

Subklinik mastitisli süt ineklerinde meme içi levamizol uygulanmasında süt ve kanda adenozin deaminaz, vitamin A, beta karotin düzeyleri *

Berrin SALMANOĞLU¹, Taner PAMUKÇU², Gül YARIM²

¹ Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara ; ²Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kırıkkale

Özet: Bu çalışmada, subklinik mastitisli ineklere meme içi, immunomodülatör etkili levamizol uygulandı ve kan ile sütte adenozin deaminaz (ADA) aktiviteleri ile vitamin A ve β -karotin düzeylerine etkisi araştırıldı. Çalışma materyalini, 4-5 yaşlı, 40 Holstein ırkı inek oluşturdu. Deneme ve kontrol grubunun belirlenmesi, sütte Kaliforniya mastitis test (California mastitis test-CMT), somatik hücre sayımı (somatic cell count-SCC) ve biyokimyasal parametre sonuçlarına göre yapıldı. CMT (-) ve SCC < 300.000/ml olan 20 inek kontrol grubu, CMT (+) ve SCC > 300.000/ml olan 20 inek deneme grubu olarak belirlendi. İneklerden meme içi %4 20 ml levamizol uygulamasından önce, kan ve iki ayrı meme lobundan süt örnekleri alındı. Kan ve süt örneklerinin serumları çıkarıldı ve serumlarda ADA, vitamin A ve β -karotin düzeyleri ölçüldü. Levamizol uygulamasından önce, subklinik mastitisli ineklerin kanında ADA aktivitesi ve vitamin A ile β -karotin düzeyleri sırası ile 9,41 U/L, 0,16 mg/L ve 0,22 mg/L olarak ölçüldü. Levamizol uygulamasından sonra ise sırası ile 10,33 U/L, 0,17 mg/L, 0,15 mg/L olarak bulundu. Süt serumunda ise ADA aktivitesi ve vitamin A ile β -karotin düzeyleri, uygulama öncesinde sırası ile 7,53 U/L, 0,27 mg/L ve 1,87 mg/L, uygulama sonrasında ise sırası ile 8,29 U/L, 0,28 mg/L ve 1,85 mg/L olarak belirlendi. Subklinik mastitisli ineklerde, levamizol uygulanmasından sonra kan ve sütte ADA aktivitelerinde, vitamin A ve β -karotin düzeylerinde istatistik olarak bir değişiklik olmadığı gözlemlendi ($p \geq 0,05$).

Anahtar kelimeler: Adenozin deaminaz, β -karotin, levamizol, subklinik mastitis, vitamin A

Adenosine deaminase, vitamin A, beta carotene levels in blood and milk of cows with subclinical mastitis administered intramammary levamisole

Summary: In this study, how intramammary administration of levamisole, which has an immunomodulatory effect, in cows with subclinical mastitis affected the activities of adenosine deaminase (ADA), vitamin A and β -carotene levels was examined. The materials of the study were 40 Holstein breed cows of 4-5 years of age. The determination of the control and trial groups was realised according to the results of California mastitis test (CMT), somatic cell count (SCC) and biochemical parameters in the milk. Twenty of the cows with CMT (-) and SCC < 300.000/ml formed the control group while the other 20 with CMT (+) and SCC > 300.000/ml was used as the trial group. Before intramammary administration of 4%, 20 ml levamisole, blood and milk samples were collected. The serums were separated from milk and blood samples and the enzyme activities of ADA, vitamin A and β -carotene were measured. Before the levamisole administration, ADA, vitamin A and β -carotene levels were found as 9,41 U/L, 0,16 mg/dl and 0,22 mg/L in the study group. After the administration, the values were measured as 10,33 U/L, 0,17 mg/L and 0,15 mg/L, respectively. In the milk serum, ADA, vitamin A, β -carotene levels were found as 7,53 U/L, 0,27 mg/L and 1,87 mg/L and 8,29 U/L, 0,28 mg/L, 1,85 mg/L, respectively before and after the administration. It was found that there was no significant change of levamisole administration statistically in ADA activities and vitamin A, β -carotene levels in both milk and blood ($p \geq 0,05$).

