	P<0,05	P<0,05	
MON (10 <sup>9/l</sup> )	Kontrol	0,48±0,06	0,7±0,08	1,06±0,09 <sup>a</sup>	P>0,05
	Grup 2	0,76±0,15	0,81±0,18	0,58±0,07 <sup>b</sup>	P>0,05
	Grup 3	0,96±0,17	1,28±0,28	1,26±0,18 <sup>a</sup>	P>0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P<0,05	
GRAN (10 <sup>9/l</sup> )	Kontrol	4,4±0,12 <sup>a</sup>	3,28±0,38	3,9±0,21	P<0,05
	Grup 2	6,76±0,53 <sup>b</sup>	5,83±1,59	2,38±0,50 <sup>a</sup>	P<0,05
	Grup 3	9,96±1,34 <sup>b</sup>	6,66±1,50	5±136 <sup>b</sup>	P<0,05
	P	P<0,05	P>0,05	P<0,05	
LENF % (%)	Kontrol	30,6±1,37 <sup>a</sup>	57,08±3,09 <sup>a</sup>	59,3±1,59	P<0,05
	Grup 2	23,9±1,52 <sup>b</sup>	33,73±6,32 <sup>b</sup>	57,31±1,63	P<0,05
	Grup 3	23,58±2,09	42,78±5,68	55,88±3,16	P<0,05
	P	P<0,05	P<0,05	P>0,05	
MON % (%)	Kontrol	7,31±0,28	7,71±0,34	9,38±0,88	P<0,05
	Grup 2	7,43±0,76	8,9±0,28	9,08±0,77	P<0,05
	Grup 3	6,9±0,90	9,33±0,53	8,96±0,71	P<0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	
GRAN % (%)	Kontrol	62,11±1,35	35,2±2,84	29,06±1,61	P>0,05
	Grup 2	68,26±2,20	124,15±64,63	33,86±2,52	P>0,05
	Grup 3	69,51±2,95	47,88±5,23	35,15±2,81	P>0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	
RBC (10 <sup>12/l</sup> )	Kontrol	7,39±0,33	6,69±0,39	6,99±0,36	P>0,05
	Grup 2	7,18±0,35	7,25±0,70	8,24±0,32	P>0,05
	Grup 3	8,2±0,53	7,36±0,67	7,54±0,73	P>0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	
HGB (g/dL)	Kontrol	11,41±0,64	9,21±0,69	9±0,61	P<0,05
	Grup 2	10,53±0,39	10,08±1,01	11,2±0,77	P<0,05
	Grup 3	12,01±1,33	10,18±1,03	9,08±1,19	P<0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	

\*Takip edilen günlerdeki (grup içi) farklar küçük harf (a,b,c,d) örneklem günündeki fark (gruplar arası) Büyük harf (X,Y,Z) ile gösterilmiştir.

Çalışmamızda MCH değerleri tüm gruplarda 0. günden 15. güne kadar azalma göstermiştir. En düşük MCH değerleri Kontrol Grubunda (12,68±0,24 pg), Grup 2'de (13,45±0,40 pg), Grup 3'te (11,76±0,52 pg) tespit edildi. MCH değerlerinin zamanla değişimi istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0,05). Grupların zamanla değişimleri arasında istatistiksel olarak

anlamlı bir fark olup, Grup 3 ve Kontrol grubundan farklıdır (p<0,05).

Çalışmamızda diğer hematolojik parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilemedi (p>0,05) (Tablo 3).

Çalışmada kullanılan buzağılardan 3, 7 ve 15. günlerde alınan gaita örneklerinden yapılan hızlı test kitlerinden hepsi hastalık yönünden negatif sonuç vermiştir.

