



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



SİMENTAL IRKI İNEKLERDE SUBKLİNİK
MASTİTİSE NEDEN OLAN PATOJENLERİN
ARAŞTIRILMASI

Mehmet Akif ARAS

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN

ANKARA

2021

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİMENTAL IRKI İNEKLERDE SUBKLİNİK
MASTİTİSE NEDEN OLAN PATOJENLERİN
ARAŞTIRILMASI

Mehmet Akif ARAS

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN

ANKARA

2021

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Simental Irkı İneklerde Subklinik Mastitise Neden Olan Patojenlerin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Mehmet Akif ARAS

Tarih: 12/03/2021

İmza:

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	I
Kabul ve Onay	II
İçindekiler	III
Önsöz	VI
Simgeler ve Kısaltmalar	VII
Şekiller	IX
Çizelgeler	X
1.GİRİŞ	1
1.1.Mastitislerin Sınıflandırılması	1
1.1.1 Klinik Mastitis	1
1.1.1.1. Şiddetli Klinik (Perakut) Mastitis	1
1.1.1.2.Hafif Klinik (Akut, Subakut,)Mastitis	1
1.1.2. Kronik Mastitis	2
1.1.3 Subklinik Mastitis	2
1.2. Mastitise Neden Olan Mikroorganizmalar	3
1.2.1.Bulaşıcı Mikroorganizmalar	4
1.2.1.1. Streptococcus agalactia	5
1.2.1.2. Staphylococcus aureus	7
1.2.2.Koagulaz Negatif Stafilokoklar	10
1.2.3. Mycoplasma bovis	11
1.2.4.Corynebacterium bovis	12
1.2.5. Çevresel Mikroorganizmalar	12
1.2.6. Çevresel Streptokoklar	13
1.2.6.1.Streptococcus uberis	13
1.2.6.2. Streptococcus dysgalactia	13
1.2.7. Koliformlar	14
1.2.7.1. Escherichia coli	15
1.2.7.2. Klebsiella pneumoniae	15
1.2.8. Lactococcus Spp.	16
1.3. Diğer Mikroorganizmalar	20
1.3.1.Pseudomonas aeruginosa	20
1.3.2.Trueperella pyogenes	20
1.4. Viruslar	21
1.4.1.Bovine Leukaemia Virus (BLV)	21
1.4.2.Bovine Herpes Virus (BHV) 4	22
1.5. Mantarlar	22
1.6.Algler (Prototheca)	24
1.7.Mastitislerin Ekonomik Önemi	25
1.8.1. Klinik Mastitislerin Tanısı	29

1.8.1.1. İnspeksiyon	29
1.8.1.2. Palpasyon	30
1.8.1.3.Sütün Görünümüne Bakılması	31
1.8.1.4.İneğin Davranışlarındaki Değişiklik	33
1.8.2. Subklinik Mastitislerin Tanısı	33
1.8.2.1.pH Değişikliğinin Saptanması	35
1.8.2.2.Brom Creosol Purple (BCP) Testi	35
1.8.2.3.Brom Thymol Blue (BTP) Testi	35
1.8.2.4.Somatik Hücre Sayısı (SHS)'nın Saptanması	36
1.8.2.4.1.Mikroskopla Somatik Hücre Sayısı'nın Saptanması	43
1.8.2.4.1.1.Nitel (yaklaşık) Sayım	43
1.8.2.4.1.2.Nicel Kesin Sayım	44
1.8.2.5.Elektronik Olarak Somatik Hücre Sayımı	45
1.8.2.5.1. Coulter Counter ile Sayım	45
1.8.2.6.California Mastitis Testi (CMT) ile Somatik Hücre Sayımı	48
1.8.2.7.Boyama ve Mikroskopik Sayım Yöntemi	49
1.8.2.8.Biyokimyasal Yöntemler	50
1.8.2.9.ProStaph Test'in Kullanılması	53
1.8.2.10.Sütün Elektrik İletkenliğinin (EI) Ölçülmesi	54
1.8.2.11.Enzim Oranı	56
1.8.2.11.1. N-acetyl-p-D-glukosamidaz (NaGase)	57
1.8.2.11.2. Diğer Enzimler	58
1.8.2.12. Akut Faz Proteinler	59
1.8.2.13. Bakteriyolojik Muayene	59
1.8.2.14. Sitokinler	60
1.8.2.15. Diğer Yöntemler	60
1.9. Mastitislerden Korunma Yöntemleri	61
1.9.1.Çevresel ve bulaşıcı mastitis etkenlerinin yol açtığı mastitislerden korunma amacıyla alınması gereken önlemler	63
1.9.1.2.Uygun Sağım Hijyeninin Kullanılması	63
1.9.1.3. Sağım Makinalarının fonksiyonu	64
1.9.1.4. Sağım öncesi ve Sonrası Meme Başlarının Dezenfeksiyonu	66
1.9.1.5. Klinik Mastitislerin Tedavisi ve Kayıt Edilmesi	68
1.9.1.6. Üç veya Fazla Mastitis Geçiren (Kronik Enfekte) İneklerin Kesime Gönderilmesi	68
1.9.1.7. Çevresel Mastitislerden Korunma Programı Özet	69
1.9.2. Bulaşıcı Mikroorganizmalara Bağlı Mastitisleri Önleme Stratejileri	70
2.GEREÇ ve YÖNTEM	72
2.1. Gereç	72
2.2. Yöntem	72
3. BULGULAR	74
4.TARTIŞMA VE SONUÇ	76
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	81
ÖZET	82
SUMMARY	83



ÖNSÖZ

Mastitis süt inekçiliğinin en önemli sorunlarının başında gelmekte olup, işletmelerde önemli ekonomik kayıplara neden olur. Mastitisin neden olduğu ekonomik kayıpların en önemli kısmı süt verimindeki düşüşten kaynaklanır. İneklerde mastitise yüzlerce mikroorganizma neden olmakla birlikte, en sık izole edilen bakteriler stafilokok ve streptokok türü bakteriler ile gram negatif bakterilerdir. Bu bakteriler ya sağım sırasında ya da sağım sonrasında memeye bulaşır. Bulaşmanın önlenmesi için mastitis kontrol programlarını sıkıca uygulamak lazımdır.

Yapılan çalışmanın planlanması, yürütülmesi ve yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen, başta tez danışmanım sayın Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN olmak üzere, çalışma materyalinin toplanmasında katkısı olan Doç. Dr. Seçkin Salar'a mikrobiyolojik ekimlerin yapılmasını sağlayan Prof. Dr. Mehmet AKAN'a, ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerine ve lisansüstü öğrencilerine teşekkür ederim. Ayrıca maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan aileme teşekkürü bir borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
µg	Mikrogram
AB	Avrupa Birliği
CMT	California Mastitis Test
KNS	Koagulaz Negatif Stafilokoklar
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
gr	Gram
kg	Kilogram
ml	Mililitre
NAGase	N-asetil-β-glukozamidaz
NMC	National Mastitis Council
PCR	Polimeraz Chain Reaction
pH	Asit ve Baz sabiti
SHS	Somatik Hücre Sayısı
sn	Saniye
LPS	Lipopolisakkarit
LAB	Laktik Asit Bakteri
°C	Derece
\$	Dolar
€	Euro
BCP	Brom Creosol Purple
BTP	Brom Thymol Blue
LS	Linear skor
Eİ	Elektrik İletkenliği

SAA	Serum Amyloid A
RT-PCR	Reverse Transcriptase Poliymerase Chain Reaction
TD	Teat Dipping
KD	Kuru Dönem



ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Sağda KNS'lerin kanlı agarda üremeleri, soldaki resimde ise KNS kolonileri görülmektedir	11
Şekil 1.2.	İzole edilen Lactococcus bakterilerinin CHROMagardaki kolonileri	18
Şekil 1.3.	Sağım Hijyeni Skor Değerlendirmesi	63



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Ülkemizde bazı bölgelerdeki <i>S. Agalactia</i> mastitislerinin prevalansı.	6
Çizelge 1.2.	Dünyada bazı bölgelerde <i>S.aureus</i> mastitislerinin prevalansı	8
Çizelge 1.3.	Ülkemizde bazı bölgelerdeki <i>S. Aureus</i> mastitislerin prevalansı	9
Çizelge 1.4.	DNA squencing yöntemiyle tanımlanan <i>Lactococcus</i> bakterilerinin çizelgesi	19
Çizelge 1.5.	Mastitise yol açabilecek bazı maya, küf ve mantarlar	23
Çizelge 1.5. Devam	Mastitise yol açabilecek bazı maya, küf ve mantarlar	24
Çizelge 1.6.	Subklinik mastitise bağlı yıllık ekonomik kayıp nedenleri ve oranları	26
Çizelge 1.7.	Klinik mastitise bağlı yıllık ekonomik kaybın nedenleri ve oranları	26
Çizelge 1.8.	Finlandiya’da, sütün fiyatlandırılmasında ve kalitesinin sınıflandırılmasında SHS’nin kullanımı	37
Çizelge 1.9.	Mastitisli sütün bileşiminde ye yapısında meydana gelen değişimler.	37
Çizelge 1.10.	Çeşitli Linear Skor değerlerinde izole edilen etkenlerin %’lik oranları	39
Çizelge 1.11.	Tank sütü SHS’nı etkileyen faktörler	41
Çizelge 1.12.	Tank sütü SHS’nın süt verimine etkisi (ortalama yılda 5 ton süt verirse)	42
Çizelge 1.13.	Mikroskopta nitel sayım yöntemiyle SHS tahmini.	43

Çizelge 1.14.	CMT'nin değerlendirilmesi.	49
Çizelge 1.15.	E.İ. ölçülmesinin subklinik ve klinik mastitislerde tahmini teşhis kapasitesi	55
Çizelge 1.16.	Çeşitli mikroorganizma ve CMT sonuçlarında bazı araştırmacıların bulduğu Eİ değerleri.	56
Çizelge 1.17.	Yangı sırasında, sütteki enzim değişimi	57
Çizelge 1.18.	Normal ve subklinik mastitisli süt serumlarına ait enzim seviyeleri	58
Çizelge 3.1.	Yapılan çalışmanın bakteriyolojik analiz sonuçları	74
Çizelge 3.2.	Yapılan çalışma sonucu alınan süt örneklerinden izole edilen bakterilerin neden olduğu mastitis çeşitlerine göre sınıflandırılması	75
Çizelge 3.3.	(ALKAN 2014) Yaptığı Çalışmanın Bakteriyolojik Analiz Sonucu	75

1. GİRİŞ

Meme bezlerinin bakteriyel, kimyasal, termal, ve mekanik yaralanmalar sonucu meydana gelen reaksiyona bağlı olarak mastitis oluşur. Yangısal tepki sonucunda nötrofil sayısı ile kan proteinlerinin düzeyi süt ve meme dokusunda artar. Farklı formlarda mastitis belirtilerinin oluşmasının sebebi memenin irkiltici etkiyi göz ardı etmesi, yıkımlanması, yenilenmesi ve fizyolojik özelliklerini yeniden kazanabilmesi için gösterdiği fiziksel, kimyasal, bakteriyolojik ve patolojik değişiklerdir (Alaçam, 1997).

1.1. Mastitislerin Sınıflandırılması

1.1.1. Klinik Mastitis

1.1.1.1.Şiddetli Klinik(Perakut) Mastitis

Meme bölümlerinden ani bir şişme, sıcaklık, sertlik ve duyarlılık vardır. Sütün yapısında bozulma ve karakterinde belirgin bozulma (sulu, kanlı flakonlu veya pıhtılı) vardır. Çoğu şiddetli klinik (perakut) mastitis olgusunda, lokal belirtilerin yanı sıra genel durum bozukluğu da gözlenmektedir. Vücut sıcaklığı artar, solunum ve kalp ritmi hızlıdır, isteksizlik, halsizlik, iştah ve vücut kondisyon skor kaybı görülür. Hasta hayvan topallayabilir. Mastitise neden olan bazı bakteriler akciğer ve eklemlerde de enfeksiyon oluşturabilir (Baştan, 2019).

1.1.1.2. Hafif Klinik (Akut, Subakut) Mastitis

Klinik mastitisten farklı olarak daha hafif seyreden ve sütte azalmanın yanı sıra sütün karakterinde (renk ve kıvam) değişikliği görülür. Meme yangılı olup, hassasiyet ve duyarlılık gözlenir. Ancak genel durum bozukluğu çok belirgin olmamakla birlikte, genel durum bozukluğunun gözlenmediği olgular da bildirilmiştir (Baştan, 2019).

1.1.2. Kronik Mastitis

Meme dokusunda sürekli var olan ve çoğunlukla subklinik seyretmekte birlikte, düzensiz aktif forma geçebilen enfeksiyonudur. Bu tip parlamaların tekrardan gizli (latent) duruma geçebildiği bildirilmiştir (Baştan, 2019).

1.1.3 Subklinik Mastitis

Enfeksiyon etkenlerinin meme dokusunda bulunmasına karşın, memede ve sütte gözle görülebilir bir bozukluğun olmadığı bir mastitis şeklidir. Ancak sütteki değişiklikler indirekt testlerle ortaya konulmaktadır. Sütte somatik hücre sayısında artma, sütün birleşenlerindeki değişme ve patojen etkenlerin izolasyonu ile tanınabilen bir meme dokusu yangısıdır. Kolay tanınmadıkları için sürü içinde süratle yayılırlar ve bu nedenle üzerinde durulması gereken önemli bir konudur. Bu tip mastitisler, klinik olanlara oranla 40-50 kat daha fazla görülmektedir (Alaçam, 1997; NMC, 1996).

Ticari süt işletmelerinde meydana gelen mastitis kaynaklı ekonomik kaybın %70'ini subklinik mastitisler oluşturmaktadır.

