

İshalli Kuzularda İmmunomodülasyon Yoluyla Sağaltım ve Profilaksi Çalışmaları

Nilüfer AYTUĞ*

Yavuz SEZEN**

Figen TAVUKÇUOĞLU***

Haşim SALİHOĞLU****

ÖZET

Bu çalışma immunomodülasyonun kuzu ishalleri üzerindeki koruyucu ve sağaltıcı etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Mikrobiyolojik muayeneler sonucunda dışkılarında enteropatojenik E.coli ve Rotavirus saptanan ishalleri ve sağlıklı 0-10 günlük toplam 50 kuzuya bir immunomodülatör - paramünite indiktörü ajan (Baypamun® -Sheeppox virus, 1 ml., s.c.) 24 saat aralıkla iki kez uygulanmış ve bir hafta sonra üçüncü uygulama yapılmıştır. Aynı yaşlardaki 40 kuzu kontrol olarak bırakılmıştır. Sonuç olarak, sağaltım uygulaması yapılan hasta hayvanların tümünün kısa sürede iyileştiği, profilaktik uygulama yapılan kuzuların hiçbirinin 1 aylık gözlem süresi içinde hastalanmadığı, buna karşılık kontrol kuzularda 17 klinik ishal olgusunun ortaya çıktığı ve bunlardan 5 adedinin öldüğü saptanmıştır.

* Dr.; U.Ü. Vet. Fak. İç Hastalıklar Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

** Doç. Dr.; Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti., İstanbul-Türkiye.

*** Dr. Vet. Hek.; İl Kontrol Lab., Bursa-Türkiye.

**** Vet. Hek.; Bayer Türk Kimya San. Ltd. Şti., İstanbul-Türkiye.

SUMMARY

Studies on the Therapeutic and Prophylactic Effects of Immunomodulation in the Diarrhoeic Lambs

The therapeutic and prophylactic effects of immunomodulation were studied in diarrhoeic and healty lambs in a herd with 90 lambs, 9-10 days old. Enteropathogenic E.coli and Rotavirus detected from their fecal samples. Total of 50 lambs, of which 10 had clinical diarrhoe and the rest were healty, received two injections of the immunomodulatory agent - paramunity inducer (Baypamun®-Sheeppox, 1 ml., s.c.) at interval of 24 hours and follow up thirth treatment one week later. The other 40 lambs at the same age were served as controls. 10 diarrhoeic lambs, treated with immunomodulator agent, healed in a few days. During the observation period of one month, 17 clinical diarrhoea cases observed in control group, 5 of which were died. None of the lambs, prophylactically treated, had diarrhoea.

Key words: Lamb, E. coli-Rotavirus Diarrhoea, Immunomodulation.

GİRİŞ

Ülkemiz ekonomisi açısından büyük önem taşıyan kuzu ölümlerinin başlıca sebeplerinden birisi de neonatal ishallerdir. Tüm ruminantlarda görülen ve kompleks bir etyolojiye sahip olan neonatal ishallerin oluşumunda E. coli, Salmonella spp., Clostridium spp. gibi bakterilerle Rotaviruslar ve Coronavirus benzeri virusların enteropatojenik suşları, kolostral immunité, beslenme ve bakım koşulları birlikte rol oynarlar¹⁻⁴. Kuzularda özellikle Rotavirus ve Enteropatojenik E.coli'lerin neden olduğu ishallere rastlanmaktadır^{5,6,7}.

Rotavirus enfeksiyonları karakteristik olarak genç hayvanlarda görülür^{5,6} ve etken 3 haftalıktan küçük kuzuların dışkılarında izole edilebilir⁸. Deneysel enfeksiyonlarda inkübasyon süresinin 11-20 saat olduğu ve etkilenen hayvanlarda depresyon, iştahsızlık, abdominal sancı ve ishal görüldüğü bildirilmiştir. Mortalite sekonder enfeksiyonlara bağlıdır⁹. Ancak, Rotavirus ve enteropatojenik E.coli suçlarının birlikte etki gösterdikleri durumlarda mortalitenin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir^{6,7}. İki yaşın altındaki çocuklarda da akut ishale neden olan Rotavirusların^{10,11} genellikle enterotoksijenik E.coli suşları ile birlikte olduklarında şiddetli enfeksiyona yol açtıkları bilinmektedir¹².