**Tablo 3.** Kontrol Grubu, Grup 2 ve Grup 3'ün Hematolojik Değerleri

	Kontrol	34,1±1,99	28,21±2,15	27,43±1,97	P>0,05
HCT % (%)	Grup 2	31,23±1,11	31,11±4,17	31,51±1,75	P>0,05
	Grup 3	35,38±3,63	30,08±3,73	29,68±4,05	P>0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	
	Kontrol	45,88±0,63	41,81±0,83	38,95±0,87	P<0,05
MCV (fl)	Grup 2	43,06±1,02	42,13±1,73	38,21±0,68	P<0,05
	Grup 3	42,88±1,74	40,43±1,43	33,7±6,07	P<0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	
	Kontrol	30,66±6,86	13,7±0,34	12,68±0,24	P<0,05
MCH (pg)	Grup 2	14,51±0,37	13,9±0,16	13,45±0,40	P<0,05
	Grup 3	14,46±0,70	13,71±0,32	11,76±0,52	P<0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	
	Kontrol	33,5±0,13	28,48±4,28	33,48±0,66 <sup>a</sup>	P>0,05
MCHC (g/dL)	Grup 2	33,51±0,17	33,31±1,14	35,21±0,43 <sup>a</sup>	P>0,05
	Grup 3	33,81±0,46	34,3±1,42	30,66±0,27 <sup>b</sup>	P>0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P<0,05	
	Kontrol	21,51±0,23 <sup>a</sup>	13,86±2,12	15,4±0,10	P<0,05
RDW % (%)	Grup 2	16,8±0,09 <sup>b</sup>	17,03±0,32	16,36±1,01	P<0,05
	Grup 3	19,7±1,25	16,15±0,42	15,15±0,13	P<0,05
	P	P<0,05	P>0,05	P>0,05	
	Kontrol	365,68±11,82	1163±70,69	919,83±111,21	P<0,05
PLT (10 <sup>9</sup> /L)	Grup 2	441,66±36,09	1316,83±80,69	410,33±149,98 <sup>a</sup>	P<0,05
	Grup 3	345±58,57	1159,33±153,52	1121±166,73 <sup>b</sup>	P<0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P<0,05	
	Kontrol	6,1±0,08	5,5±0,10	5,08±0,16	P<0,05
MPV (fl)	Grup 2	5,6±0,17	5,23±0,14	4,91±0,07	P<0,05
	Grup 3	6,01±0,37	5,18±0,29	5,38±0,11	P<0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	
	Kontrol	16,88±0,11	16,21±0,06	15,58±0,09	P<0,05
PDW	Grup 2	16,5±0,15	16,2±0,14	16,46±0,34	P<0,05
	Grup 3	16,76±0,18	16,35±0,14	15,55±0,07	P<0,05
	P	P>0,05	P>0,05	P>0,05	

\*Takip edilen günlerdeki (grup içi) farklar küçük harf (a,b,c,d) örneklem günündeki fark (gruplar arası) Büyük harf (X,Y,Z) ile gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

Ruminantlar Sindesmokorial plasenta yapısına sahiptirler ve gebelik sırasında anneden fetusa immunoglobulin aktarımı yoktur. Bu sebeple buzağular agamaglobulinemik veya hipogamaglobulinemik olarak doğar. Kolostrum ve daha az olarak da sütle doğumdan sonra gerekli immunoglobulinleri alırlar (Arda, 1994). Çalışmamızdaki tüm buzağılardan, doğumdan 0. (doğum günü) gün alınan kan serum IgG düzeyleri, takip eden üçüncü güne kadar düşmekte, üçüncü günden sonra ise yükselmektedir. Doğumu takiben ilk 16 hafta süresince buzağılarda ölüm oranlarının belirlendiği bir araştırmada, 3479 buzağının %5'i bu süre içerisinde ölmüş ve ölen buzağuların %3,2'sinde yetersiz pasif transfer gözlenmiştir (Tyler ve ark., 1999). Yapılan saha araştırmalarında pasif transfer yetmezliğinin sürü genelinde %10 oranlarında gözlemlenen bir sorun olduğunu göstermektedir.