Finlandiya'da yapılan bir çalışmada (Schukken ve ark, 2003) klinik mastitislerin prevalansının %32'den %23'e dmesine rağmen subklinik mastitis oranında klinik mastitisdeki dmeye bağlı bir azalma olmadığını bildirilmektedir. 1993 yılında Avrupa'daki st sürülerde; Belçika'da %35, Danimarka'da % 49,9, Hollanda'da %15, İsveç'te ise % 30 oranında subklinik mastitise rastlanılmıştır (NMC, 1996).

1.2.Mastitise Neden Olan Mikroorganizmalar

Mastitise sebep olan mikroorganizmalar; bulaşıcı, çevresel, fırsatçı ve diğerleri diye 4 grup halinde incelenmektedir.

Karılaılan mastitis olgularının %95'inden *S.agalactia*, *S.aureus*, *S. dysgalactia*, *S. uberis* ve *E. coli* geri kalan %5 lik kısımdan ise diğer mikroorganizmalar izole edilmektedir.

1.2.1. Bulaşıcı Mikroorganizmalar

Bulaşıcı mikroorganizmalar inekten ineğe veya enfekte memeden sağlıklı olana bulaşma özelliği gösterirler ve bazı özellikleri birbirine benzerdir. Bu grup mikroorganizmalar memenin saprofitidir, inekler arasında kolayca yayılırlar. Son yıllarda bulaşıcı özelliklerinden dolayı eskiden çevresel mikroorganizma kabul edilen *S. dysgalactia* ile fırsatçı diye bilinen koagulaz negatif stafilokoklar da bulaşıcı mikroorganizmalar sınıfına sokulmuştur.

Önemli Özellikleri:

1. Meme dokusunun ve meme başı derisinin doğal saprofitidir.
2. Bu grup mikroorganizmalar inekten ineğe veya memeden memeye sağım sırasında bulaşır.
3. Meme başı kanalının uç bölümünde koloniler oluşturur ve bu bölgede yavaşça çoğalır.
4. Sürülerde kuru dönem tedavisi ve sağım sonrası meme başı dezenfeksiyonu ile kontrol altına alınırlar.
5. Sürüde bulaşıcı etkene bağlı mastitis insidensi yüksek ise tipik olarak somatik hücre sayısı yüksektir, fakat toplam bakteri sayısı ve klinik mastitis insidensi genellikle düşüktür (Baştan, 2019).

Bulaşıcı Mastitis Patojenleri

1.2.1.1. Streptococcus agalactia

Latince strepto zincir, coccus ise halka demektir. Streptococcus iç içe geçmiş yuvarlak halkalar anlamındadır. Agalactia'nın anlamı ise süt yapımının olmayışıdır (Baştan, 2019).

Kronik kataral mastitise neden olan bu etken streptokokların genelözelliklerini taşımakta olup, gram pozitif, hareketsiz ve kapsüllüdür. *Streptococcus agalactia* dış etkilere oldukça duyarlıdır. Etken ahırlarda 24 saatten fazla aktif kalmaz. Ancak sağım yapanların ellerinde uzun zaman canlı kaldığı bildirilmektedir. Bulaşmada süt sığırcıların elleri ve süt sağım makineleri önem taşır. Ayrıca mekanik olarak sinekler de enfeksiyonun bulaşmasında rol oynar (İzgür, 1984; Philpot ve Nickerson, 1991).

Düveler enfekte ineklerin meme lobunu emerlerse, etkenin onlara da bulaşma riski bulunmaktadır. Enfekte meme loblarında ve sürü tank sütünde somatik hücre sayısı oldukça yüksek olmaktadır. Etken alveollerde involusyonla sebep olmaktadır (Schalm ve ark; 1971).

Çizelge 1.1. Ülkemizde bazı bölgelerdeki *S. agalactia* mastitislerinin prevalansı.

Araştırmacı	Laktasyonun Dönemi	Subklinik Mastitis Oran(%)	Bölge	S.Agalactia Oranı (%)
Vural ve ark (1999)a	Gebeliğin 8.ay Prepartum 14.gün Postpartum 14.gün	15 25 28.33	Ankara	7.14 13.04
Vural ve ark (1999)b	Laktasyonun 1.ay Laktasyonun 4.ay Laktasyonun 6.ay Laktasyonun 7.ay	14.28 32.35 20.16 10.92	Ankara	5.76 4.16 5.68 4.05
Musal (2001)	Laktasyonda	73.75	Ankara	3.28
Uçar (1998)	Laktasyonda	55.28	Konya	6.3
Rişvanlı (2001)	Laktasyonda	55.17	Elazığ	2.92
Gülcü ve ark(2002)	Laktasyonda		Elazığ	6.16
Türütoğlu ve ark (2001)	Laktasyonda	32.48	Burdur	1.9
Gürtürk ve ark(1998)	Laktasyonda	7.84	Van	5.85
Alaçam ve ark(1989)	Laktasyonda	6.78- 18.75	Afyon	4.76

1.2.1.2. Staphylococcus aureus

Gram pozitif ve 1-2 mm çapında olan bu bakterinin oluşturduğu mastitis laktasyonun her döneminde yaygın olsa da genellikle kuru dönemin bitiminde ve doğumdan hemen sonra görülür. Sağlıklı meme başı derisinde sık bulunmayan bu etken evre sıcaklığın değişimi viral enfeksiyonlar ve meme epitelinin yaralanmaları gibi uygun koşullar oluştuğunda meme kanalına kolonize olarak süratle çoğalabilmektedir. Etken, enfekte meme lobundan, birherhangi bir anormallik bulunmamaktadır (Baştan, 2019).

Kronik olgularda alveoller involle olur, çevresi granülosit ntrotiler ve bakteri içeren fibröz kapsülle kaplanır, fibröz doku şekillenmesi nedeniyle palpasyonda fibrtik bölgeler tespit edilmekte ve uygulanan antibiyotikler, meme içinde iyi dağılmamakta ve skar dokudan dolayı etkilerini kaybetmektedir. Çoğunlukla enfeksiyon, subklinik seyretse de zaman zaman akut parlamalara da rastlanılır. Klinik olarak, memelerde şişkinlik, sütün karakterinde değişimler grlmektedir. Bu etkene bağlı mastitisi antibiyotiklerle tedavi etmek oldukça zordur. Enfektik memeler, sürü sağlığını sürüde var oldukları süreç boyunca tehdit etmektedir bu sebepten ötürü enfektif ineklerin sürüden uzaklaştırılması veya kesime sevk edilmeleri önerilmektedir. Oysa akut olgularda, meme şiş ve beden ısısı oldukça yüksektir. Enfeksiyon bazen gangrenöz karakterde olabilmektedir. Gangrenzl meme lopları palpasyonda oldukça soğuk hissedilmektedir (Pyörala, 1995; Sommerhauser ve ark., 2003).

Staphylococcus aureus, toksin ve koagulaz enzimi üretmektedir. *S.aureus*'un α , β , δ olmak üzere üç toksini saptanmıştır. B toksini tanıda yardımcı olur. toksini alyuvarların gerçek hemolizine sebep olmaktadır (Schalm ve ark., 1971).

Çizelge 1.2. Dünyada bazı bölgelerde *S.aureus* mastitislerinin prevalansı.

Araştırmacı	Laktasyon Dönemi	Subklini k Mastitis Oranı (%)	BÖLGE	ÜLKE	S.AUREU S ORANI (%)
Hagiwara ve ark. (2003)	Laktasyonda	73	Hokkaido	Japonya	42.42
Oliver ve ark. (1989)	Laktasyonda		Tennessee	A.B.D	67.4
Godden,S.,M. (2002)	Laktasyonda	20.50	Guelph	Kanada	56.12
Malinowski ve ark.(2003)	Gebe Düve	34.8	Bydgoszcz	Polonya	6.4
Schwan, O. (1978)	Laktasyonda		Stockholm	İsveç	10.9
Busato,A(2000)	Postp. 7-100gün Postp. 101-305	21.2 34.5	Berne	İsviçre	16 7.4
Dego ve Terake (2003)	Laktasyonda	40.4	Debre-zeit	Etiyopya	39.2
Shitandi ve ark (2004)	Laktasyonda		Elburgennaiwash	Kenya	34.2

Çizelge 1.3. Ülkemizde bazı bölgelerdeki *S. Aureus* mastitislerin prevalansı.

Araştırmacı	Laktasyonun Dönemi	Subklinik Mastitis Oran(%)	Bölge	S.Aureus Oranı (%)
Vural ve ark (1999)a	Gebeliğin 8.ay Prepartum 14.gün Postpartum 14.gün	15 25 28.33	Ankara	42.85 43.37 37.03
Vural ve ark (1999)b	Laktasyonun 1.ay Laktasyonun 4.ay Laktasyonun 6.ay	10.92 32.35 20.16	Ankara	26.47 41.51 25.60
Küplülü ve ark. (1995)	Laktasyonda	46.42	Ankara	33.3
Musal (2001)	Laktasyonda	73.75	Ankara	44.9
Uçar (1998)	Laktasyonda	55.28	Konya	18.96
Hadimli ve ark. (2001)	Laktasyonda	49.2	Konya	57.08
Rişvanlı (2001)	Laktasyonda	55.17	Elazığ	76.6
Yıldız ve ark.(2001)	Laktasyonda	25.24	Elazığ	31.4
Türütoğlu ve ark.(2001)	Laktasyonda	32.48	Burdur	31.4
Gürtürk ve ark. (1998)	Laktasyonda	7.84	Van	25.39
Alaçam ve ark. (1989)	Laktasyonda	6.78- 18.75	Afyon	26.19

1.2.2. Koagulaz Negatif Stafilokoklar

Koagulaz negatif stafilokoklar (KNS) gram pozitif koklardır ve koagulaz testinde pıhtı oluşturmadağı için bu ismi almıştır. Bu grup mikroorganizmalar hemolitik veya non-hemolitik özelliktedir (Baştan, 2019).

Bu grupta yer alan mikroorganizmalar 40'tan fazla stafilokok türünü kapsamaktadır. İneklerde mastitislerde değışik KNS türleri izole edilmekte, en sık izole edilen türler *S. chromogenes*, *S. simulans* ve *S. hyicus*'tur (Baştan, 2019).

Son yıllarda düve mastitisleri önemli bir problem haline gelmiştir. Düve mastitislerinde yapılan bakteriyolojik izolasyon çalışmalarında, KNS'ler en sık izole edilen mikroorganizmalardır. Yapılan bir çalışmada doğum öncesi düvelerin meme loblarının %17'sinin KNS'lerle enfekte olduğı tespit edilmiştir (Baştan, 2019).

Koagulaz negatif stafilokoklara bağıli mastitislerde memede hafif şişkinlik ve sütün görünümünde değışiklik gibi orta dereceli lokal semptomlar görölmektedir. KNS'lere bağıli mastitislerde klinik semptomlar pek belirgin değıldir, enfeksiyon genellikle subklinik veya orta şiddetli klinik mastitis tarzındadır (Baştan, 2019).

S. aureus ve *S. agalactia* gibi gram pozitif bakterilerin neden olduğı mastitislerle karşılaştırıldığında, KNS'lere bağıli mastitislerde SHS enfekte memeden alınan sütte oldukça düşüktür. Yapılan bir çalışmada *S. aureus*'a bağıli mastitislerde ortalama SHS 357.000 iken KNS'lere bağıli mastitislerde 138.000 olarak tespit edilmiştir. Teşhislerinde bakteriyolojik muayeneden faydalanılmaktadır.



Şekil 1.1. Sağda KNS'lerin kanlı agarda üremeleri, soldaki resimde ise KNS kolonileri görülmektedir (Baştan, 2019).

1.2.3. *Mycoplasma bovis*

Mikoplazma diğer mikroorganizmalardan farklı bir organizmadır. Günümüzde hala bakteri mi yoksa virüs mu olduğu tartışmalı olup, sadece mikroorganizma olarak sınıflandırılmaktadır. Bakterilerden farklı olarak hücre duvarı yoktur bu nedenle hücre duvarı sentezini bozarak antibakteriyel etki gösteren antibiyotiklere dirençlidir (Baştan, 2019).

Mycoplasma bovis, birçok mastitis türündeki gibi genel durum bozukluğuna yol açmaz. Vücut ısısı, iştah ve genel durum normaldir. Bu etken memede hızlı gelişir, memede değişik derecelerde ödemli şişlik oluşur ve memeden purulent bir akıntının gelmesine sebep olur. Etken gaitadan, solunum sisteminden, gözden, enfekte uterustan ve kandan kültüre edilebilmektedir (Schalm, 1971). Sağım makinesi ve sağım yoluyla hızlı bir şekilde yayılan bu etken mastitisin yanı sıra hayvanlarda pnömoniye artirite ve kulak enfeksiyonlarına da sebep olmaktadır (Gonzalez, 2003).

Avustralya’da yapılan bir çalışmada (Ghadersoi ve ark, 1999) mastitisli sütlerin % 36’sında *Mycobacterium bovis*’in izole edildiği, bunların %5’i major mastitis patojenleriyle (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus disagalactiae*, *Streptococcus uberis*) kombine, %11’inin major mastitis patojenleriyle (*Serratia marcessans*, Koagulaz Negatif Stafilokoklar, *Corynebacterium bovis*, *Enterobacter cloacae*, *Morganellamorganii*, *Klepsiella oxytoca*, *Klepsiella pneumoniae*, Mikrokoklar, *Pseudomonaslar*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*) kombine ve %20 sinde sadece *Mycobacterium bovis*’in bulunduğu belirtilmektedir (Baştan, 2019).