Septisemik ve perakut seyirli E.coli enfeksiyonları 1-2 günlük ve 3-8 haftalık kuzularda; akut ishal, dehidrasyon, iştahsızlık ve halsizlikle karakterize "enterik Kolibasillozis" ise 1 haftalıktan küçüklerde görülür⁶.

Yeni doğan ruminantların ishallerinden uygulanan spesifik bir sağaltım yöntemi yoktur. Ancak, sekonder bakteriyel enfeksiyonlara karşı antibakteriyel ilaç sağaltımı ve dehidrasyonun önlenmesi amacıyla da sıvı - elektrolit uygulaması gibi semptomatik sağaltım uygulanabilir⁶. Buna rağmen ishalin oluşumunda rol oynayan bakterilerin çoğunun antibiyotiklere rezistans göstermeleri ve viruslara etkili spesifik bir ilacın bulunmayışı gibi nedenler yeni ilaçların, özellikle immunomodülatörlerin kullanımını gündeme getirmektedir¹³.

İmmunomodülasyon biyolojik veya kimyasal maddelerle yapılabilir. Fakat daha kolay elde edilebilmeleri nedeniyle biyolojik maddeler tercih edilmektedir. İmmunomodülatör ajanlar lenfopoetik sistemi aktive ederler (T lenfositler, doğal killer hücreler ve interferon üretiminin indüksiyonları)^{14,15}.

Toksik ve pirojenik olmayışları nedeniyle, Poxvirusların (Avipox, Parapox ve Orthopox) immunomodülatör ajan olarak kullanılmaya elverişli oldukları bildirilmiştir¹⁶. Sığırların IBR ve Rotaviruslarına karşı insan interferonu ile yapılan in vivo testlerde çelişkili sonuçlar alınmıştır^{17,18}. İmmunomodülatör ajanlar, sığırlarda¹⁹⁻²³, kedilerde²⁴⁻²⁶, köpeklerde^{14,26}, at ve domuzlarda²⁶ viral ve polifaktöriyel enfeksiyonlara karşı sağaltım ve koruma amacıyla kullanılmış ve olumlu sonuçların alındığı bildirilmiştir. Koyunlarda immunomodülatör ajanların klinik indikasyonuna ilişkin bir yayına rastlayamadık.

Bu çalışma, immunomodülatör ajanların kuzu ishallerinin sağaltımında ve koruma amacıyla kullanılmasının yararlı olup olmayacağını saptamak amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Bu saha araştırması Bursa - Orhaneli ilçe merkezindeki bir sürüde bulunan 90 adet 0-10 günlük Sakız x Merinos melezi kuzu üzerinde Şubat - Mart 1992 ayları içinde yapılmıştır. Bu sürüde daha önceki günlerde 8 kuzunun ishalinden öldüğü saptanmıştır (Bu ölü kuzulardan alınan materyallerin bakteriyolojik muayeneleri tarafımızdan yapılmıştır). Klinik uygulamayı yaptığımız tarihte sürüde 0-10 günlük 90 adet kuzu mevcuttu. Bu kuzulardan 10 tanesinde klinik ishal semptomu belirgin bir şekilde dikkati çekmekteydi. İshalli kuzuların tamamına ve klinikman normal grünen 80 kuzunun 40 adedine (toplam 50) immunomodülasyon uygulanmış, geride kalan 40 kuzu kontrol olarak bırakılmıştır.

Bu materyalin yaş durumuna göre dağılımı aşağıdaki gibidir:

Yaş	Baypamun Gr.	Kontrol Gr.	Toplam
1 günlük	10	10	20
2 - 10 günlük	40	30	70

Hasta kuzuların hepsi 2-10 günlük grup içinde bulunmaktadır. Bu kuzulara Baypamun® dışında başka bir sağaltım uygulaması yapılmamıştır.

Sürü 1 ay süre ile klinik gözlem altında tutularak gruplar içinde yeni hastalık olgusunun ortaya çıkıp çıkmadığı kontrol edilmiştir.

İmmunomodulasyon için kuzulara 24 saat aralıkla iki dez deri altı yolla 1 cc. Baypamun® uygulanmış ve ilaç bir hafta sonra tekrarlanmıştır. Baypamun®'un etken maddesini oluşturan "Sheep Parapoxvirus"un pustular dermatitisli bir koyundan izole edildiği, koyun ve sığır hücre kültürlerinde 200 kez pasaj yapılarak atenué edildiği, preparatın etkisinin parenteral uygulamadan birkaç saat sonra başladığı ve 8-12 gün kadar devam ettiği bildirilmiştir^{26,27}.