Yönetimin kötü olduğu işletmelerde bu oran %40'lara kadar çıkabilmektedir. Kolostrum ile yeterli seviyelerde immunoglobulin alan buzağular ile kıyaslandığında, pasif transfer yetmezliği görülen buzağuların ölüm oranı 10 kata kadar artmaktadır. Enfeksiyöz nedenlerde ölen buzağuların %90'ında pasif transfer yetmezliği olduğu bildirilmiştir (Abel Francisco ve Quigley, 1993). Çalışmamızda kullanılan kontrol ve çalışma gruplarındaki buzağuların takip edilen süreç içerisinde hastalanmalarının iyi bakım şartları ve işletmede süregelen koruyucu hekimlik hizmetleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Buzağuların immun sistemi doğumdan sonraki yaklaşık 10. günde kendi immunoglobulinlerini üretmeye başlar ve 2 aylık yaşa geldikleri zaman normal plazma immunoglobulin seviyesine ulaşırlar (Rick, 2005). Waldner ve Rosengren (2009) serum IgG konsantrasyonlarındaki düşüklüğün ve yetersiz kolostrum alımının buzağı sağlığı ve yaşama şansı üzerine negatif etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Aynı

çalışmada bağırsaklarda bulunan enterositlerde immuoglobulinlerin sadece doğumdan sonraki ilk 36 saatte emildiğini; bu durumun da serum immuoglobulin konsantrasyonunu doğumdan sonraki 36. saat dolaylarında pike ulaştırdığını bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki buzağılarda serum IgG seviyelerinin, grup gözetmeksizin doğumdan sonraki üçüncü güne kadar düşmesi kolostrum kalitesi ile ilgili, üçüncü günden sonra IgG seviyelerinin yükselmesinin sebebi ise buzağuların immun sistemlerinin aktive olmaya başlaması olabileceğini düşünmekteyiz.

Serum IgG seviyeleri düşük olan buzağılarda ölüm riskinin dört kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Osame ve ark., 1991; White, 1993). Bir çalışmada (Selim ve ark., 1995) serum IgG konsantrasyonları düşük olan neonatal buzağılarda ölüm oranı %11,7 iken, yüksek olanlarda %1,7 bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda ishal teşhis edilmiş buzağuların total immuoglobulin, IgG ve IgM seviyeleri ile kontrol grubundaki hayvanlar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunduğunu, hasta hayvanların bir kısmının immuoglobulin seviyelerinin kontrol grubu ile aynı olduğunu bildirmişlerdir (Başoğlu ve ark., 1999; İstanbulluoğlu, 1978; Osame ve ark., 1991; Selim ve ark., 1995; White, 1993). Başoğlu ve ark. (1999) buzağılarda serum immuoglobulin seviyelerinin belirlenmesinin önemli olduğunu, ancak serum immuoglobulin seviyeleri normal olan hayvanların da hastalanabileceğini ifade etmişlerdir. Çalışmamızda kontrol ve çalışma gruplarının IgG seviyeleri 3. güne kadar düşüş göstermektedir. En sert düşüş kontrol grubunda gözlemlenmekle birlikte; 15 günlük klinik takip sonucu 3. gün değerleri haricinde diğer değerler önceki çalışmalar ile paralel seyretmektedir.

Gruplardan periyodik olarak alınan gaita örnekleri hızlı test kiti ile incelendiğinde testlerin hepsi hastalık yönünden negatif sonuç verdiği gözlemlendi. Bu durumun koruyucu hekimlik ve sürü yönetimi ile de ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Tam kan sayımı uygulayıcı hekimlerin bir tedavi protokolü belirlemek ve prognoz hakkında fikir yürütebilmek için klinik muayeneden sonra en önemli yardımcısıdır (Jones ve Alison, 2007). Bir parametre ya da hematolojik profilin değerlendirilebilmesi için benzer gruplardan sağlıklı hayvanların daha önce ölçülmüş referans değerlerine ihtiyaç vardır. Bu referans değerler belirlenirken genotipik değişiklikler, yaş, cinsiyet, sürü yönetimi göz önüne alınmalıdır (Friedrichs ve ark., 2012).