1.2.4.Corynebacterium bovis

Gram pozitif bir bakteridir, genellikle laktasyonun erken dönemlerinde mastitise yol a sada kuru dönemde de mastitis oluşturduğu belirtilmektedir. Etken memenin deri altı dokusunda ödeme yol açar ve memeden pis kokulu purulent bir eksudatın akmasına sebep olur (Schalm, 1971).

1.2.5. Çevresel Mikroorganizmalar

Çevresel streptokoklar ve koliformlar olarak ikiye ayrılır.

1.2.6. Çevresel Streptokoklar

1.2.6.1. Streptococcus uberis

Hemolitik olmayan gram pozitif koklardır. *Escherichia coli*'den sonra mastitise neden olan en yaygın çevresel mikroorganizmadır. Etken kuru dönemin ilk iki haftasında ve doğumdan önceki son iki haftada ve yaz aylarında daha fazla enfeksiyona sebep olmaktadır (Blowey ve Edmondson 1995).

Etken ahırın çevresindeki her yerde, dışkıda, epitel dokuda, meme başı derisinde izole edilir. Sağım esnasında memeden memeye bulaşmaz ama meme içi enfeksiyonlarının başlıca sebeplerindendir. Genellikle meme başı yaralanmalarından sonra mastitis oluşturur (Schalm, 1971). *Streptococcus uberis*'in yol açtığı mastitisler çoğunlukla akut formda olsa da hafif şekilde seyretmektedir. Klinik olarak süt koyu renk almış ve tank sütü somatik hücre sayısı da yükselmiştir. Teat dipping ve kuru dönem tedavi *Str. Uberis* mastitislerinde çok etkili değildir (Sandholm ve ark, 1995).

1.2.6.2. Streptococcus dysgalactia

Bazı yazarlar dysgalactia'yı bulaşıcı mastitisler sınıfına dahil etmektedir. Gram pozitif hemolitik koklardır ve çok küçük koloniler oluşturur. Sağım makinesinde, ahır da kullanılan aletlerde ve sağım makinesinde bu etkeni izole etmek mümkündür.

Düve mastitislerine en çok sebep olan mikroorganizmalardan biridir. Etken sinekler aracılığıyla ve emme yoluyla meme kanalına transfer edilebilir (Blowey ve Edmondson, 1995).

Etken ayrıca normal ve enfekte uterusdan, vajinadan, tonsillerden ve abortus olmuş brucella negatif fötüsden de izole edilmektedir (Schalm, 1971). *Streptococcus dysgalactia* sıklıkla laktasyon döneminde akut mastitise neden olur. Ayrıca yaz mastitislerinde izole edilen başlıca etkenlerden biridir (Sandholm ve ark, 1995). Etken meme epitel dokusu hücrelerine zarar vermektedir (Almida ve Oliver, 1995).

1.2.7. Koliformlar

Meme dokusunda idendifiye edilen koliformların hepsi gram negatif bakterilerdir. En sık izole edilen *Esherichia*, *Klepsiella* ve *Enterobacter*dir. Ayrıca daha az olsa da *Serratia*, *Pseudomonas* ve *Proteus*larda izole edilir. *Esherichia coli*, sıcakkanlı hayvanlarda gastro intestinal sistemde bulunan bir mikroorganizmadır. *Klepsiella* ve *Enterobacter* ise toprakta, suda, tahılda ve hayvanların bağırsak kanalında izole edilen bir etkindir. Koliform bakteriler genelde solunum ve urogenital hastalıklara yol açar (Hogan ve Smith, 2003).

1.2.7.1. *Escherichia coli*

Gram negatif basildir. Mastitise yol açan çevresel bakterilerden en yüksek prevalansa sahip olan bu etken feçeste çok yoğun miktarda bulunduğundan daha çok hijyenin yetersiz olduğu ahırlarda mastitise neden olmaktadır. Islak ve nemli ortam etkenin yayılmasına ve taşınmasına sebep oluşturduğu için şiddetlendirici faktörlerdir. İdeal olmayan sağım makine fonksiyonları ve sağım tekniklerinde meme başına daha fazla bakteri penetre olduğundan bu etkene bağlı mastitis insidensi artmaktadır. *E. coli* mastitislerinin tipik semptomları; sıcak, ağrılı, şişmiş meme lobu ve sulanmış, flakonlu pıhtı ve sarımtırak süttür. Bazen şiddetli şok reaksiyonları ve ölüme görülür (Blowey ve Edmondson, 1995).

Ayrıca koliform mastitislerde bakterilerin hücreduvarından lipopolisakkarit (LPS) açığa çıkar. LPS, TNF-a, IL-1, IL-6, IL-8, eikozanoid gibi yangı mediatörlerinin artışı tetikler ve faktör XII'nin aktivasyonunu artırır. Bu yangı mediatörleride meme dokusunda yangının lokal semptomlarını ve sistemik sepsis semptomlarını açığa çıkartır. Eikosanoidler fosfolipit membran hücrelerle birleşerek arachidonic asiti aktive eden metabolitlerdir. *E. coli* meme başının iç çeperinde yaygın hemorajilerde yol açar, bazen de memede kan akımını bozduğu için ödemleşmelere sebep olabilir (Shypigel, 2002).

1.2.7.2. *Klebsiella pneumoniae*

Kısa süreli akut reaksiyonlara yol açar. Meme lopu şiş, ödematöz ve gevrektilir. Süt, sulu, seröz ve sarı renktedir. Süt verimi düşer. Ayrıca etken solunum problemlerine de yol açar (Schalm, 1971).

Etken toprakta bulunmakla beraber, bu etkenle kolayca kontamine olabilen saman, talaş gibi altlıklardan kolayca memeye bulaşabilir (Baştan, 2002).

1.2.8. *Lactococcus Spp.*

Lactococcus cinsi mikroorganizmalar, yuvarlak ya da oval biçimli bakterilerdir. Tek, çift ya da zincir oluşturmuş halde bulunurlar. Gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerop mikroorganizmalardır. Laktokoklar, süt ürünlerinin fermantasyonunda özellikle de birçok peynir çeşidinin yapımında ve olgunlaşmasında endüstriyel olarak önemli mikroorganizmalardır. Laktik asit bakterilerinin fermantasyon son ürünü laktik asittir. Bu bakteriler, genellikle spor oluşturmeyen ve gıda fermantasyonlarında güvenli bir şekilde kullanılan mikroorganizmaları kapsamakla birlikte, patojen olanlarına ya da spor oluşturanlarına da rastlanmaktadır. Diğer taraftan, metabolizması bakımından farklılık gösteren bifidobakteriler gibi mikroorganizmalar da bu bakteriler içerisinde Bu nedenle, laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında evrensel olarak kabul gören bir tanımlama yoktur.

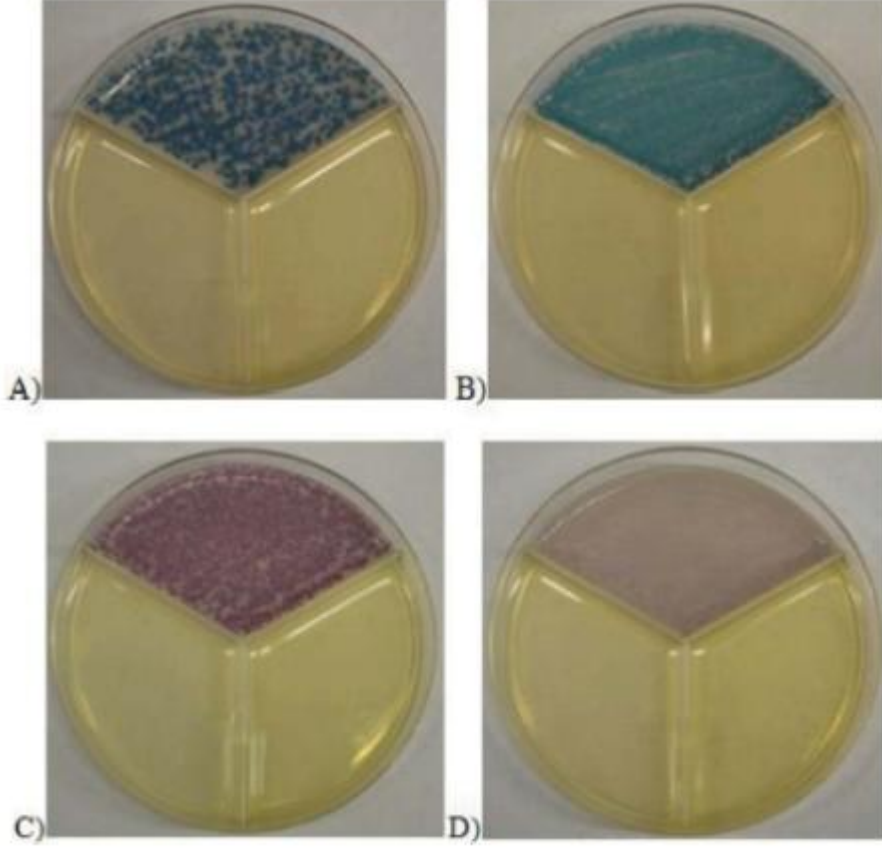
Laktokoklar laktik asit bakteri (LAB) grubunun üyeleridir ve rutin olarak hayvan derisi ve bitkilerinde bulunur. Laktik asit bakterileri genellikle insanlara veya hayvanlara zararlı olarak kabul edilmez ve insan ve hayvan hastalıklarının tedavisi ve önlenmesinde kullanılır. Laktik asit bakterilerinin proteinler, kimyasal mediyatörler ve yerel bağışıklık tepkilerini uyaran diğer moleküller ürettiği rapor edilmiştir. Özellikle *Lactococcus lactis*, önemli bir ekonomik öneme sahiptir ve süt fermantasyonunda başlangıç kültürü olarak yaygın bir şekilde kullanılır. *Lactococcus lactis*'nin bakteriyosin ürettiği bilinmektedir ve sıklıkla bir probiyotik olarak kullanılır. *L. lactis*,

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesinin Nitelikli Güvenlik Varsayım listesine dahil edilmiştir ve genellikle güvenli olarak kabul edilir. *Lactococcus* türleri, *Streptococci* ve *Enterococcus* ve *Aerococcus* gibi *Streptococcus* benzeri cinsleriyle yakından ilişkilidir. Bu yüzden *Lactococcus spp.* mastitisin etiyolojik bir ajanı olarak yıllar boyunca eksik rapor edilmiş olabilir. Bunu göz önünde bulundurarak, sığır içi göğüs içi enfeksiyonlarından izole edilen *Lactococcus* türleri şimdi hem genetik hem de fenotipik olarak karakterize edilmektedir. Ancak patojenite mekanizması henüz tam olarak anlaşılmamıştır.

Laktokoklar üzerinde potansiyel sığır mastitis patojenleri olarak çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu nedenle yapılan bir çalışmada *Lactococcus* enfeksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülen mastitis salgınını araştırmak için mevcut mikrobiyolojik ve moleküler teknikleri kullanılmıştır. Spesifik olarak *Lactococcus* cinsinin bir üyesinin, mastitis salgınına neden olan birincil patojen olduğunu varsayılmıştır.

AccuMast-MastitisCultureSistem kullanılarak yapılan ilk tarama, *Lactococcus spp.* kolonileri ile karakteristik 28 adet mastitik süt örneği tanımlanmış. *Lactococcus*'un tipik kolonileri, Şekil 1.2.'de gösterilmiştir. Tipik bir laktokok kolonisinin varlığını belirlemek ve onaylamak için numuneler CHROMagar'a aşılandı. Tüm örneklerde, tipik koloniler elde edildi ve izolatlar, 16S rDNA geninin Sanger dizilimi ile *L. lactis* (27 izolat) ve *L. garvieae* (1 izolat) olarak tanımlanmıştır.

Şekil 1.2. İzole edilen *Lactococcus* bakterilerinin CHROMagardaki kolonileri(Rodrigues ve ark, 2016)



Yapılan diğer bir çalışmada 2 farklı çiftlikten alınan örnekler değerlendirilmiştir. Çiftlik A'da 1.693 sağmal ineğin günlük süt ortalaması 45 litre ve tank sütü SHS'ı ortalama 268.000 hücre / mL iken; Çiftlik B 914 sağmal inek, ortalama 39 litre süt üretimine ve tank sütündeki SHS ortalaması 365.000 olarak belirlenmiştir.

Alınan örneklerden yapılan araştırmalar sonucu A çiftliğinen 130 streptococci izole edilmiştir. Özel DNA sequencing isimlendirme yöntemiyle bu izole edilen örneklerden 40'nın (%31) *Lc. Lactis ssp.Lactis*, 27'sinin *Lc. garviae*, 5 (%4) tanesinin *Lc.lactis*, 6'sının(%5) *Lactococcus spp.*, 37' sinin *Enterococcus saccharolyticus*, 5 (4%) *Streptococcus uberis*, 4 (3%) *Streptococcus dysgalactiae ssp. dysgalactiae*,ve 6 (5%) diğerleri olduğu analiz edilmiştir.

B çiftliğinden alınan örneklerde 51 streptococcal organizma izole edilmiştir. DNA squencing isimlendirme yönteminden sonra, 6'sı (12%) *Lc. lactis* ssp. *lactis*, 21'i (41%) *Lc. garvieae*, 1(2%) *Lc. lactis*, 1'i, (2%) *Lactococcus* spp., 18 tanesi (35%) *Enterococcus saccharolyticus*, 1'i (2%) *Streptococcus uberis*, 1'i (2%) *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *dysgalactiae*, ve 2'si (4%) diğer organizmalar olarak isimlendirilmiştir.