Key words: Adenosine deaminase, β -carotene, levamisole, subclinical mastitis, vitamin A

Giriş

Mastitis oluşum nedenine göre enfeksiyöz, travmatik veya toksik, seyrine göre klinik veya subklinik, süresine göre de akut veya kronik olarak sınıflandırılmaktadır (12). Subklinik mastitis olgularında genel olarak meme dokusu ve sütteki değişimler klinik olarak gözlenemez, ancak laboratuvar çalışmaları ile sütteki somatik hücre sayısının artışı ve süt bileşenlerinin düzeylerindeki değişimler belirlenerek subklinik mastitisin teşhisine gidildiği ve patojenik etkenlerin izolasyonunun yapıldığı

bildirilmektedir (13). Subklinik mastitislerin erken teşhisi ve tedavisi hastalığın ilerlemesini ve kontaminasyonunu önler (10). Genel anlamda mastitis süt miktarında azalmaya neden olması ve üretilen süt ve süt ürünlerinde kalite düşüklüğü nedeni ile önemli ekonomik kayıplara yol açar (7,24).

Mastitiste enfeksiyon etkeninin meme kanalını enfekte etmesi ile süte geçen lökosit ve epitel hücrelerinden enzimlerin serbest hale geçmesinin, sütteki enzim seviyesini yükselttiği bildirilmektedir (9).

* Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Araştırma Fonu (99-09-01-03) tarafından desteklenmiştir.

Levamisol insan hekimliği ve veteriner hekimlikte öncelikle antelmintik olarak kullanılan, basit bir kimyasal madde olup, immunolojik olarak aktif yeni sınıf ilaçların ilk üyesidir (23). Levamisol, 1,2,3,5,6-tetrahydro-6-phenylimidazo(2,1-b)-thiazol monohydrochloride, insanlarda ve hayvanlarda hem *in vitro* hem de *in vivo* immun cevapları güçlendirdiği gösterilmiş bir ilaçtır (17). İlaç pek çok türde immunomodülatör etkiye sahip olup sığır, koyun, keçi, domuz ve kanatlılarda yaygın olarak, at, köpek ve kedide ise nadir olarak kullanılmaktadır (5,19).

Levamisolün immun sistem hücreleri üzerindeki etkileri, izole hücreler, deney hayvanları ve gönüllü sağlıklı insanlar üzerinde çalışılmıştır. İlaç, zayıflamış immun fonksiyonları iyileştirmektedir (6,16). Levamisol periferik T-lenfositlerin ve fagositlerin fonksiyonlarını güçlendirerek ve prekürsör T-hücrelerinin olgunlaşmasını sağlayarak, hücre aracılı bağışıklık reaksiyonlarını regüle etmektedir (23). Bergmann (4) ineklerde meme içi levamisol uygulamasının memedeki bağışıklığı uyardığını ileri sürmüştür. Adenozin deaminaz (EC 3.5.4.4) pürin katabolik yolunun bir enzimi olup, adenozin ve deoksiadenozini sırası ile inozin ve deoksiinozine çevirmektedir. Enzim memeli dokularında yaygın olarak bulunur (11). Lenfositler serum ADA aktivitesinin ana kaynağıdır ve artmış ADA aktivitesi lenfosit aktivasyonunu yansıtır (14).

Çalışmanın amacı, subklinik mastitisli ineklere, meme içi levamisol uygulamasının, süt ve kanda ADA aktiviteleri ile vitamin A ve β -karotin düzeylerine olan etkisinin belirlenmesidir.

Materyal ve Metot

Kırıkkale ilindeki üç özel süt sığırcılığı işletmesinde bulunan 40 adet 4-5 yaşlı Holstein ırkı inek, çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Kontrol ve deneme grubunun belirlenmesi Kaliforniya mastitis test (CMT) (18) ve somatik hücre sayısı (somatic cell count SCC) (1) sonuçlarına göre yapılmıştır. CMT (-) ve SCC < 300,000/ml süt olan 20 inek kontrol grubunu, CMT (+) ve SCC > 300,000/ml süt olan 20 inek ise deneme grubunu oluşturmuştur.