Geçmiş araştırmalar göz önüne alındığında buzağılarda oluşturulan hematolojik profiller çoğunlukla etçil özellikleri güçlü ırklara mensup buzağular için oluşturulmuştur (Raleigh ve Wallace, 1962; Adams ve ark., 1992; Egli ve Blum, 1998). Süt ırkları için yapılmış çalışmalar Holştayn ırkı buzağularla sınırlı kalmaktadır. Tennant ve ark. (1974) yaptıkları çalışmada 61 Jersey ve 110 Holştayn- Friesian buzağıda doğumdan sonraki altı ayın hematolojik

verileri sunulmuştur. Mohri ve ark. (2007) 32 İran Holştayn'ı buzağıda doğumdan sonraki 12 haftada, haftalık olarak yaşa bağlı hematolojik değişimleri incelemişlerdir.

İshalli buzağılarda, enterite bağlı olarak WBC değerinde artış gözlemlendiği bildirilmektedir (Şahal ve ark., 1994; Öcal ve ark., 2006). Buzağılarda doğumdan sonraki ilk üç ayda yapılan bir çalışmada WBC değerlerinin yetişkin referans aralıklarında olduğunu ve hayvandan hayvana değişen bireysel farklılıklar olabileceği belirtilmektedir (Mohri ve ark., 2007). Çalışmamızda sunulan kontrol grubu ve grup 2'ye ait WBC değerleri, paylaşılan referans aralıklar içerisinde olup; grup 3'e ait WBC değerleri referans değerlerin üzerindedir (Tablo 2). Doğum sonrası WBC'nin, yetişkin referans değerlerinin üzerine çıktığı, zamanla referans değer sınırları içine düşeceği rapor edilmiştir. (Zanker ve ark., 2001). Grup 3 içerisinde bulunan hayvanların klinik olarak hastalık belirtisi göstermemeleri ve 0. günden itibaren 15. güne kadar yüksek WBC değerlerine sahip olmaları nedeniyle bu yüksekliğin anlamlı olmadığı düşünüldü. LENF değerlerindeki anlamlı farklılığın da grupların WBC değerleri arasındaki belirgin farklılıktan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Andersen (2003) deneysel olarak hafif dozlarda endotoksemi meydana getirilen hayvanlarda geçici bir lökopeni gözlemlendiğini, MON ve GRAN değerlerinin yükseldiğini; ilerleyen dönemde ise lökositosis şekillendiğini ve bu durumun kemik iliğinden köken alan olgunlaşmış lökositlerin kan dolaşımına salınımıyla ilgili olabileceğini ve bu durumun da MON ve GRAN değerlerini yükselteceğini bildirmişlerdir. Coşkun ve Şen (2012) buzağılarda deneysel olarak endotoksemi meydana getirilmesinden sonra 8 saat içerisinde lökopeni şekillendiğini, 18. saatten sonra ise lökositosis şekillendiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda sunulan MON ve GRAN değerleri referans aralıklar içerisinde ölçülmüştür (Tablo 2).

Panousis ve ark. (2018) yürüttükleri çalışmada ishali buzağuların, sağlıklı buzağular ile karşılaştırıldığında RBC, HGB ve HCT değerleri yüksek bulduklarını belirtmiştir. Bir başka çalışmada; Kalınbacak (2003) ishal sonucu dehidrasyon teşhisi konulmuş 12 buzağıda, hasta hayvanların tedavi sonrası 4. saatte, RBC, HCT, HGB ve WBC değerlerinin düştüğünü bildirmiştir. Buzağılarda ishal sebebiyle hücre dışı sıvı hacminin azalması sonucu hematokrit düzeyi ve plazma protein düzeyinde artış bildirilmektedir (Coles, 1986; Knowles ve ark., 2000; Zanker ve ark., 2001). Çalışmamızda sunulan RBC, HGB, RDW ve HCT değerleri literatür bilgilerle benzerdir (Tablo 2 ve Tablo 3).