Çizelge 1.4. DNA squencing yöntemiyle tanımlanan *Lactococcus* bakterilerinin çizelgesi(C. Plumed-Ferrer ve ark, 2015)

Species	Farm A	Farm B
<i>Lactococcus</i> spp.	6 (5)	1 (2)
<i>Lactococcus lactis</i>	5 (4)	1 (2)
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	40 (31)	6 (12)
<i>Lactococcus garvieae</i>	27 (21)	21 (41)
<i>Aerococcus viridans</i>	2	0
<i>Enterococcus aquimarinus</i>	1	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	1
<i>Enterococcus saccharolyticus</i>	37 (28)	18 (35)
<i>Streptococcus uberis</i>	5 (4)	1 (2)
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> ssp. <i>dysgalactiae</i>	4 (3)	1 (2)
<i>Streptococcus suis</i>	0	1
<i>Streptococcus acidominimus</i>	1	0
<i>Pseudochrobactrum</i> spp.	1	0
Total	130	51

Sonuç olarak yapılan araştırmalar göz önüne alındığında Laktakoklar mastitis patojeni olarak sürülerde hastalık oluşturmakta olduğu ve bugüne kadar yararlı bakteriler olarak bilinmelerinin aksine zararlı etkilerinininde olduğu kanıtlanmıştır.

1.3. Diğer Mikroorganizmalar

1. 3.1.Pseudomonas aeruginosa

Çoğunlukla subklinik mastitislere yol açmakta, bazende klinik forma dönüşebilmektedir. Etken koliform bakteriler gibi endotoksin salgılamakta ve toksemiye yol açmaktadır. Süt sulu saman sarısı renginde ve pıhtılı bir hal almaktadır. Etkenin kaynağı kontamine su, toprak, gaita, kirli sağımlar ve kontamine teat-diping kabıdır. Ayrıca etken teat dipping içindeki kontamine amonyum quaternium ve klorheksidin solüsyonlarında da izole edilmektedir. Meme de enfeksiyonlar, kontamine meme içi verilen antibiyotik uygulamaları sonucu da şekillenmektedir (Blowey ve Edmondson, 1995).

1.3.2.Trueperella pyogenes

Yaz mastitislerinden en çok izole edilen mikroorganizmadır. Aslında fırsatçı bir bakteridir. İneklerin normal mukoz membranlarında izole edilebilir. Ciddi doku hasarlarına yol açan nekrotize hemolizler üretir. Etken sineklerle, memedeki

küçük kesiklerden ya da ısırık yoluyla memeye bulaşabilmektedir. Enfeksiyon memede uzun sürede körelmeye yol açmaktadır. Sütte oldukça kalın yapıda, pis kokulu ve yeşil partiküllere rastlanmaktadır (Pyörala, 1995).

Mastitise yol açan bütün bu etkenlerin yanı sıra düşük oranda olsa da *Nocardia asteroides*'in de mastitis sebebi olduğu belirtilmektedir (Cook ve Halliman, 2004).

1.4. Viruslar

Bovine herpes virüs (BHV) 1 ve (BHV) 4, ayak ve ağız hastalığı food and mouth disease (FMD) virüs ve parainfluenza 3 (PIS) virüs klinik mastitislerde sıklıkla izole edilen viral etkenlerdir. Subklinik mastitislere ise en çok bovine leukaemia virüs (BLV) ve BHV 4 sebep olmaktadır.

1.4.1. Bovine Leukaemia Virus (BLV)

Retroviridae ailesinin Deltaretrovirüs genusuna ait olan bu etken enzootik lökositose sebep olur. Etkenin öncelikli hedefi B lenfosit hücreleridir. B lenfositler de memede humoral immun cevaptan ve plazma IgM seviyesini düzenlemekten sorumludur (Wellenberg ve ark., 2002).

1.4.1.2. Bovine Herpes Virus (BHV) 4

Herpesviridae ailesinin Gammaherpesvirinae ait ailesinin rhadinovirüs genusuna bağlı olan bu etken birçok meme pustüller dermatitisten izole edilmiştir. Etken çoğunlukla *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus uberis* gibi diğer patojenlerle birlikte izole edilmiştir. Virus etkisini makrofajları hedef alıp immunosupressif etki oluşturarak ve vasküler dokuya zarar vererek gösterir. Ayrıca endotelial hücreler BHV 4 den kolayca etkilenebilir yapıdadırlar (Wellenberg ve ark., 2002).

Bir çalışmada laktasyondaki ineklere meme içi ve nazal dokuya BHV'in inokulasyonundan sonra klinik mastitis oluşturmadığı bununla beraber ineklerin %50'sinde subklinik mastitisi indüklediği bu etkiyi özellikle *Streptococcus uberis* ile beraber izole edildiğinde gösterdiği belirtilmektedir (Wellenberg, ve ark., 2002 b).

1.5. Mantarlar

Mantarlar genellikle yetersiz hijyen sonucu mastitise sebep olur ve tüm meme enfeksiyonlarına yol açan mikroorganizmalar içinde %1-12'lik prevalansa sahiptir. Meme dokusundaki mantar enfeksiyonları, altlık olarak saman ve talaşın kullanıldığı durumlarda rutubet ve nemin etkisiyle daha da artmaktadır. Ayrıca meme içi ilaç uygulamasında kullanılan antibiyotiklerin maya, mantarlarla kontamine olması halinde de özellikle *Candida* türü enfeksiyonlar oluşabilmektedir. Özellikle *Candida krusei*, sıvılarda, sağıcı ekipmanında, besin ve besin parçalarında, meyve kabuklarında

ve sıklıkla buğday silajında izole edilmiştir. Candida türleri sağım anında bulaşmaya yol açacak, sağım makinesindeki meme başı pençesinde daima izole edilebilir.

Meme başındaki yaralar mantar ve mayalar için son derece önemli bir predispoze faktör oluşturmaktadır. Ayrıca uygunsuz, kullanılmış ve tozlu kanül, şırınga gibi aletlerin kullanımı da bu etkenlerin oluşturacağı mastitislere sebebiyet verir. Mantarların yol açtığı mastitislerde genelde kendiliğinden iyileşme söz konusudur ve sistemik belirtiler yoktur. Bazen 40-41 °C ateş ve kalp atımını yükselmesiyle anoreksi gözlemlenebilir. Süt verimi aniden düşer. Meme kırmızı renkte, şişmiş, sıcak ve ağrılıdır. Süt koyulaşmış, sarımsı renkte, flakonlu ve bazen de kanlıdır. Sütte mantar vemananın karakteristik kokusu hissedilir. Subklinik enfeksiyonlar ise sadece CMT ile tespit edilebileceğinden etken uzun süre memede varlığını sürdürürler (Krukowski ve Saba, 2003).

Çizelge 1.5. Mastitise yol açabilecek bazı maya, küf ve mantarlar
(Krukowski ve Saba,2003)

Genus	Türler
Candida	Albicans,beigelli,brumtii,catenulata,ciferri,freyschusii,famata,glabrosa, Globosa,guillemondi,hemuloni,humicola,inconspicua,ingens,intermedia, Krusei,lusitaniae,lambica,memranafaciens,mogii,norvegensis,parakrusei, Parapsilosis,pelliculosa,rugosa,shehate,solani,sorbosa,stellatoidea,tenius, Kefyr,tropicallis,zeylanoides,variabilis,valida
Rhodorula	Glutinis,minuta,rubra

Çizelge 1.5.Devam. Mastitise yol açabilecek bazı maya, küf ve mantarlar
(Krukowski ve Saba,2003)

Trichosporon	Cutanium,asahii
Cryptococcus	Albidus, curvatus,flavus,laurentii,luteolus,neoformans
Aureobasidium	Cutanium,asahii
Pichia	Ohmeri,membranafaciens,farinosa,toletana,rhodanensis
Geotrichum	Candidum,capitalum
Saccharomyces	Fragilis,marxianus
Debaromyces	Hansenii
Hansenula	Fabiani,holstii,polymorpha,anomala
Aspergillus	Fumigatus,flavus
Penicillium	Chrysogenum,cyclopium
Alternaria	
Epicoccum	
Phoma	

1.6.Algler (Prototheca)

Algler nemli toprak, su birikintisi ve çamurda yaşamaktadır. Özellikle su birikintilerine giren ineklerde *Pseudomonas* ve alglere bağlı mastitislere rastlanabilir. Günümüzde mastitislerde 3 Alg türünün izolasyonu yapılabilmektedir. Bunlar *Prototheca stagnora*, *Prototheca wickerhamii* ve *Protetheca zopfii*'dir. İnekler ve insanlar için son iki türün patojen olduğu bildirilmektedir. İneklerde meme dokusu enfeksiyon için hedef organdır ve bulaşma meme başı deliğiyle olmaktadır.

Su birikintisine giren ineklerde algilere bağlı mastitis riski yüksektir(Philpot ve ark. 2000).

1.7.Mastitislerin Ekonomik Önemi

Bir sütü sürünün süt verimi yönünden ekonomik verimliliği, o sürünün meme sağlığı durumuna ilişkin verilerin, sürekli gözlem altında, iyi durumda tutulması ve sağmal inek başına ortalama yıllık süt veriminin olabildiğince yüksek olmasıyla mümkündür.

Mastitis oldukça karmaşık bir etiyolojiye sahip ve bundan dolayı mevcut şartlarda eradikasyonun pek olası olmadığı bir yetiştirme hastalığıdır. Modern süt işletmelerinde yaygın olarak görülmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalar süt sığırcılık işletmelerinde ekonomik kayıp açısından en çok zarar veren hastalıkların arasında olduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle subklinik mastitis bu hastalıkların en önemlisidir. Bu ekonomik kaybın nedenleri, süt verim kayıpları, tedavi boyunca antibiyotik kullanımına bağlı rezidüe sütler, sütün karakterinin bozulması, sürünün yenilenme masrafları, fazla işgücü ve tedavi masrafları olarak sıralanabilir (Seegers, Fourichon ve ark., 2003, Friedman, Shoshani ve ark., 2004) .

Çizelge 1.6'deki parametrelere bakıldığında ABD'de subklinik mastitisin sebep olduğu her bir inek için yıllık ekonomik giderin, süt verimindeki kayıptan meydana geldiği görülmektedir. Subklinik mastitis nedeniyle bir ineğin yıllık işletmeye maliyetinin 184.40 dolar olduğu görülmektedir.

Çizelge 1.6. Subklinik mastitise bağlı yıllık ekonomik kaybın nedenleri ve oranları (Crist, 1997).

Kayıp Nedeni	Her Bir inek için Yıllık Kayıp (\$)	Kayıp Oranı(%)
Üretimin Azalması	121	66
Tedavi Süresinde Sütün dökülmesi	10.45	5.7
Sürünün Yenilenmesi	41.73	22.6
Fazladan İş Gücü	1.14	0.1
Tedavi Masrafı	7.36	4.1
Veteriner Hekim Giderleri	2.72	1.5
Toplam	184,40	100

Çizelge 1.7. Klinik mastitise bağlı yıllık ekonomik kaybın nedenleri ve oranları (Crist 1997)

Kayıp Nedeni	Her Bir inek için Yıllık Kayıp (\$)	Kayıp Oranı(%)
Üretimin Azalması	55	51
Tedavi Süresinde Sütün dökülmesi	35	33
Fazladan İş Gücü	3	3
Tedavi Masrafı	12	11
Veteriner Hekim Giderleri	2	2
Toplam	107	100

Çizelge 1.7’de verilen değerler incelendiğinde klinik mastitis nedeniyle bir ineğin işletmeye maliyeti, subklinik mastitis’den daha az, 107 dolar, olduğu dikkat çekmektedir.

Subklinik mastitisin yol açtığı önemli kaybın birde reproduktif performans üzerinde kayıptır. Laktasyondaki subklinik mastitisli ineklerin gebelikten, ilk kızgınlık süresinin uzadığı ve gebelik başına düşen tohumlama sayısının arttığı bildirilmektedir (Schrack, Hockett ve ark., 2001).

İngiltere’de yapılan bir çalışmada, 1998 yılında mastitisin sütçü sürülerde %36’lık görülme oranıyla en fazla karşılaşılan problem olduğunu, 2002 yılına kadar %43’lük bir orana ulaşan sorunun ciddiyetinin daha da arttığı bildirilmektedirler.

İngiltere’de mastitisin yol açtığı ekonomik kaybın her inek için, yılda 119 sterlin, ülke çapında ise 121 milyon civarında olduğunu belirtmişlerdir. Yüksek somatik hücre sayısının ve mastitisin Fransa’da her 1000 litre sütte 11€’luk bir maddi kayba yol açtığı bildirilmektedir (Seegers, Fourichon ve ark., 2003).

İskoçya’da toplam 2187 sürüdeki 328.628 ineğin değerlendirildiği bir çalışmada, mastitisin maliyeti inek başına 140 dolar olarak tahmin edilmiştir. Ancak bu rakam düşük düzeyde subklinik mastitis problemiyle karşı karşıya kalan işletmelerde 69 dolara düşmesine karşın yüksek düzeyde subklinik mastitis problemiyle karşı karşıya olan işletmelerde 228 dolara kadar tahmin edilmektedir.

Mastitisin meme ve süte olan etkilerinin ek olarak reproduktif sisteme, buzağıya ve halk sağlığına olan olumsuz etkileri göz önüne alındığında ekonomik kayıp

maliyetinin büyüklüğü gözler önüne serilmektedir. Özellikle subklinik mastitiste sütün yapısında meydana gelen önemli değişiklikler sütün işlenmesinde önemli sorunlara neden olmakta ve süt ve süt ürünlerinin raf ömrünü kısaltmaktadır (Semacan, 2001).