Ölü 8 kuzunun iç organlarından ve 30 adet sağlıklı ve 10 adet ishallerli kuzudan alınan dışkı örneklerinden E.coli izolasyon için bakteriyolojik ekimler yapılmıştır. İzolasyon için kanlı agar, Mac Concey agar ve SS agar kullanılmıştır. İdentifikasyonlarda, üre, indol, MR-VP, laktoz, glikoz, H₂S, sitrat kullanım testleri uygulanmış²⁸, ince barsak lup metoduna²⁹ göre enteropatojenite testi yapılmıştır. Rutin yöntemlerle Salmonella aranmıştır³⁰.

Rotavirus tanısında ELISA test yöntemi kullanılmış, uygulama "direkt antijen detection sistem - path finder Rotavirus Reagents kit"i (Kallestad Austin) ile prospektusuna göre yapılmıştır³¹.

BULGULAR

Yapılan bakteriyolojik muayeneler sonucunda izole edilen E.coli'lerin identifikasyon testlerinde tipik özellikler gösterdikleri belirlenmiş, dışkı orjinli suşların % 60'ının enteropatojenik nitelikte olduğu saptanmıştır. Yapılan kültürel muayenelerde Salmonella spp. saptanamamıştır.

Dışkı örneklerinden yapılan ELISA test sonuçlarına göre 10 ishallerli kuzu dışkısının 8 adedi, 30 sağlıklı kuzu dışkısının ise 18 adedi Rotavirus açısından pozitif bulunmuştur.

Sağaltım amacıyla ilaç uygulanan kuzuların tümünde ishal semptomunun iki gün içerisinde kaybolduğu ve başka bir sağaltım uygulamasına gerek kalmaksızın 10 hasta kuzunun hepsinin birkaç gün içinde klinikman iyileştikleri belirlenmiştir.

Koruyucu amaçla Baypamun® uygulanan gruptaki 40 kuzu arasında gözlem süresi boyunca hiçbir ishal olgusuna rastlanmamıştır. Buna karşılık, kontrol grubunda bulunan 40 kuzudan 17'sinde ishal semptomu gözlenmiş ve bunlardan 5 adedi ölmüştür.

TARTIŞMA

Çalışmamızın materyalini oluşturan kuzulara ait dışkı örneklerinde Rota-

virus ve enteropatojenik E.coli saptanmış ve kuzulama dönemi ile başlayıp süratle yayılarak ölümlere yol açan ishal olgularının etyolojisinde bu iki mikroorganizmanın rol oynadığı ortaya çıkmıştır.

Yeni doğan ruminantlarda Rotavirus ishallerinin sıklıkla görüldüğü ve ishalin enterotoksijenik E.coli suçlarının etkisi ile şiddetlenerek ölümlere neden olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir^{5,6,7,9}.

Hayvanın enfeksiyonlara karşı direncinin kırılmasına neden olan olumsuz çevre faktörleri ve immunbiyolojik yetersizlikler primer ve sekonder enfeksiyonlara predispozisyon hazırlayan başlıca öğelerdir. Polifaktöriyel nitelikteki bu tür enfeksiyonlarda vücudun kendi savunma sisteminin paramunizasyon yoluyla humoral ve selüler düzeyde uyarılmasının yararlı olduğu kabul edilmektedir³². Özellikle henüz immun sistemleri tam olarak gelişmemiş olan yeni doğmuş hayvanların enfeksiyonlara karşı korunmasında en etkin yolun paramunizasyon olduğu bildirilmektedir³¹.

Baypamun[®] uyguladığımız ishalleri kuzuların tamamı başka hiçbir sağaltım uygulamasına gerek kalmaksızın iyileşmişlerdir. Ayrıca, deneme periyodu içinde kontrol grubundaki kuzuların % 42'sinde klinik ishal görülmesine ve bu kuzulardan 5 tanesinin ölmesine karşılık, koruyucu Baypamun[®] uygulaması yaptığımız diğer 40 kuzunun hiçbirinde ishal olgusuna rastlanmaması ve ölüm kaydedilmemiş olması immunomodülasyon uygulamalarının neonatal kuzu ishallerinde gerek sağaltım ve gerekse koruma yönlerinden üstün bir başarı sağladığını ortaya koymuştur. Ülkemizde ilk klinik immunomodülasyon uygulaması niteliğinde olan bu çalışma ile pratik için yararlı sonuçlar elde etmiş bulunmaktayız.