İneklerden levamisol uygulaması öncesi kan ve iki meme lobundan ayrı ayrı süt örnekleri alınmıştır. Kanlar 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve üstte kalan berrak serum kullanılmıştır. Kan ve süt serumlarında adenozin deaminaz aktiviteleri ile vitamin A ve β -karotin düzeyleri ölçülmüştür. Daha sonra kontrol ve deneme grubundaki ineklerin iki meme lobundan birine %4'lük 20 ml levamisol uygulanmış diğer loba herhangi bir uy-

gulama yapılmamıştır. Uygulama günde bir kez sağım sonrasında yapılmış olup 6 gün sürdürülmüştür. Altıncı günün sonunda aynı ineklerden tekrar kan ve süt örnekleri alınmış ve uygulama öncesi yapılan testler yapılmıştır.

Serumda adenozin deaminaz aktivitesinin ölçümü

Serum ADA aktivitesinin ölçümünde Ellis ve Goldberg (8) tarafından geliştirilen yöntem kullanıldı. Renkli indofenol oluşumuna dayanan bu yöntemde adenozinden ADA tarafından açığa çıkarılan amonyum iyonu kullanılarak, Bertholet reaksiyonu sonucu indofenol kompleksi oluşturulur. Renkli kompleks 623 nm'de kolorimetrik olarak ölçülür.

Serumda vitamin A ve β -karotin düzeylerinin ölçümü

Suzuki ve Katoh (21) tarafından bildirilen spektrofotometrik yöntemle yapıldı. Testin prensibi vitamin A ve β -karotinin sırasıyla 325 ve 453 nm'de maksimum ışık absorpsiyonuna dayanmaktadır.

İstatistik değerlendirmeler

Analiz sonuçlarının değerlendirilmesi t-testi, ve Wilcoxon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (22).

Bulgular

İneklerden levamisol uygulaması öncesinde ve sonrasında alınan kan ve süt örneklerinde ADA aktiviteleri, vitamin A ve β -karotinin düzeyleri Tablo 1, 2 ve 3'te verilmiştir. Çalışmada, uygulamadan önce sağlıklı ineklerde kandaki ADA aktiviteleri ve vitamin A, β -karotinin düzeyleri sırası ile 2,85 U/L, 0,25 mg/L ve 0,29 mg/L olarak hesaplandı. Subklinik mastitisli ineklerde ise bu değerlerin sırası ile 9,41 U/L, 0,16 mg/L ve 0,22 mg/L olduğu belirlendi. Sağlıklı ve subklinik mastitisli inekler arasındaki fark istatistik olarak ADA ve vitamin A $p \leq 0,001$ önemli, β -karotin için ise önemsiz bulundu. Uygulamadan sonra kontrol grubu ineklerin kanında ADA aktiviteleri ve vitamin A, β -karotinin düzeyleri sırası ile 4,12 U/L, 0,26 mg/L ve 0,33 mg/L, deneme grubu ineklerde ise sırası ile 10,33 U/L, 0,17 mg/L ve 0,15 mg/L olarak belirlendi. İki grubun ADA aktiviteleri arasındaki farkın $p \leq 0,001$, vitamin A ve β -karotinin düzeyleri arasındaki farkın önemsiz olduğu tespit edildi. Uygulama öncesinde, kontrol grubunda, sütte ADA aktiviteleri ile vitamin A, β -karotinin düzeyleri sırası ile 2,43 U/L, 0,21 mg/L ve 1,36 mg/L, deneme grubunda sırası ile 7,53 U/L, 0,27 mg/L ve 1,87 mg/L olarak hesaplandı. Gruplar arasındaki farkın, istatistik olarak ADA, vitamin A ve β -karotinin için $p \leq 0,001$ düzeyinde önemli olduğu anlaşıldı. Uygulama sonrasında, sağlıklı ineklerin süt serumu ADA aktiviteleri, vitamin A, β -karotinin düzeyleri sırası ile 2,75 U/L, 0,24 mg/L ve 1,55 mg/L, subklinik mastitisli

Tablo 1. Kontrol ve deneme grubu ineklerde ADA aktiviteleri (U/L).

Table 1. ADA activities in control and trial group of cows (U/L).