Mastitise neden olan mikroorganizmalardan bazıları pastörizasyonla bile etkisini kaybetmediğinden dolayı insanlar içinde zararlı olmaktadır. Uygun olmayan koşullarda mikroorganizmalar sütte toksin üretmekte ve bunları tüketen insanlarda ishal, kusma ve benzeri sorunlar ortaya çıkabilmektedir. İnsanlar için bir diğer sorunda tedavi için ette ve sütte rezidü oluşturan antibiyotikler olup bunlar duyarlı kişilerde alerjik reaksiyonlar oluşturabildiği gibi sütle uzun süre düşük dozlarda alınması duyarlılığı daha da artırmaktadır (Alaçam, 1997).

Sütteki antibiyotik rezidülerin %80'i kuru dönem veya laktasyonda mastitis tedavileri sebebiyle oluşmaktadır (Schukken, Wilson ve ark., 2003).

1.8. Mastitislerin Tanısı

Mastitislerin erken tanısı hem prognoz hem de ortaya çıkacak ekonomik kayıpların azaltılması bakımından önemlidir. Mastitislerin tanısı amacıyla birçok tanı yöntemi geliştirilmiştir. Tanı yöntemleri genellikle sütteki somatik hücre sayısının ve patojenin tespiti ile sütteki yangısal reaksiyonların ortaya konmasına odaklıdır (Baştan, 2019).

1.8.1. Klinik Mastitislerin Tanısı

Mastitis meme dokusunun yangısıdır ve hastalığa genelde bakteriler neden olur. Yangıya bağlı meme dokusunda ve sütte birtakım değişiklikler olur. Meme dokusundaki başlıca değişiklikler; şişlik ve renk değişikliği vardır. Klinik mastitislerin tanısı ön süt muayenesi, ineğin davranış değişikliklerinin gözlemlenmesi, süt boru hattına takılan detektörler ve sağım sonu süt filtrelerinin kontrolü ile yapılabilir (Baştan, 2019).

1.8.1.1. İnspeksiyon

Memenin gözle muayenesinde, meme loblarının ve başlarının büyüklüklerinin kıyas edilmesi, memelerin şekli (sarkık, asimetric, çarpık), meme başı ve derisinin morfolojisi (gergin, buruşuk, renk değişimleri) meme ve meme başı derisi lezyonları ,(yırtık, ezik veya kesik yaraları) kabuklaşma, nekroz, fistül, ülser ve ödem durumları olup olmadığı gözlenmeli, dikkatlice muayene edilmelidir. Bu muayene yöntemi sadece gözle yapılan fakat oldukça önemli bazı değişikliklerin muayene sırasında ortaya konabildiği tanı ve tedavi için önemli basamaklardan biridir (Baştan, 2019).

Örneğin meme lobları arasında büyüklük farkı ve asimetri varlığı mastitisi düşündürmelidir. Akut masitis olgularında ilgili meme lobu diğerine göre daha büyüktür. Kronik mastitislerde ise bağ doku artışından dolayı kronik mastitisli meme lobu, atrofiktir küçülmüştür. Meme loblarını büyüklük yönünden kıyaslar iken ön meme loblarını ve arka meme loblarını kendi arasında kıyaslamak lazımdır. Çünkü süt veriminin yaklaşık % 60 ‘ı arka meme loblarınca sağlandığından, bu loblar ön meme loblarına oranla büyüktür (Baştan, 2019).

1.8.1.2. Palpasyon

Memeler palpe edilmeden önce memelerde ki tüm sütün boşaltılması gerekmektedir. Çünkü meme lobları içerisinde sütün varlığı, meme içindeki patolojik yapıların tespitini zorlaştırmaktadır.

Meme loblarının detaylı muayenesine, ilk önce meme başından başlanır ve total olarak meme dikkat edilerek muayene edilir. Bağ doku kalınlaşmaları ve fibrozis yönünden yapılan muayenede dikkat edilmesi gereken meme bölümü meme başlarıdır öncelikle meme başının muayenesi işaret ve başparmağın arasına alınarak palpe edilmeli ve kalınlaşma ve değişim açısından diğer meme başlarıyla kıyaslanmalıdır. Daha sonra meme sinüsü kontrol edilip, eş meme bölümlerinin sinüsleri kıyaslanmalıdır. Meme başı aşağı doğru çekilerek dokuların gerilemesi sağlandıktan sonrameme sinüsünün muayenesi yapılmalıdır. Meme sinüsünün fizyolojik yapı olarak yumuşak ve elastik bir yapıda olması gerektiği bildirilmiştir (Baştan, 2019).

Sertlik varsa fibrozis ve bağ doku üremesinden kaynaklandığı düşünülmelidir. Sert nodüller ve yumrular meme sinüsüne derinlemesine palpasyon yapıldığında tesbit edilebilir. Bu yapıların eş meme bölümleriyle kıyaslanması ve muayenenin sonunda not alınması oldukça önemlidir (Baştan, 2019).

Mastitislerde palpasyonla anlaşılmayacak kadar yeni gelişmiş olgularla birlikte memedeki belirgin bir yapı bozukluğu her zaman aktif bir mastitise kanıt değildir. Mastitis sonucu meme lobunda sertlik ve şişkinlik, ilgili meme lobunda gözlenir. Bez dokunun bir kısmını veya tamamını tahrip ederek, yangı sonucu memenin körelmesine veya küçülmesine neden olur. Kronik mastitislerde diğer meme loblarıyla kıyaslandığında ilgili meme lobu veya loblarındaki atrofi kolayca fark edilebilmektedir. Atrofi, kronik enfeksiyonlara bağlı meme bağ doku artışından kaynaklanmaktadır.

Normal meme lobları palposyonda, düzgün yumuşak ve elastikli bir şekilde palpe edilir iken kronik mastitisli meme lobu veya meme lobları serttir ve içerisinde fibrotik yapılar vardır (Baştan, 2019).

1.8.1.3.Sütün Görünümüne Bakılması

Sütün fiziksel muayenesinde morfolojik değişiklik olarak renk değişikliği, sulanma, flakon veya pıhtılar gözlenebilir. Bu yöntemin klinik mastitislerin erken tanısında oldukça efektif olduğu bildirilmiştir (Baştan, 2019).

Bu muayene ile mastitis şüpheli ineklerin sütleri, sürü tank sütü içine ilave edilmemiş olur. Sütün fiziksel muayenesi sırasında süt ineğin diğer vucut kısımlarına (ayak, meme) sıratılmamalıdır. Ayrıca muayeneyi yapacak kişi örnek alırken sütü avuç içine sağlamalı aksi takdirde memeler veya inekler arasında patojenin bulaşması söz konusu olabilir. Bunlarla birlikte muayene edilen süt, ineklerin barınma alanlarına dökülmemeli ve strip kap ön muayene tamamlandıktan sonra iyice temizlendikten sonra yerine koyulmalıdır.

Sütün fiziksel görünümünün muayenesi strip kap ile yapılabildiği gibi sağımhanenin zemini üzerinde sağılarak da yapılabilir. Bu nedenle sağımhanelerin zemini siyah lastik veya kauçuktan yapılır. Strip kap; siyah bir plastik veya ebonit maddeden yapılmıştır. Kullanılacak strip kabın siyah tercih edilmesi muayene sırasında avantaj sağlamaktadır. Çünkü sütün doğal rengiyle kontrast oluşturmaya sebebiyle sütteki morfolojik değişikliklerin kolaylıkla gözlenebilmesine olanak sağlar (Baştan, 2019).

Normal görünümlü bir meme lobundan sağılan süt; strip kap üzerinde ince tabaka yapar, oysa sütün grimsi-beyaz halka yapması, kronik mastitis veya memenin irritasyonları sonucu sütün sulandığının kanıtıdır.

Sütün fiziksel muayenesinde sütte pıhtı, flakon veya renk değişikliği görülmesi mastitislere işarettir.

Sütteki sulanma; enfeksiyöz olmayan mastitisleri, memedeki irritasyonları veya yakında oluşacak bir mastitisi düşündürmelidir. Bir veya birkaç memeden gelen sütün rengi sarı ise bu memelerde supurasyona yol açan bir enfeksiyon var demektir. Bazı inek ırklarında kolostrumun sarı olduğu da unutulmamalıdır.

Aşırı yeşil otlarla beslenen ve havuç, safran vs. gıdaların fazla miktarda verilen ineklerde veya bazı ırklarda (Jersey) meme loblarından sağılan sütün rengi sarı olabilir. Ayrıca şap, anthrax, pirop plazmosis, sarılığın çeşitli tipleri, akridin boyaları ve tetrasiklinler süte sarı renk, phenothiazine ise pembe-kahverengi bir renk verir (Baştan, 2019).

Sütte kan görülmesi, meme damarlarının bir travması sonucu veya doğumdan hemen sonra görülen memeye fazla kan hücumu sonucu kapiller kanamanın sonucu olabilir. Bu kanama genellikle doğum sonrası 2-3 gün devam edebilir, bazı durumlarda diapedezis şeklindeki kanama 2 hafta sürebilir. Doğum zamanı dışındaki diğer diapedezis şeklindeki kanamalar ise patolojiktir. Meme başı sinus epitelinin hatalı sağım sonucu zarar görmesi, bazı mastitislerde (*S. aureus*, *B. cereus* nedenli), C vitamini eksikliği, zehirli otların yenilmesi, meme içine çok iritan maddelerin verilmesi ve koagülasyon bozukluklarında sütte kan görülebilmektedir.

Mastitislerde sütün normal kokusu da değişmektedir. Özellikle *A. pyogenes*'e bağlı mastitislerde süt çok kötü kokmaktadır (kokuşmuş organik madde gibi). Ketoziste, kötü koşullarda depolanan silaja, haricen uygulanan kuvvetli kokulu

maddelere (yağlı boya) ve ovaryum kistlerine bağlı endokrin bozukluklarda sütün kokusu değişebilmektedir (Baştan, 2019).

Sonuç olarak mastitisin erken teşhisinde sütün fiziksel muayenesi yardımcı ve son derece yararlı bir tanı yöntemidir. Bu muayenenin bir başka avantajı da ilk sütün sağılması ile birlikte süt içindeki mililitredeki bakteri sayısının azaltılmasıdır.

Klinik mastitisler fiziksel muayene ile kolaylıkla tespit edilip o nedenle herhangi bir laboratuvar muayenesine gerek duyulmaz. Klinik mastitislerde tedavi amacıyla kullanılacak etkili antibiyotiği belirlemek için bakteriyolojik muayene ve antibiyogram testlerinden yararlanılır (Baştan, 2019).

1.8.1.4. İneğin Davranışlarındaki Değişiklik

Hasta ineklerin davranışlarında birtakım değişiklikler olmaktadır. Örneğin klinik mastitisli inek sağımhaneye her zaman girdiğinden farklı yer veya zamanda girmeye çalışabilir. Bu durum bir şeyin ters gittiğine işarettir.

1.8.2. Subklinik Mastitislerin Tanısı

Meme sağlığı kontrol programlarında amaç; meme içi enfeksiyonların oluşumundan daha çok, meme dokusunu enfeksiyondan korumaya odaklıdır. Oysa en iyi koruma veya kontrol programı uygulansa bile işletmelerde mastitis oluşumu kaçınılmazdır (Baştan, 2019).

Pratikte mastitislerin tanısında bazı yangı indikatörleri kriter alınmaktadır. Oysa mastitis tedavisinde en geçerli yol; hastalığa neden olan patojenin ortaya konması ve o patojen hakkındaki bilgilerdir. O nedenle mastitis tedavisinde ilk yapılması gerekli işlemlerin başında, mastitise yol açan etkenin belirlenmesi gelmektedir. Ayrıca etkenin özelliklerine bağlı olarak memede bazı semptomları görmek mümkündür. Mastitislerde yangısal reaksiyona bağlı olarak genelde sütte gözle görebilen değişiklikler olmaktadır (Baştan, 2019).

Mastitisler büyük oranda subklinik yani gizli formda seyrettiğinden, bu tip mastitislerin tanısı amacıyla birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin çoğunda amaç; süt içindeki SHS'yi ölçmektir. Çünkü mastitis olgularında SHS'de bir artışın olmaması imkânsızdır. Sütün SHS'nın 500.000'den fazla olması, genellikle o ineği veya ilgili memeyi yakından gözlemlemek için bir referans olarak kabul edilmektedir. Sonuç olarak klinik ve subklinik mastitislerin tanısı amacıyla birçok test kullanılmakla birlikte bu testlerde öncelikli prensip; memedeki yangısal reaksiyonu ortaya koymaktır (Baştan, 2019).

Yangısal tepkimenin belirlenmesinde, enfeksiyona karşı ineğin tepkisi kriter alınmaktadır. Mastitiste enfeksiyona yanıt olarak sütte ve meme dokusunda belirgin değişiklikler olmaktadır. Yangıya bağlı meme dokusu ve sütteki değişiklikler, lökosit sayısındaki ve damar geçirgenliğindeki artıştan kaynaklanmaktadır. Damar geçirgenliğindeki artış sonucunda sütün yapısı, pH'sı, iyon bileşiminde belirgin değişiklikler olmaktadır. Mastitise bağlı sütün yapısında meydana gelen değişiklikler daha önceki bölümde yarınatılı olarak verilmiştir (Baştan, 2019).

İneklerde subklinik mastitislerin tanısında süt içindeki somatik hücre sayısının değerlendirilmesi en sık başvuru yöntemidir. Mastitislerde somatik hücre sayısındaki artış kandan süte yangı hücrelerinin geçmesinden kaynaklanmaktadır.

1.8.2.1. pH Değişikliğinin Saptanması

Yeni sağılmış sütün pH'sı 6.4-6.8 arasında ve hafif asidiktir. Mastitis olgularında laktoz yapımının azalması ve kandan süte alkali tuzlarının geçmesine bağlı olarak sütün pH'sı yükselmektedir. Bazı vakalarda ise sütün pH'ı 5.2'ye kadar düşerek asidik karakter taşır. Bu sebeple sütteki alkali değişiminin saptanması mastitis tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir (Philpot ve Nickerson, 1991).