Panousis ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada buzağuların yetişkinlere göre MCV değerleri %13,5; MCHC değerleri %5,2; MON değerleri %56,9 daha düşük bulduklarını bildirmişlerdir. Ramin ve ark. (2014) şiddetli anemi olgularında ortalama HGB, RBC, LENF ve MCV değerlerinin azaldığını, MCHC değerlerinin arttığını bildirmişlerdir. Bangoura ve

Dauguschies (2007) koksidiyoz enfeksiyonlarında MCV değerlerinin yükseldiğini bildirmiştir. Koçkaya ve Özşensoy (2016) enteritiste MCV değerlerinin yükselmesinin sebebinin bağırsaklardan kaybedilen kan ve elektrolitler olabileceğini bildirmiştir. Turgut (2000), enfeksiyöz durumlarda trombosit yıkımına bağlı olarak PLT değerlerinin düştüğünü bildirmişlerdir. Koçkaya ve Özşensoy (2016) koksidiyoz ile enfekte hayvanlarda HGB, HCT ve PLT değerlerinin bağırsaklardaki peteşiyel kanamalardan dolayı düştüğünü bildirmişlerdir. Çalışmamızda sunulan MCV, MCHC değerleri referans değerler aralığındadır (Tablo 3). PDW trombositlerin boyut ve hacminin nicel bir değerlendirilmesidir ve reaktif trombositozis ile esansiyel trombositeminin ayırımında kısıtlı fayda sağlar (Threatte, 1993). MPW trombosit fonksiyon ve aktivasyonunu gösteren en önemli parametredir. MPW değerlerinin yükselmesi rejeneratif trombositopeniyi işaret eder (Abd Allah, 2013). PLT değerleri birçok çalışmada (Bangoura ve Dauguschies, 2007; Koçkaya ve Özşensoy, 2016; Panousis ve ark., 2018; Ramin ve ark., 2014; Turgut, 2000) verilen aralıkların üzerinde olup, Knowles (2000) tarafından paylaşılan referans aralık ile örtüşmektedir. Hematolojik parametrelerin değerlendirilmesinde yetişkin sığırlar için verilen referans aralıklar ve buzağılara spesifik yapılan çalışmalarda ölçülen değerler dikkate alındığında; neonatal dönemdeki buzağuların hematolojik parametreleri stabil değerler olmayıp, dalgalanmalar göstermektedir. Çalışmamızda elde ettiğimiz hematolojik veriler de bununla örtüşmektedir (Tablo 2 ve Tablo 3).

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışmamızın sonuçları göz önüne alındığı zaman; immun sistemi desteklemek amacıyla oral yol ile tek doz verilen iki imunomodülatörün, yenidoğan buzağuların serum IgG seviyeleri üzerine etkileri olduğu tespit edildi. Grupların 3. güne kadar IgG seviyeleri düşmekle beraber, bu düşüş kontrol grubuna nazaran çalışma gruplarında daha hafiftir. Geçmiş araştırmaların ağırlıklı olarak Holstein ırkı buzağularda yapıldığı göz önüne alındığı zaman simental ırkı buzağularda yapılan bu çalışmada; grupların zaman içerisindeki değişimleri ve gruplar arasında meydana gelen anlamlı farklılıkların daha detaylı incelenmesi ve bu farklılıkların neonatal buzağular üzerine olan etkilerinin açığa çıkarılması için bu konuda daha fazla sayıda çalışma yapılması faydalı olacaktır.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

**Etik Kurul Bilgileri:** AKU HADYEK 10 sayılı 14.02.2018 tarih ile izin almıştır. Ayrıca yazarlar Araştırma ve Yayın Etiğine uyulduğunu beyan etmişlerdir.