		Kontrol (Levam. önce.)	Kontrol (Levam. sonra)	Deneme (Levam. önce)	Deneme (Levam. sonra)	Önemlilik
Kan değerleri	Min.	0,39	0,10	4,93	2,93	a-b:p≤0,01
	Maks.	5,71	6,73	16,25	32,11	c-d:p≥0,05
	X ± Sx	2,85±1,54	4,12±2,09	9,41±3,37	10,33±5,98	a-c:p≤0,001
	n	20 (a)	20 (b)	20 (c)	20 (d)	b-d:p≤0,001
Levamizol uygulanan meme lobu A	Min.	0,20	0,40	3,37	4,06	e-f:p≥0,05
	Maks.	5,54	4,95	14,65	18,32	g-h:p≥0,05
	X ± Sx	2,43±1,71	2,75±1,44	7,53±2,84	8,29±3,76	e-g:p≤0,001
	n	20 (e)	20 (f)	20 (g)	20 (h)	f-h:p≤0,001
Levamizol uygulanmayan meme lobu B	Min.	0,40	0,20	4,55	5,64	k-l:p≥0,05
	Maks.	4,26	4,26	14,55	17,62	m-n:p≥0,05
	X ± Sx	2,21±1,28	2,24±1,44	9,07±3,15	8,71±3,94	k-m:p≤0,001
	n	20 (k)	20 (l)	20 (m)	20 (n)	l-n:p≤0,00
Önemlilik	e-p:≥0,05	f-l:p≥0,05	g-m:p≤0,05	h-n:p≥0,05		

Tablo 2. Kontrol ve deneme grubunun vitamin A düzeyleri (mg/L).

Table 2. Vitamin A levels of control and trial group (mg/L).

		Kontrol (Levam. önce.)	Kontrol (Levam. sonra)	Deneme (Levam. önce)	Deneme (Levam. sonra)	Önemlilik
Kan değerleri	Min.	0,20	0,20	0,10	0,11	a-b:p≥0,05
	Maks.	0,32	0,33	0,24	0,26	c-d:p≥0,05
	X ± Sx	0,25±0,04	0,26±0,04	0,16±0,04	0,17±0,04	a-c:p≤0,001
	n	20 (a)	20 (b)	20 (c)	20 (d)	b-d:p≤0,00
Levamizol uygulanan meme lobu A	Min.	0,17	0,19	0,16	0,24	e-f:p≤0,05
	Maks.	0,28	0,32	0,31	0,32	g-h:p≥0,05
	X ± Sx	0,21±0,03	0,24±0,04	0,27±0,04	0,28±0,02	e-g:p≤0,001
	n	20 (e)	20 (f)	20 (g)	20 (h)	f-h:p≤0,001
Levamizol uygulanmayan meme lobu B	Min.	0,16	0,11	0,16	0,18	k-l:p≥0,05
	Maks.	0,30	0,31	0,31	0,30	m-n:p≥0,05
	X ± Sx	0,25±0,04	0,25±0,06	0,27±0,04	0,26±0,04	k-m:p≥0,05
	n	20 (k)	20 (l)	20 (m)	20 (n)	l-n:p≤0,05
Önemlilik	c-k:p≤0,05	f-l:p≥0,05	g-m:p≥0,05	h-n:p≤0,05		

Tablo 3. Kontrol ve deneme grubunun β-karotin düzeyleri (mg/L).

Table 3. β-carotene levels of control and trial group (mg/L).

		Kontrol (Levam. önce.)	Kontrol (Levam. sonra)	Deneme (Levam. önce)	Deneme (Levam. sonra)	Önemlilik
Kan değerleri	Min.	0,12	0,08	0,08	0,04	a-b:p≥0,05
	Maks.	0,89	0,97	0,78	0,62	c-d:p≥0,05
	X ± Sx	0,29±0,04	0,33±0,04	0,22±0,04	0,15±0,03	a-c:p≥0,05
	n	20 (a)	20 (b)	20 (c)	20 (d)	b-d:p≤0,05
Levamizol uygulanan meme lobu A	Min.	1,09	1,12	1,01	1,51	e-f:p≤0,0
	Maks.	1,82	2,21	2,36	2,13	g-h:p≥0,05
	X ± Sx	1,36±0,04	1,55±0,07	1,87±0,07	1,85±0,04	e-g:p≤0,001
	n	20 (e)	20 (f)	20 (g)	20 (h)	f-h:p≤0,001
Levamizol uygulanmayan meme lobu B	Min.	1,12	0,70	1,09	1,09	k-l:p≥0,05
	Maks.	2,13	2,09	2,10	2,10	m-n:p≥0,05
	X ± Sx	1,74±0,06	1,67±0,09	1,77±0,05	1,67±0,07	k-m:p≥0,05
	n	20 (k)	20 (l)	20 (m)	20 (n)	l-n:p≥0,05
Önemlilik	e-k:p≤0,001	f-l:p≥0,05	g-m:p≥0,05	h-n:p≤0,05		