1.8.2.2. Brom Creosol Purple (BCP) Testi

Mastitis teşhisi amacıyla ilk defa 1919 yılında kullanılan bu test için bir tüpe konan 3 ml süte 2-3 damla BCP eriyiği (0.9 gr BCP + 100 cc distile su) damlatılır. Normal süt, çok hafif mora kaçan, gri bir renk verir. Mastitisli süt gri mordan, koyu menekşe moruna kadar değişen renkler gösterir. Bazı mikroorganizmalar sütün pH'ının asidik olmasına sebep olur bu durumda renk, mor değil sarıya döner (Schalm, 1971).

1.8.2.3. Brom Thymol Blue (BTP) Testi

Bir tüpe alınan 5 damla süte 1 ml BTP eriyiği (1 gr BTP + 160 ml N/100 NaOH + 500 ml distile su) ilave edilir. Normal süt sarı bir renk verirken mastitisli süt, hafif açık yeşilden mavi yeşile kadar değişen renk alır. Kronik mastitislerde pH değişikliği bu testle tayin edilemez (Schalm, 1971).

Bu testler, gerek BCP ve gerekse BTP solüsyonlarının kurutma kağıtlarına emdirilmesiyle hazırlanan test kağıtları da sütün pH'ının tayininde kolaylıkla kullanılabilir.

Ayrıca pH indikatörlerinin özel test kağıtlarına emdirilmesiyle hazırlanan pH metrelerle de sütün pH'sını pratik olarak tayin etmek mümkündür.

1.8.2.4.Somatik Hücre Sayısı (SHS)'nın Saptanması

Sağlıklı bir inek sütünde somatik hücre olarak en çok makrofajlar (%66-88) bulunur. Bunu nötrofiller, epitel hücreleri ve mononükleer hücreler takip eder. Normalde %1-11 oranında bulunan nötrofiller, meme içi enfeksiyonlarda %90'a kadar yükselmektedir. Nötrofil oranındaki bu önemli artış somatik hücre sayımının mastitis teşhis yöntemi olarak kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Bakteriyel üreme olmayan süt örneklerinde bile ml'de 200 000 SHS; International Dairy Federation's göre non spesifik mastitis, Finlandiya'daki Uluslararası Veteriner ve Gıda Enstitüsü'ne göre mastitis olarak kabul edilse de Amerika'da 500 000 'e kadar olan SHS değerleri normal olarak kabul edilmektedir (Pyörala, 2003; Schukken ve ark., 2003).

Avrupa'da 1993 yılından beri tank sütünde 400.000 SHS/ml'i aşan sütlerin insan tüketiminde kullanılması yasaklanmışken bu sınır Amerikada 750.000, Kanada'da 500.000 hücre/ml olarak belirlenmiştir (Fenlon ve ark, 1995; Schukken ve ark, 2003, Hillerton, 2004). Her ne kadar tüketim için en iyimser SHS'nın yasal sınırı 400.000 hücre/ml olsa da Niza-Ribeiro ve ark.'larına göre (2004) tank sütü SHS'nın 200.000 ml/hücreden yüksek olması subklinik mastitis yönünden şüphe uyandırdığı belirtilmektedir. Ayrıca Avrupa'da süt firmaları fiyatlamada düşük SHS içeren sütlere orantılı olarak prim uygulamaktadır (Logue ve ark., 1995).

Çizelge 1.8. Finlandiya’da, sütün fiyatlandırılmasında ve kalitesinin sınıflandırılmasında SHS’nın kullanımı (Sandholm, 1995).

Kalite	Hücre sayısı/ml	Bakteri kolonisi/ml	Ek fiyat (%)
E	<250.000	<50.000	+3.2- +3.4
1.	250.000-400.000	50.000-100.000	Normal
2.	400.000-700.000	100.000-250.000	-3.6--14.3
3.	>700.000	>250.000	-14.3--71.4

Çizelge 1.9. Mastitisli sütün bileşiminde ye yapısında meydana gelen değişimler (Pyörälä, 2003).

AZALANLAR	DERECESİ	ARTANLAR	DERECESİ
Süt verimi	—	Somatik hücre sayısı	+++
Kuru madde		Proteinler	+++
Laktoz		Serum albumin	+
Yağ		Immunoglobulinler	+++
Uzu zincirli yağ asitleri		K kazein	++
Toplam kazein	—	Proteos peptones	++
Ası kazein	—	Serbest yağ asitleri	++
p kazein	—	Kısa zincirli yağ asitleri	+
a laktoalbumin		Sodyum	++
p laktoalbumin	—	Klor	++
Kalsiyum	—	Laktat	+++
Magnesium		Enzim aktivitesi	
Fosfor	—	Lipaz	++
Çinko		Lizozimîer	+++
Potasyum		NAGase	+++
		p glukoronidaz	+++
		Plazmin	+++

İnsan tüketimi için süt SHS sınırları 500.000 civarında belirtense de Djabri ve ark. (2002), bakteriyolojik olarak (-) meme loplarındaki sütün ortalama 68.000 hücre/ml'e sahip olduğunu bildirmektedirler. Süt SHS'nı en çok *S. uberis*'in (1.000.000. hücre/ml'den fazla), en azda *Corynebacteria*'nın (105.000. hücre/ml) arttırmaktadır. Minor patojenler 110-180000 hücre/ml değerindeki sütlerde izole edilebilirken, major patojenler ise 350.000'den fazla SHS 'ye sahip sütlerde izole edilmektedir (Djabri ve ark, 2002). Bir meme lopunun enfekte değil denilebilmesi için 50.000 hücre/ml'den daha az SHS'ye sahip olması gerektiği belirtilmektedir (Seegers ve ark, 2003). Sommerhauser ve ark (2003), SHS kalıcı olarak 100.000 hücre/ml'den fazla olan veya *Staphylococcus aureus* izole edilen memeleri tedavi etmek yerine böyle inekleri sürüden ayırmayı önermektedirler.

Kuzey Amerika'daki ve Avrupa'daki çalışmalar enfekte olmayan meme loplarının sütlerinde ortalama SHS'nın 70.000 hücre/ml civarında olduğunu göstermektedir. Bir kısım yazarlar tank sütü somatik hücre sayısını 200.000 hücre/ml olduğunda kaliteli süt denilebileceğini savunurken bazı yazarlar ise bu kıstasın 100-500.000 SHS değerleri içerisinde söylenebileceği görüşündedirler (Schukken ve ark, 2003).

Çoğunlukla SHS, hücre/ml olarak ifade edilse de daha çok Amerika'da kullanılan Linear skor (LS) yöntemi de vardır. LS ml' de bulunan SHS'nın logaritma 2 tabanına dönüştürülmesidir. Bu dönüşüm $LS = \log_2 (SHS/100) + 3$ formülüyle yapılmaktadır. LS'un SHS'a dönüşümü ise $SHS = 100 \times 2^{(LS-3)}$ formülüyle olmaktadır (Rupp ve ark, 2003).

İneklerin %20'sinden fazlasında ortalama laktasyon linear skorun 2.0'dan büyük olması durumunda mastitis riskinin arttığı bildirilmektedir (Schukken ve ark, 2003).

Çizelge 1.10. Çeşitli Linear Skor değerlerinde izole edilen etkenlerin %'lik oranları(Schukken ve ark.2003)

Linear Skor	Negatif (%)	S. aureus S. agalactia Çevresel Str. Mycoplasma	E. coli Klebsiella Serratia T. pyogenes	C. bovis C.N.S.	Diğer
0.1-0.9	85	4	0	9	2
1.0-1.9	80	4	1	13	2
2.0-2.9	66	8	1	23	2
3.0-3.9	51	16	1	29	3
4.0-4.9	41	29	2	25	3
5.0-5.9	32	39	2	23	4
6.0-6.9	27	46	3	20	5
7.0-7.9	23	51	4	17	6
8.0-8.9	25	50	6	15	5
9.0-9.9	26	43	9	14	7

Laktasyonun dönemine ve sağım sıklığına göre SHS, değişiklik göstermektedir. Doğumdan sonra birden yükselen SHS, 4. 5. günlerde normal seviyesine inmektedir. Laktasyonun sonuna doğru ise SHS yavaş bir seyirle yükselmektedir. Günde 2 veya 3 sağımın yüksek SHS 'na sahip ineklerin oranını ve tank sütü SHS düşürmekte bunun aksine çok kısa sağım aralıklarında (4 saatte bir veya daha sık) SHS 'nın yükselmektedir (Pyörala, 2003).

Yapılan bir çalışmada (Friedman ve ark, 2004), Klinik mastitisli sütlerin laktasyonun ilk 60 gününde ml'de 670 ± 144.000 , laktasyonun 100. gününden sonra ise 456 ± 293.000 SHS'na sahip olduğu bildirilmektedir. Aynı çalışmada kışın doğum

yapan ineklerin mastitisli meme loplarında ilk 60 günde ortalama 685.000, 60-100 gün arasında 699.000 SHS'na sahip olduğunu; Yazın doğum yapanlarda ise aynı günlerde değerlerin daha düşük bulunduğunu (ortalama, 654.000 ve 564.000 hücre/ml) belirtmektedirler.

İskoçya'da 1. laktasyondaki ineklerde meme lobu süt örneklerinde, bakteri ortalama minimum 147.000 hücre/ml SHS'da izole edilmezken 3. laktasyonda 193.000, 7. laktasyonda 265.000 hücre/ml lik SHS'na sahip sütlerde bakteri izole edilmediğini bildirmektedirler (Logue ve ark, 1995). Aynı çalışmada bireysel süt örneklerinden alınan örneklerde bakteri izole edilemeyen minumun SHS'nın laktasyonun 1. ayında 172.000, 2. ayında 119. 000, 5. ayında 190.000 ve 10. ayında ise 373. 000 hücre/ml olduğunu belirtmektedirler.

SHS enfeksiyonun memeye girmesinden sonraki geçen zamana da bağlıdır. Deneysel olarak *E. coli* ile enfekte edilen meme loblarında ortalama olarak 1. Saatte 50.000 hücre/ml, 4. saatte 1.720.000, 12. saatte 28.350.000, 72. saatte 19.710.000, 168. saatte 150.000 hücre/ml SHS ölçüldüğü belirtilmektedir (Paape ve ark., 2003).

SHS için süt örnekleri, güğüm kazanındaki toplu süttten (tank sütü), bireysel olarak ayrı meme bölümlerinden veya bu memelerin karışımından alınabilir (Logue ve ark., 1995). örnekler özenle alınmalı, kayıtlanmak ve korunmalıdır. Süttteki SHS sağımın sonuna doğru giderek yükselir. Pratik nedenlerde göz önünde tutulduğunda ön süt örneklerini toplamak daha avantajlıdır. Örnek, ilk birkaç çekim süt atıldıktan sonra alınmalıdır. Saklama sırasında hücreler örnek içinde düzensiz dağılırlar. Bu sedimentasyon ve kaymak tabakası şekillenmesi gibi olgulara bağlıdır. Bazı hücreler dibe çökerken bazıları kaymak katında kalır. Bu nedenle güğüm, kazan süt örnekleri alınmadan önce süt iyice karıştırılmalıdır. Laboratuvar analizlerinden önce de kaymağı gidermek için süt 40 °C'ye kadar ısıtılmalı ve iyice karıştırılmalıdır. SHS yapılacak süt örnekleri mümkün olduğunca taze veya iyi korunmuş olmalıdır. Zaman geçtikçe hücreler lize olur. Taşıma için örnekler +4 °C'de tutulmalıdır. Somatik hücreler donma

ve çözünme sırasında yıkıma uğrayacağından örnekler dondurulmalıdır (Alaçam, 1997; Schalm, 1971;).

Tank sütü SHS ideal olarak 50.000 hücre/ml olduğu bildirilse de bunun gerçekçi olmadığı, 200.000 ± 35.000 hücre/ml 'lık sütün normal kabul edilebileceği belirtilmektedir. Tekrarlanan hücre sayılarında düşük SHS'na sahip ineklerin birden 250.000 hücre/ml (LS=4.5)'dan daha yüksek sayıda SHS ölçülmesi subklinik mastitis işareti olarak algılanır (Schukken ve ark., 2003).

Çizelge 1.11. Tank sütü SHS'nı etkileyen faktörler (Fenlon, 1995)

	Ortalama tank sütü SHS		
	684.000	370.000	188.000
Sürüye yeni hayvan katma	9/11	277	2/11
Sağım sonu teat depping	5/11	6/7	11/11
Yıllık sağım makinesi testti	5/11	5/7	9/11
Sürüden ayırma	%17.8	%20.9	%16.3

İngiltere'de yapılan bir çalışmada (Whitakar, 2004), 1998 yılında ortalama tank sütü SHS'nın 138.000 iken bu sayının 2002'de 174.000 yükseldiğini bildirilmektedir. Aynı çalışmada en ideal 10 sürünün tank sütü SHS'nın 73.000 den 99.000 yükseldiği de belirtilmektedir.

İsviçre'de yapılan bir çalışmada SHS otomatik sağım sisteminin kullanıldığı sürülerde ortalama 51.500 hücre/ml iken diğer yöntemlerle sağılan sürülerde 58.000 hücre/ml bulunduğunu bildirilmektedir (Berghlund ve ark., 2002).

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Eğitim, Araştırma ve Uygulama Çiftliği Süt Sığırcılık Ünitesi'nde yürütülen bir çalışmada, Somatik hücre sayısı (SHS)'nin 403.000 hücre/ml olduğu düzeyde süt verim kaybı 0.6 /kg/gün/inek (%2.1) olarak; 1.097.000 ve 1.900.000 hücre/ml olduğu düzeylerde ise sırasıyla 3.8 kg/gün/inek (%14.1) ve 6.8 kg/gün/inek (%25.2) olarak tahmin edildiği bildirilmektedir (Yalçın ve ark., 2000).