KAYNAKLAR

1. RADOSTITS, O.M.: Neonatal Diarrhea in Ruminants (Calves, lambs and kids) in Current Veterinary Therapy 2. Food Animal Practice, ed. by J.L. Howard, W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 105-113 (1986).
2. ZRELLI, M., MESSADI, L., BEN MILED, L., JEMMLI, M.H. et HAD-DAD, N.: Les Agents Infectieux Associes Aux Diarrhe eş Neonatales Du Veau En Tunisie, Revue Med. Vet., 141: 181-872 (1990).
3. SNODGRASS, D.R., TERZOLO, H.R., SHERWOOD, D., CAMPBELL, I., MENZIES, J.D. and SYNGE, B.A.: Aetiology of Diarrhoea in Young Calves., Vet. Rec., 119: 31-34 (1986).
4. REYNOLDS, D.J., MORGAN, J.H., CHANTER, N., JONES, P.W., BRIDGER, J.C., DEBNEY, T.G. and BUNCH, K.J.: Microbiology of Calf Diarrhoea in Southern Britain, Vet. Rec., 119: 34-39 (1986).
5. BRIDGER, J.C.: Rotavirus: The Present situation in Farm Animals, Vet. Ann., 20: 172-179 (1980).

6. BLOOD, D.C., RADOSTITS, O.M.: *Veterinary Medicine. A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Goats and Horses*, 7 ed., Bailliere and Tindall, London, 864-874 (1989).
7. AYTUĞ, C.N., YALÇIN, C., ALAÇAM, E., TÜRKER, H., ÖZKOÇ, Ü., GÖKÇEN, H.: *Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği*, Tümvet Vet. Hayv. Hiz. Ltd., 71-84 (1990).
8. SNODGRAD, D.R., ANGUSS, K.W. and GRAY, E.W.: *Rotavirus Infection in Lambs: Pathogenesis and Pathology*, Arch. Virol., 55: 263-274 (1977).
9. MEBUS, C.A.: *Ovine Rotaviruses*. In *Current Veterinary Therapy*, 2. Food Animal Practice, ed. by J.L. Howard, W.B. Saunders Comp., Philadelphia, 524 (1986).
10. BRANDT, C.D.: *Pediatric Viral Gastroenteritis During Eight Years of Study*, J. Clin. Microbiol., 18: 71-78 (1983).
11. KAPIKIAN, A.Z.: *Human Reovirus - Like Agent as the Major Pathogen Associated with (Winter) Gastroenteritis in Hospitalized Infants and Young Children*, New England J. Med., 294: 965-972 (1976).
12. ANONYM: *Recent Advances in the Knowledge of Rotavirus Diarrhoea*, WHO Diarrhoeal Diseases Control Prog. (1982).
13. PETROV, R., SHISKOV, V., VORONIN, E., BLOKHINA, N.: *The Application of Probiotics and Immunomodulators in Veterinary Medicine*, Abst. of XXIV World Vet. Cong., 18-23 August 1991, Brasil.
14. MOOS, M.: *Nonspecific Protection of Domestic Animals with the Help of so called "Biological Inducers"*, I. Int. Symp. on Quality Cont. of Anim. Vaccines., Oct. 1990, İzmir - Turkey.
15. KAUFFMANN, S.H.E.: *Lymphokine, Interleukine, Zytokine: Funktion und Wirkmechanismus*, Immun. Infekt., 15: 127-133 (1987).
16. CZERNY, C.P., BÜTTNER, M. and MAYR, A.: *Immunomodulation a new Way in Veterinary Medicine, Efficacy of Structural Proteins of Poxviruses on the Induction of Peritoneal Natural Killer (NK) Cells*, Abt. of XXIV World Vet. Cong., 18-23 August., Rio de Janeiro, Brasil (1991).
17. MULCAHY, G. and QUINN, P.J.: *A Review of Immunomodulator and their Application in Veterinary Medicine*, J. Vet. Pharmacol. Therap., 9: 119-139 (1986).
18. DENNIS, M.J., THOMA, L.H., STOTT, E.J.: *Effects of Recombinant Human alpha A Interferon in Gnotobiotic Calves Challenged with Respiratory Syncytial Virus*, Res. Vet. Sci., 50: 222-228 (1991).
19. ARCHAMBAULD, D., MORIN, G.M. and ELAZHARY, V.: *Influence*