ineklerin bu değerleri sırası ile 8,29 U/L, 0,28 mg/L ve 1,85 mg/L olarak tespit edildi. Levamisol uygulaması sonrasında, sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde yapılan bu test sonuçlarının ADA, vitamin A ve β -karotinin düzeyleri için $p \leq 0.001$ önemlilik derecesinde farklı olduğu belirlendi.

Tartışma ve Sonuç

Meme başının ve memenin doğal savunma mekanizmalarını etkileyen ve bütünlüğünü bozan travmatik etkiler ve patolojik durumlar ile hayvanın bağışıklık sistemini zayıflatan, gerilim yaratan çevresel etkiler ile mastitislere karşı eğilim önemli ölçüde artar. Memenin doğal direncinin kırıldığı durumlarda, bir kısmı meme florasını oluşturan, çoğunluğu ise çevreden gelen mikroorganizmalar memeyi kolayca enfekte ederek mastitise yol açarlar (1,3). Bu çalışmada, meme içi levamisol uygulaması öncesinde, sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerin kan ve süt serumları ADA düzeyleri arasında $p \leq 0.001$ düzeyinde farklılık olduğu belirlendi. Lenfositler, serum ADA aktivitesinin ana kaynağıdır ve artmış ADA aktivitesi lenfosit aktivasyonunu yansıtır (14). Yapılan bir çalışmada ADA'nın immun sistemle ilişkili ve hücrel immunitenin bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (2). Serum ADA aktivitesinin değişimi, otoimmun ve yanğusal hastalıkların erken tanısında ve tedavinin izlenmesinde önemlidir (21). Daha önce subklinik mastitiste ADA aktivitesi kriter olarak alınmadığı için benzer bir çalışma ile karşılaştırılması yapılamadı. Deneme grubu ineklerde kan ADA aktiviteleri, uygulama öncesinde ve sonrasında sırası ile 9,41 U/L ve 10,33 U/L olarak ölçüldü ($p \geq 0.05$). Aynı ineklerde süt serumu ADA aktiviteleri, uygulama öncesinde 7,53 U/L, sonrasında ise 8,29 U/L bulundu ($p \geq 0.05$). Retinoidler hücrel farklılaşmayı, apoptozisi ve proliferasyonu kontrol eder. Normal meme doku epitel hücrelerinin de büyümesinden sorumludur. Bu hücreler retinoik asit sentezleme kapasitesindedirler (15). Levamisolün meme epitellerinin retinoik asit sentezinde etkili olmadığı görülmektedir.

Sonuç olarak, subklinik mastitisli ineklerle sağlıklı olanların kan ve süt ADA aktiviteleri arasında önemli farklılıklar bulunmasına rağmen, meme içi levamisol uygulamalarının enzim düzeyinde herhangi bir değişime yol açmadığı belirlendi. Bu sonuca göre, levamisol uygulamasına bağlı olarak lenfosit aktivasyonunda lokal değişimin 6 günlük çalışma süresi içinde sağlanmadığı söylenebilir. Benzer şekilde uygulama sonunda süt ve kan vitamin A ve β -karotin değerlerinde de istatistik olarak önemli bir fark gözlenmemiştir.