Çizelge 1.12. Tank sütü SHS'nin süt verimine etkisi (ortalama yılda 5 ton süt verirse)

SHS	İyılada inek başına süt kaybı (litre)	Süt kaybın yüzdesi
I <250.000		
250.000-500.000	200	4
500.000-750.000	350	7
750.000-1.000.000	750	15
>1.000.000	900	18

Sütte SHS'nı yükselten meme içi enfeksiyonlardan başka; ineğin yaşı, laktasyonun dönemi, meme başının yaralanması, meme yaraları, başka hastalıkların varlığı gibi birçok faktör vardır. Bunların yanı sıra öğleden sonraki ve akşam sağımalarında sabah sağımlarına göre SHS daha yüksek çıkmaktadır. İlk doğumunu yapan düvelerde süt SHS ortalama 20.000- 100.000 arasındayken yaşı artmasıyla hücre sayısı herhangi bir enfeksiyona bağlı olmaksızın artmaktadır. Ayrıca doğumdan sonraki ilk 2 hafta ve laktasyonun son dönemlerinde SHS'nın yüksek olduğu bilinmektedir. Sürü içindeki bireysel farklılıklarında genetik faktörlerden kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Philpot ve Nickerson, 1991). Yükselen SHS her zaman meme de bir enfeksiyonun varlığı anlamına gelmez. Bazen sadece memede bir irritasyonun varlığını gösterir. Sağlıklı hayvanlarda da yeni bir sürüye katılmalarında,

stres altında veya meme dokusunun yaralanmalarında SHS'nın yükseldiği bilinmektedir (Sandholm, 1995).

1.8.2.4.1.Mikroskopla Somatik Hücre Sayısı'nın Saptanması

1.8.2.4.1.1.Nitel (yaklaşık) Sayım

Santrifüje edilmiş süte, çöken hücrelerle yapılan frotilerin boyanarak mikroskopta 15-20 sahada sayılan toplam hücre sayısının, sayılan sahaya bölünerek ortalama hücre sayısının bulunması ve değerlendirilmesidir (IDF, 1981).

Sayımın yapılması için cam tüplere 10 ml süt örneği alınır. Üç bin devirde 10 dakika santrifüje edilir. Üstte toplanan kaymak, tüpün uç kısmı ısıtılarak dökülür. Tüp ters çevrilerek 20 dakika bekletilir. Bir öze yardımıyla dipte toplanan sediment alınarak bir damla serum fizyolojik ile lam üzerine dairesel hareketlerle yayılır. Hazırlanan preparat oda ısısında kurutulur. Kuruyan preparat üzerine % 0.2 'lik toluidin blue boyası dökülerek veya preparat bu boya içerisine 3-5 dakika süre ile batırılarak boyanır. Preparat akarsu ile yıkanır ve kurutulur. Mikroskopta (Oküler x 10, Objektif x immersiyon) 15-20 saha sayılır. Değerlendirme çizelge 1.13'e göre yapılır (Alaçam, 1997, IDF, 1981).

Çizelge 1.13. Mikroskopta nitel sayım yöntemiyle SHS tahmini.

Sayılan hücre	Değerlendirme	ml'deki ortalama hücre sayısı
1-5	+	£ 300.000
6-20	++	J 300.000
20 den fazla	+++	> 1.000.000

1.8.2.4.1.2.Nicel Kesin Sayım

Prensibi, 0.01 ml sütün 100 mm² 'ye daire ya da kare şeklinde yayılarak hücrelerin sayılması ve mikroskobun çalışma faktörü ile çarpılarak her ml sütteki hücre sayısını ortaya çıkarmaktır.

Bu testte boyama için tek bir boya solüsyonun hazırlanması yeterli olmaktadır. Boya solüsyonu için: 0.6 gr metilen blue, 54 ml etil alkol, 40 ml tetrakloreten (tetrakloreten yanıcı, patlayıcı ve zehirli bir kimyasal olduğundan temini ve kullanımında sorunlar oluşacağı için bunun yerine asetronitril de kullanılmaktadır), 6 ml glasiyel asetik asit' e ihtiyaç vardır (TS EN ISO 13366-1, Kasım 2000).

Boya solüsyonun hazırlanması: Etil alkol ve tetrakloreten bir şişe içinde karıştırılır ve 60-70 C°' lik su banyosunda tutulur. Bu karışım üzerine metilen blue ilave edilir, karıştırılır ve +4 °C' de buzdolabında saklanır. On-yirmi mikron porlu filtrelerden filtre edilerek glasiyel asetik asit ilave edilir ve hava almayacak şekilde şişelerde saklanır. Kullanılmadan önce tekrar filtre edilmelidir (IDF, 1981).

Özel yapılmış 100 mm² lik bölümleri olan lamalar veya 100 mm² yi içeren şablonlar hazırlanır ve normal lamalar bu şablon üzerine yerleştirilerek, süt örnekleri şablon üzerine yayılır. Süt örnekleri 30-40 °C' de ısıtılır ve en az 10 defa ters yüz edilerek homojenizasyonu sağlanır. Daha sonra 20 °C' ye kadar soğutulur. Lamlar, alkol ile temizlenir, daha sonra tozsuz kağıt havlu veya antistatik bezle kurutulur, alevden geçirilir ve soğuması beklenir. Temizlenen lamalar şablon üzerine yerleştirilir. Pipet yardımıyla 0.01 ml süt örneği alınır pipetin dış kısmındaki bulaşık süt silinir. Süt damlası şablon üzerindeki lamın üzerine bırakılır ve kenarlardan başlayarak ortaya doğru 100 mm² lik sahaya düzgün bir şekilde yayılır. Bu işlem tamamlandıktan sonra froti ısıtıcı bir tablo üzerinde kurutulur. Hazırlanan frotiler 10 dakika boya solüsyonu içerisine batırılır. Sonra saç kurutma makinesi yada fan yardımıyla kurutulur. Preparat

üzerindeki fazla boya kalıntıları akana kadar üç kez distile suyla yıkanır. Daha sonra kurutulur (Alaçam, 1997; IDF, 1981).

Mikroskopta sayım sırasında sadece çekirdekli hücreler (lökosit, monosit, nötrofil, bazofil, polimorf çekirdekli granulosit ve lenfosit) sayılır. Ayrıca sayılacak hücrenin yarısından fazlası mikroskop sahası içinde bulunmalıdır Elde edilen ortalama hücre sayısı mikroskobun çalışma faktörü (WF) ile çarpılarak 1 ml sütteki hücre sayısı bulunur.

Çalışma faktörünün hesaplanması Schalm ve arkadaşlarına (1971) göre immersiyon objektifinde görülen mikroskop sahasının çapı objektif mikrometre lamı ile ölçülür ve mikroskop sahasının alanı πr^2 formülü ile hesaplanır. Hesaplanan alana mikroskop faktörü denir. Çalışma faktörü Mikroskop faktörü / Sayım yapılan saha sayısı olarak hesaplanır

International Dairy Federation (1981)' a göre kare ve dairesel frotilerde sayılan sahalarda çalışma faktörü $100 \times 100 \times 4 / n \times d^2 \times f$ formülü ile hesaplanır. Burada da, gözlenen mikroskop alanının çapı, f ise sayılan saha sayısıdır. Dikdörtgen şeklindeki frotilerde dar bir şeridin sayılması halinde çalışma faktörü $20 \times 100 / d \times b$ olarak hesaplanır. Bu formülde d, gene mikroskop alanının çapı iken b, sayılan şerit veya dar saha sayısıdır.

1.8.2.5.Elektronik Olarak Somatik Hücre Sayımı

1.8.2.5.1. Coulter Counter ile Sayım

Temel amacı süt içerisindeki belli büyüklükteki partiküllerin sayısının güvenilir ve hızlı bir şekilde sayılmasıdır. Bu amaca ulaşabilmesi için sayıma başlamadan önce

daha sonraki aşamalar için hücrelerin dayanıklılığı stabilize edilerek arttırılmalıdır, sütler elektrolit solüsyonuyla sulandırılmalıdır ve coulter counter'ın eşik değerinden daha küçük çaptaki yağ globülleri dağıtılmalıdır. Bu aşamalardan geçen süt iki elektrot arasına yerleştirilen 100 mikronluk açıklıktan geçer. Partiküller bu açıklıktan geçtiği zaman, sistem içerisinde dolaşan yüksek geçirgenlikteki sıvı, partiküller vasıtasıyla daha az geçirgen hale gelir. Bu artan direnç voltajı artırır ve partiküllerin miktarına göre voltaj dalgalarının oluşmasına neden olur. Voltaj dalgalannın sayısı açıklıktan (pordan) geçen partikül sayısını gösterir (IDF, 1981).

Testte kullanmak üzere emülsiyon amaçlı elektrolit karışımının hazırlamasında 20 ml poli (etilen glikol) eter ve 125 ml %95'lik etanol dikkatlice karıştırılır. 885 ml 0.9 g/100 ml'lik Sodyum klorür çözeltisi ilave edilir. Karışım 0.5 veya daha az göz açıklığına sahip bir süzgeçten geçirilir. Emülsiyon amaçlı elektrolit karışımındaki yabancı parçacıkların sayısını tespit etmek için deneyler günlük yapılır. Parçacık sayısı, emülsiyon amaçlı elektrolit karışımının her 0.1 ml'sinde 20'den az ise, plastik cam malzemelerin yeterli derecede temiz olduğu düşünülür. Bakteriyel üremeyi önlemek için, 10 ml formaldehit çözeltisi (%35), emülsiyon amaçlı elektrolit karışımına ilave edilebilir. Ticari olarak hazır olarak satılan somaton dilüenti gibi preparatlar elektrolit karışımı olarak kullanılabilir (TS EN ISO 13366-2, Kasım 2000).

Tespit etme sıvısının hazırlanmasında da 0.02g eozin ve % 35'lik 9.40 ml formaldehit çözeltisi, 100 mm'lik volumetrik cam kaba konur ve karıştırılır. 100 ml su ile seyreltilir ve tekrar karıştırılır. Parçacıkları uzaklaştırmak için bu sıvı süzülür veya santrifüje edilir. Tespit etme sıvısındaki eozin, numuneleri renklendirmek amacıyla kullanılır (TS EN ISO 13366-2, Kasım 2000).

Testte kullanmadan önce bütün cam malzemeler, kirlerden mümkün olduğunca arındırılncaya kadar dikkatli bir şekilde temizlenmelidir. Parçacık sayıcısı 0.1 ml veya 0.5 ml'lik bir hacmi sayan, 100 gm çapında kapiller tüplü elektronik parçacık sayıcısı (örneğin, coulter counter model F veya FN), bunun yerine 0.3 ml hacmi sayan 140 fim çapında açıklığa sahip tüplü otomatik bir sayıcı (örneğin, süt hücresi sayıcısı) da

kullanılabilir. Sayıcının kurulduğu yerde, elektromanyetik bir girişim olmadığından emin olunmalıdır. Cihaz kullanılmadan önce, sayılan parçacıkların hacmi ile yapılan sayımın eşik düzeyi arasındaki ilişkiyi tespit etmek için kalibre edilir. Kalibrasyon, standart bir parçacık süspansiyonu kullanarak üretici firmanın direktiflerine uygun olarak yapılmalıdır (IDF, 1981; TS EN ISO 13366-2, Kasım 2000).

Coulter counter ile hücre sayımı için laboratuvara kabul edilen numunenin nakil ve muhafaza süresince hasar görmemiş veya değişikliğe uğramamış olmasına dikkat edilmelidir. Numuneler muhafaza edilmeden veya deneye alınmadan önce, 2 °C– 6°C arasında bir sıcaklıkta saklanmalıdır. Numune alındıktan sonraki 6 saat içerisinde analize alınmayan çiğ süt numuneleri borik asit ilave edilerek muhafaza edilmelidir. Borik asitin son konsantrasyonu numunelerin her 100 ml’inde 0.6 g’ı geçmemelidir. Böyle numuneler 6 °C- 15 °C arasındaki bir sıcaklıkta en fazla 24 saat muhafaza edilir. Numuneler alındıktan hemen sonra formalin ile tespit edilmelidir (IDF, 1981).

İyice karıştırıldıktan sonra, 10 ml numune alınır. Pipet ile 0.2 ml tespit etme sıvısı ilave edilir. Somatik hücreler tespit etmek için karıştırılır. Hücrelerin normal olarak tespiti için, süte yaklaşık 1: 1500 oranında formaldehit ilave edilir. Bunun için 10 ml deney numunesine 0.2 ml tespit etme sıvısı eklenir. Numuneler inkübatörde 30 °C’de 15-16 saat veya 18-25 °C’de 22-26 saat tutulur. Tespit edilen numuneler, belirli sınırlar içinde kalan sayımların doğruluğundan emin olmak için 6-15 °C’de en fazla 48 saat muhafaza edilir (IDF, 1981; TS EN ISO 13366-2, Kasım 2000).

Deney numuneleri, su banyosunda 20-37 °C arasında bir sıcaklıkta ısıtılır. İyice karıştırdıktan sonra her tüpe 0.1 ml analiz numunesi eklenir ve emülsiyon amaçlı elektrolit karışımı ile 10 ml olacak şekilde seyreltilir (TS EN ISO 13366-2, Kasım 2000).

Analiz numunesi su banyosunda 80 °C’da 10 dakika ısıtılır. Tüplerdeki sıvının seviyesi su banyosundaki su seviyesinin altında olduğu dikkat edilmelidir. Bu işlem yağ parçacıklarının dağıtılmasını sağlar (TS EN ISO 13366-2, Kasım 2000).