**Finansal Destek:** Bu çalışma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 18.SAĞ.BİL:21 proje numarası ile desteklenmiştir.

**Açıklama:** Bu çalışma Gökhan SAYBER'in aynı isimli Yüksek lisans tezinden özetlenmiştir (2019-13)

## KAYNAKLAR

- Abd Allah MR.** Studying the correlations among hematological and serum biochemical constituents in cattle theileriosis. J Parasit Dis. 2013; 39(2):134-9.
- Abel Francisco SF, Quigley JD.** III. 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.
- Adams R, Garry FB, Aldridge BM, Holland MD, Odde KG.** Hematologic values in newborn beef calves. Am J Vet Res. 1992; 53:944-950.
- Andersen HP.** Bovine Endotoxemia Some Aspects of Relevance to Production Diseases A Review. Acta vet Scand Suppl. 2003; 98:141-155.
- Arda M.** Meme dokusunun ve sekresyonlarının immünolojik fonksiyonları; Neonatal Bağışıklık. In: İmmunoloji, Eds, Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., Düzgür, M., Diker, K.S., Ankara. 1994; 107-118.
- Bangoura B, Dauguschies A.** Parasitological and clinical parameters of experimental Eimeria zuernii infection in calves and influence on weight gain and haemogram. Parasitol Res. 2007; 100(6):1331-40.
- Baçoğlu A, Çamkerten I, Servinç M.** Serum immunoglobulin concentrations in diarrhetic calves and their measurement by single radial immunodiffusion. Israel J Vet Med. 1999; 54(1):9-10.
- Chigerwe M, Tyler JW, Summers MK, Middleton JE, Schultz LG, Nagy DW.** Evaluations of factors affecting serum IgG concentration in bottle-fed calves. J Am Vet Assoc. 2009; 234(6):785-789.
- Coles EH.** Kidney Function, In Veterinary Clinical Pathology, 4th Ed, WB Saunders Company, Philadelphia. 1986; p. 171- 200.
- Coşkun, A., Şen, I.** Acute phase response and clinical changes in calves with lipopolysaccharide induced endotoxemia. Eurasian Journal of Veterinary Sciences, 2012; 28:21-26.
- Egli CP, Blum JW.** Clinical, haematological, metabolic and endocrine traits during the first three months of life of suckling simmentaler calves held in a cow-calf operation. Transbound Emerg Dis, 1998; 45:99-118.
- Erdoğan HM, Ünver A, Cital M, Güneş V, Arslan MÖ, Tuzcu M, Gökçe HG.** Dairy farming in Kars district, Turkey: III. Neonatal calf health. Turk J Vet Anim Sci. 2009; 33(3):185-192.