Kaynaklar

1. **Alaçam E** (1997): *Meme Hastalıkları*. 389-425. In: E Alaçam (Ed), Sığır Hastalıkları. Medisan Yayınevi, Ankara.
2. **Baganha MF, Pego A, Lima MA, Gaspar EV, Condeino AR** (1990): Serum and pleural adenosine deaminase. *Chest*. **97**, 605-610.
3. **Bakken G** (1987): *Bovine mastitis and mastitis control strategy*. *Irish Vet J*. **41**, 235-241.
4. **Bergmann AV** (1993): *Eutervertraglichkeit von tetramisol und levamisolhydrochlorid und rezepturvorschlag zum intramammaren einatz beim rind gegen prototheca zopfii*. *Berl Münch Tierarztl Wschr*. **106**, 253-256.
5. **Bogan JA, Marriner SE, Galbraith EA** (1982): *Pharmacokinetics of levamisole in sheep*. *Res Vet Sci*. **32**, 124-126.
6. **Brunner CJ, Muscoplat CC** (1980): *Immunomodulatory effects of levamisole*. *J Am Vet Med Assoc*. **176**, 1156-1162.
7. **Dohoo IR, Meek AH** (1982): *Somatic cell counts in bovine milk*. *Can Vet J*. **23**, 1-150.
8. **Ellis G, Goldberg DM** (1970): *A reduced nicotinamide adenine dinucleotide-linked kinetic assay for adenosine deaminase activity*. *J Lab Clin Med*. **76**, 507-517.
9. **Ergun H, Mert N** (1984): *Sütte mastitis nedeniyle meydana gelen biyokimyasal değişimler* s. 49-61 I. Mastitis Söminerisi, 24 Kasım, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara.
10. **Graaf T, Dwinger R** (1995): *Estimation of milk production losses due to subclinical mastitis in dairy cattle in Costa Rica*. p. 25-27. In: Proceedings of the third IDF International Mastitis Seminar, Book II, 28 May - 1 June, Tel-Aviv, Israel.
11. **Grosjean H, Auxilien S, Constantinesco F, Siman C, Corda Y, Becker HF, Foiret D, Morin A, Jin YX, Fournier M, Fourrey JL** (1996): *Enzymatic conversion of adenosine to inosine and to N¹-methylinosine in transfer RNAs*. *Biochemic*. **78**, 488-501.
12. **IDF** (1983): *International Progress in Mastitis Control*. Bulletin of the International Dairy Federation, No. 187, Belgium.
13. **IDF** (1987): *Bovine Mastitis: Definition and Guidelines for Diagnosis*. Bulletin of the International Dairy Federation, No. 211, Belgium.
14. **Jenuth JP, Mably ER, Snyder FF** (1996): *Modelling of purine nucleoside metabolism during mouse embryonic development*. *Biochem Cell Biol*. **74**, 219-225.
15. **Miray-Y-Lopez R, Zheng LW, Kuppumbatti YS, Rexer B, Ying Y, Org ED** (2000): *Retinol conversion to retinoic acid is impaired in breast cancer cell lines relative to normal cells*. *J Cell Physiol*. **185**, 302-309.
16. **Panigrahy LC, Grumbles LC, Millar D, Naqi SA, Hall CF** (1978): *Antibiotic-induced immunosuppression and levamisole-induced immunopotention*. *Avian Dis*. **23**, 401-409.
17. **Renoux G, Renoux M** (1972): *Levamisole inhibits and cures a solide malignant tumor and its pulmonary metastases in mice*. *Nature New Biol*. **240**, 217-218.

18. **Schalm OW, Noorlander DO** (1957): *Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test*. J Am Vet Med Assoc, **130**, 199-207.
19. **Siwicki AK, Cossarini-Dunier M** (1990): *Effect of levamisole on the lymphocyte and macrophage activity in carp (Cyprinus carpio)*. Ann Rech Vet, **21**, 95-100.
20. **Stancikova M, Lukac J, Istok R, Criistalli G, Rovensky J** (1998): *Serum adenosine deaminase activity and its isoenzyme pattern in patients with systemic lupus erythematosus*. Clin Exp Rheum, **16**, 583-586.
21. **Suzuki A, Katoh K** (1990): *A simple and cheap method for measuring serum vitamin A in cattle using only spectrophotometer*. Jpn J Vet Sci, **52**, 1281-1283.
22. **Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V** (1995): *Biyoistatistik*. 6. Baskı, Özdemir Yayıncılık, Ankara.
23. **Symoens J, Rosenthal M, Debrabander M, Goldstein G** (1979): *Immunoregulation with levamisole*. Immunopathology, **2**, 49-68.
24. **Watson DL, McColl ML, Davies H** (1996): *Field trial of a staphylococcal mastitis vaccine in dairy herds: clinical, subclinical and microbiological assessments*. Aust Vet J, **74**, 447-450.

Geliş tarihi : 22.6.2001 / Kabul tarihi : 21.9.2001

Yazışma adresi:

Doç.Dr.Berrin Salmanoğlu
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
06110 Dışkapı Ankara