- of Immunomodulatory Agent on Bovine Humoral and Cellular Immune Responses to parenteral Inoculation with Bovine Rotavirus Vaccines., *Vet. Microbiol.*, 17: 323-334 (1988).
20. BENZERI, C., AMADORI, M., CECCARELLY, A., GUADAGNINI, P.F., BOLZANI, E.: Comparative Evaluation of Specific Vaccines and Immunomodulators in Disease Control of Beef Cattle, *J. Vet. Med., Series B.*, 38: 60-77 (1991).
 21. CHIANG, Y. - W., ROTH, J.A., ANDREWS, J.J.: Influence of Recombinant Bovine Interferon Gamma and Dexamethasone on Pneumonia Attributable to *Haemophilus somnus* in Calves., *Amer. J. Vet. Res.*, 51: 759-762 (1990).
 22. BABIUK, L.A., LAWMAN, M.J.P. and GIFFORD, G.A.: Use of Recombinant Bovine alfa-1 Interferon in Reducing Respiratory Disease Induced by Bovine Herpesvirus Typ I, Antimicrobial Agents. *Chemotherapy* 31: 752-757 (1987).
 23. LAWMAN, M.J.F., GIFFORD, G.A., GIONGYOSSY, I.M., DRAGAN, R., HEISE, J. and BABIUK, L.A.: Activity of Polymorphonuclear (PMN) Leucocytes During Bovine Herpesvirus I induced Respiratory Disease: Effect of Recombinant Bovine Interferon Alpha - 1, *Antiviral Res.* 8: 225-238 (1987).
 24. WEISS, R.C., COX, N.R., OOSTROM-RAM, T.: Effect of Interferon or Propionibacterium Acne on Course of Experimentally Induced Feline Infectious Peritonitis in Specific Pathogen-Free and Random Source Cat., *Amer. J. Vet. Res.*, 51: 726-733 (1990).
 25. LAFRADO, L.J., MATHES, L.E., ZACK, P.M., OLSEN, R.G.: Biological Effect of Staphylococcal Protein A., Immunotherapy Induced Feline Leukemia Virus Infection., *Amer. J. Vet. Res.*, 51: 482-486 (1990).
 26. STRUBE, W., THEIN, P., KRETZDOIN, D., GRUNMACH, J.: Baypamun: New Possibility for the Control of Infectious Diseases in Domestic Animals., *Vet. Med. Rev.*, 60: 3-15 (1989).
 27. MYR, A.: Induction of Paramunity, Munich Symposium, Taylor a. Francis-Verlag, 201-227 (1981).
 28. AYHAN, H.: İnsan ve Hayvanlardan İzole Edilen *E. coli* suşlarının Biyokimyasal, Antibiyotiklere Duyarlılık ve Kolisin Plasmidin Taşıma Özellikleri Üzerinde İncelemeler., *Yük. Lisans Tezi.*, A.Ü. Vet. Fak. Mikrobiol. A.B.D. (1985).
 29. İSTANBULLUOĞLU, E.: Septicaemia Neonatorum'lu Buzağılardan İzole Edilen *E. Coli* Suşlarının Biyokimyasal, Erolojik, Enterotoksijenik, Antibiyotiklere Duyarlılık, Bulaşıcı Tip Plasmid (R-Faktör) Taşıma Özellikle-

ri İle Enfekte ve Normal Buzağılarından Elde Edilen Serum Örneklerinin İmmunoglobulin (IgG, IgA, IgM) Miktarları Üzerine İncelemeler, Doçentlik Tezi, A.Ü. Vet. Fak. (1978).

30. BEKAR, N.: Enterobacteriaceae Enfeksiyonlarında İzolasyon ve İdentifikasyon, Seminer Notları, Etlik Hay. Hast. Arařt. Enst. - Ankara (1986).
31. PATHFINDER: Rotavirus Direct Antigen Detection System, Kallestad Austin (Kit Prospektusu).
32. MAYR, A. and BÜTTNER, M.U.E.: Neue Erkenntnisse über die Grundlagen der Paramunitaet und Paramunisierung., Berl. Münch. Tierarztl. Wschr., 97: 429-435 (1984).