- Friedrichs KR, Harr KE, Freeman KP, Szladovits B, Walton RM, Barnhart KF, Blanco-Chavez J.** ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Vet Clin Pathol.* 2012; 41:441–453.
- İstanbuluoğlu E.** Septicaemia neonatorumlu buzağlardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarının biyokimyasal, serolojik, enterotoksijenik, antibiyotiklere duyarlılık, bulaşıcı tip plasmid (R-faktör) taşıma özellikleri ile enfekte ve normal buzağlardan elde edilen serum örneklerinin immünoglobulin miktarları (IgG, IgA) üzerinde incelemeler. Doçentlik Tezi, Ankara, 1978.
- Jain NC.** Schalm's Veterinary Hematology. 4th edn. Philadelphia, 1986.
- Jones ML, Alison RW.** Evaluation of the ruminant complete blood cell count. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2007; 23:377–402.
- Kalınbacak A.** İshalli Buzağların Sıvı Sağaltımında Hipertonik Salin-Dextran ve Oral Elektrolit Solüsyonunun Kullanımı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 2003; 50:113- 118.
- Knowles TG, Edwards JE, Bazeley KJ.** Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age, *Veterinary Record.* 2000; 147:593-598.
- Koçkaya M, Özşensoy Y.** Determination Of Some Blood Parameters And Macro Elements In Coccidiosis Affected Akkaraman Kangal Lambs. *Journal of Asian Scientific Research.* 2016; 6(9):138-142.
- Matte JJ, Girard CL, Seoane JR.** Absorption of colostral immunoglobulin G in the newborn dairy calf. *J Dairy Sci.* 1982; 65:1765-1772.
- Mohri M, Sharifi K, Eidi S.** Hematology and serum biochemistry of Holstein dairy calves: age related changes and comparison with blood composition in adults. *Res Vet Sci.* 2007; 83:30–39.
- Osame S, Ichijo S, Ohta C, Watanabe T, Benkele W, Goto H.** Efficacy of colostral immunoglobulins for therapeutic and preventive treatments of calf diarrhea. *J Vet Med Sci.* 1991; 53(1):87-91.
- Öcal N, Duru SY, Yağcı BB, Gazyağcı S.** İshalli buzağlılarda asit-baz dengesi bozukluklarının saha şartlarında tanı ve sağaltımı. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg.* 2006; 12(2):175-183.
- Panousis N, Siachos N, Kitkas G, Kalaitzakis E, Kritsepi-Konstantinou M, Valergakis GE.** Hematology reference intervals for neonatal Holstein calves. *Res Vet Sci.* 2018; 118:1-10.
- Radostits OM, Blood DC, Gay CC.** *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses.* London, Bailliere Tindall, 1994.
- Raleigh RJ, Wallace JD.** The influence of iron and copper on hematologic values and on body weight of range calves. *Am J Vet Res.* 1962; 23:296–299.
- Ramin AG, Asri-Rezaei S, Paya K, Eftekhari Z, Jelodary M, Akbari H, Ramin S.** Evaluation of Anemia in Calves up to 4 Months of Age in Holstein Dairy Herds. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg.* 2014; 40(1):1-6.
- Rick M. Colostrum.** The Key to Calf Survival, www.merricks.com, 2005.
- Selim SA, Smith BP, Cullar JS.** Serum Immunoglobulins in Calves: Their Effects and Two Easy Reliable Means of Measurement. *Vet Med.* 1995; 4:387- 404.
- Şahal M, Ünsüren H, Kurtdede A, İmren HY, Kalınbacak A, Borkü MK, Özlem MB.** Yeni Doğan İshalli Buzağların Klinik Bulguları ve Asit-Baz Dengesi Dikkate Alınarak Sodyum Bikarbonat ve Elektrolitik Sıvılarla Sağaltımı. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* 1994; 41(3-4):509- 525.
- Tennant B, Harrold D, Reina-Guerra M, Kendrick JW, Laben RC.** Hematology of the neonatal calf: erythrocyte and leukocyte values of normal calves. *Cornell Vet.* 1974; 64:516–532.
- Threatte GA.** Usefulness of the mean platelet volume. *Clin Lab Med.* 1993; 13:937.
- Turgut K.** Veteriner klinik laboratuvar teşhis. Ankara: Genişletilmiş 2. Baskı, Bahçivanlar Basım Sanayi AŞ, 2000.
- Tyler JW, Parish SM, Besser TE.** Detection of low serum immunoglobulin concentrations in clinically ill calves. *J Vet Intern Med.* 1999; 13(1):40-43.
- Waldner CL, Rosengren LB.** Factors associated with serum immunoglobulin levels in beef calves from Alberta and Saskatchewan and association between passive transfer and health outcomes. *Can Vet J.* 2009; 50:275–281.
- Weaver DM, Tyler FW, Vanmetre DC, Hostetler DE, Barrington GM.** Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. *J Vet Intern Med.* 2000; 14:569-577.
- White DG.** Colostral supplementation in ruminants. The Compendium on continuing education for the practicing veterinarian. 1993; 15:335-342.
- 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.