Analiz numunesi su banyosundan alınır ve 15-25 °C arasındaki bir sıcaklıkta soğutulur. Soğuduktan sonraki bir saat içinde deney numuneleri sayılır. Hücrelerin mümkün olan en iyi homojen dağılımı sağlaması için sağımdan hemen önce iyice karıştırılmalıdır. Hava kabarcıklarının oluşmamasına ve tüpte çökmüş hücre olmamasına dikkat edilir (TS EN ISO 13366-2, Kasım 2000).

1.8.2.6.California Mastitis Testi (CMT) ile Somatik Hücre Sayımı

CMT, uygulanması oldukça kolay ve taşınabilirliği yüksek bir test olmasından dolayı en yaygın kullanılan testtir, vücudun savunma hücrelerinde ki artışı dolaylı olarak gösterebilen ve miktarını hafif çöktürmeden yoğun jel kıvamına kadar farklı seviyelerde bilgi verebilen bir tanı aracıdır. Sütteki dolaylı lökosit artışı ve pH değişikliğini saptayan CMT solüsyonundaki ayıraç hücre zarını parçalar, hücre çekirdeğindeki DNA ile birleşir ve yapışkan bir madde oluşur. Test ayıracı olarak 100 ml anyonik deterjan (atlos, lensex, lensodal, teepol, byprox vb.) alınır ve üzerine köpük oluşturmayacak şekilde 900 ml distile su eklenir. Daha sonra bu karışımın üzerine 50 ml 1/300’lük BCP solüsyonu eklenir. Ayıracın renginin menekşe rengini alması kullanıma hazır olduğunu gösterir ve bu rengi alan ayıracın pH’sı 7.0 - 7.5 olmalıdır (Schalm, 1971).

Çizelge 1.14. CMT'nin değerlendirilmesi. (Scholm, 1971; Sandholm, 1995; Middleton ve ark, 2004)

Sembol	Anlamı	Şekillenen reaksiyonun açıklanması	Reaksiyonun anlamı
(-)	Negatif	Karışım sıvı halde kalır	0-200.00 ml/hücre
(?)	Eseri	Çevirme hareketleri sırasında tabanda yapışkan bir kitle görülür. Çevirme hareketleri devam ettiğinde reaksiyonlar kaybolur.	150.000-500.000 ml/hücre
(1)	Zayıf	Jel oluşturmeyan yapışkan bir itle	400.000 -1.000.000. ml/hücre
(2)	Açık pozitif	Karışım hemen jel kıvamı oluşturur. Kabin çevresinden ve tabanından başlayan girdaplar oluşur. Çevirme hareketleri durdurulduğunda girdap kaybolur.	800.000- 5.000.000 ml/hücre
(3)	Kuvvetli pozitif	Çevirme hareketleri sırasında oluşan jel bir koni oluşturur. Çevirme hareketleri durdurulduğunda karışımın ortasında bir tepe kalır.	5.000.000 ml/hücreden fazla

1.8.2.7.Boyama ve Mikroskobik Sayım Yöntemi

İnek sütlerinde yangısal reaksiyonların olup olmadığını belirleyen ve vakit isteyen aynı zamanda tecrübe gerektiren yöntemlerden biri olan sitoloji tekniği yaygın olarak kullanılmaktadır. Sitoloji tekniğinin en önemli eksikliği ise bu yöntemde ölü ve

canlı hücre yapılarının ayrımı yapılmaksızın hepsinin sayılmasıdır. Özellikle karma süt örneklerinde canlı hücre yapılarının sayımı ve varlığı önem arz etmektedir.

Bu yöntemde 10 mikrolitre ılık süt (30-40 C), lam üzerinde 1 cm 'lik bir alana yayılır, kuruması beklenir daha sonra boyanır. Boyamadan sonra fazla boya uzaklaştırılır ve preparat yeniden kurumaya bırakılır. Kuruduktan sonra preparat sayım için hazırdır. Mikroskop yönteminde standart boyama solüsyonu 0.6 ml metilen mavisi, 54 ml %95'lik alkol, 40 ml tetrac- horethane ve 6 ml glacial asetik asit içerir.

Test simplets R-Metodu, mikroskop ile lökositlerin hızlı bir şekilde belirlenmesi esasına dayanır ve yöntem süt içindeki hücreleri belirlemek için de uygundur. Test simplets kiti bir lam üzerinde hücre çekirdeğini boyayan bir boya ile kaplanmıştır. Bu metodun uygulaması şu şekilde yapılır. On µl ılık süt lam üzerine damlatılır ve yayılır, 15 dakika sonra preparat mikroskopta sayım için hazırdır. Bu yöntemde hücre tipleri ve bakteriler kolaylıkla ayırt edilebilir.

1.8.2.8.Biyokimyasal Yöntemler

Yangının akut evresinde karaciğerde sentezlenen birçok protein akut faz reaksiyonuna neden olur. Bu proteinlerin düzeyi akut faz reaksiyonu sırasında artar, o nedenle bu proteinlere akut faz proteinleri adı verilir. İneklerde akut yangılarda akut faz proteinlerinden haptoglobulin ve serum amiloid A düzeyi önemli ölçüde artmaktadır. Kronik yangılarda ise 1 asit-glikoprotein düzeyi yükselmektedir.

Haptoglobulin ve serum amiloid A inekler için önemli akut faz proteinleri olmakta birlikte akut yangılarda serum konsantrasyonları 100 kat ve üzeri oranda artmaktadır. Oysa, asit-glikoprotein de akut faz proteinidir ve yangılarda bu proteinin düzeyindeki

artış yavaştır ve de azdır. O nedenle bu protein düzeyindeki artış, kronik yangıların bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Haptoglobulin ve serum amiloid A konsantrasyonu özellikle *E. coli*'nin neden olduğu mastitislerde oldukça yükselmektedir. Günümüzde bu iki akut yangı indikatörünün konsantrasyonunu belirleyen spesifik biyokimyasal kitler mevcuttur.

Akut faz proteini olarak sütte belirlenen ve yangının göstergesi olarak değerlendirilen ilk proteinler albumin ve tripsin inhibitörüdür. C- reaktif proteinler ineklerde akut faz proteinlerinden biri olarak sayılmamaktadır. Oysa bu proteinin düzeyi mastitis sırasında artmaktadır.

İneklerde serum albuminin ve antitripsin, molekül ağırlıkları düşüktür, (yaklaşık 60.000) bu proteinler yangı sırasında süte çok az oranda geçmektedir, sütteki miktarındaki değişme postkapiller venlerin endotel hücreleri arasındaki porların (deliklerin) büyümesi sonucudur.

Sütün yapısında doğal olarak bulunan birçok enzimin aktivitesi, yangı sırasında artmaktadır. Bu enzimler hem süt verimindeki düşüş hem de yangısal tepki artışı ile bağlantılıdır. Fagositoz orijinli bir enzim olan N-asetil serum glukozimidaz ve katalaz süt sentezleyen epitel hücrelerinin aktivite- sinde azalma dolayısıyla süt veriminde düşmeye neden olmaktadır.

Lizozomal enzimler de güvenli bir yangı indikatörü olarak kabul edilmektedir. NAGase, intra- selüler lizozomal bir enzim olup, yangı hücrelerinin aktive olması veya parçalanması sonucu süte geçmektedir. Yangı sırasında bu enzim nötrofil granülositlerden serbest bırakılmaktadır. Şayet süt analiz öncesi dondurulur ve çözündürülür ise süt NAGase düzeyi hafif derecede artmaktadır. Bu nedenle süt örneklerinin alınması ve saklanması sırasında belirli bir özen gösterilmelidir. Şayet sütte bu enzimlerin ölçümü; örnek alınımından kısa bir süre sonra yapılmayacak ise süte azid veya bronopol gibi prezervatif maddeler eklenmelidir. Somatik hücre sayımı

için örnek alır iken dikkat edilen noktalar, bu enzimlerin ölçülmesi için alınacak örnekler için de geçerlidir. Enzim ölçümü yapılacak süt örneği, ön süt atıldıktan sonra sağım öncesi alınmalıdır.

Süt içerisinde NAGase konsantrasyonunun ölçümü; meme içi enfeksiyonların belirlenmesinde güvenli bir indikatör olarak kabul edilmektedir. Süt NAGase aktivitesi somatik hücre sayısı ile yakından ilişkilidir. Özellikle bu enzimin aktivitesi önemli mastitis patojenlerine bağlı mastitislerde artmaktadır. Ayrıca bu enzimin aktivitesi somatik hücre sayısı 400.000 hücre/ml'nin üzerindeki subklinik mastitis olgularında belirlenebilecek düzeye çıkmaktadır.

Süt NAGase aktivitesi laktasyon döneminin başlarında yüksektir, ortalarında düşer ve sonlarına doğru yeniden hafif bir artış gösterir. Genellikle sağlıklı meme loblarında, NAGase aktivitesi doğumdan 5 gün sonra normal düzeylerde dir.

Yukarıda belirtilen enzimler dışında, diğer bazı enzimlerin de düzeyi mastitis sırasında artar ve bu enzimlerin düzeylerinin araştırılması mastitislerin tanısı amacı ile kullanılır. Bu amaç ile kullanılan enzimler lipaz, esteraz, fosfotaz ve laktat dehidrejenaz'dır. Bunların dışında proteolitik bir enzim olan plazmin düzeyi de mastitiste artmaktadır. Her ne kadar plazmin teorikte mastitis indikatörü olarak kabul edilmekle birlikte plazmin konsantrasyonu birçok fizyolojik ve çevresel faktöre göre değişmektedir. Süt plazmin aktivitesi somatik hücre sayısı ile paralellik göstermektedir.

Mastitis sırasında süt içindeki sodyum ve klor konsantrasyonu yangıya yanıt olarak artmaktadır. Bunlarla birlikte potasyum miktarı düşmekte, buna paralel süt pH'sı artmaktadır. Süt içindeki iyon miktarındaki değişiklikler elektrokondüktivimetre ile ölçülebilmektedir. Mastitislerde sütün elektrik iletkenliğinde artışa belirtilen bu iyon değişiklikleri ve süt kremasındaki azalma neden olmaktadır. Süt pH'sındaki değişiklikleri meme bazında saptamak için her meme için ayrı bölümlerin olduğu P^H metreler kullanılmalıdır. pH metrelerde pH indikatörü olarak bromthymol blue ve

bromcresol purple vardır. Normal sütün pH'sı 6.5- 6.7 (kolostrumunki 6.0-6.4)'dir. Mastitis sırasında sütün pH'sı, kan pH'sına (pH 7.4) yaklaşmaktadır.

Şayet kâğıdın rengi solgun yeşil ise pH 6.6- 6.7, orta derecede yeşil ise pH 6.8 yeşil ise pH 7.1, koyu mavi-yeşil ise pH 7.4'dir.

Mastitis sırasında yukarıda belirtilen enzimler ve PH değişikliğinin araştırılması yanısıra yangının diğer göstergeleri de araştırılabilir.

Adenozin trifosfat (ATP) sütün içindeki somatik hücrelerde olduğu gibi tüm canlı hücrelerde mevcuttur. Sütün ATP düzeyi ile somatik hücre sayısı arasında güçlü bir korelasyonu vardır. Bu nedenle sütün ATP düzeyinin belirlenmesinin, mastitis tanısı açısından somatik hücre sayımı yöntemine alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Sütün şekeri olarak bilinen laktozun, mastitis sırasında sentezi azalmaktadır. Sütün laktoz içeriği epitel hücrelerinin sentez kapasitesinin bir indikatörü olarak gösterilmektedir. Sütün laktoz konsantrasyonu mastitis sırasında düşmektedir. Fakat laktoz oranındaki yüzdelik düşüş oldukça azdır o nedenle laktoz, mastitislerin tanısında duyarlı bir marker değildir. Sütün laktoz konsantrasyonu ile elektrik iletkenliği arasında bir korelasyon vardır. Bu durumun nedeni sütün yapımı için gerekli ozmotik kuraldır. Normal sütün ozmotik aktivitesinin yarısı laktozdan kaynaklanmaktadır. Sütün içerisindeki laktoz konsantrasyonu düştüğünde sodyum ve klor iyonları miktarları artmaktadır. Bu olay izo-ozmotik aktivitenin korunması açısından önemlidir.

1.8.2.9.ProStaph Test'in Kullanılması

ProStaph testinin temel prensibi sütün içindeki *S. aureus* antikorlarını belirlenmesidir ve bu test ELISA prensibine göre yapılmaktadır. Bu testin amacı *S.*

aureus 'un neden olduğu kronik mastitisleri belirlemektir. Bu testin en önemli avantajı süt örneklerinin alınımında steril koşulları gözetmeye gerek olmamasıdır ve bu test bakteriyolojik kültürün önemli bir alternatifidir.

Bu test pratik kullanıma uygun olmasına rağmen yangının veya enfeksiyonun erken döneminde antijenleri belirleyemediği için enfekte inekleri negatif gösterebilmektedir bu durumda bu testin en büyük dezavantajıdır. Bu nedenle test daha çok *S. aureus*'un neden olduğu kronik mastitislerin tanısı amacı ile önerilmektedir. Çünkü mastitisin erken dönemlerinde, bir inek bakteriyolojik kültürde pozitifdir ancak antikor negatif olabilir. Ya da *S. aureus*'a bağlı kronik mastitislerde etkenin süte geçişı aralıklı olduğundan, antikor pozitif fakat bakteriyolojik kültürde negatif sonuçlar çıkabilir. Aynı durum, *S. aureus*'un sebep olduğu enfeksiyonun tek bir meme lobunda olduğu durumlar içinde geçerlidir. Bu tür durumlarda karma süt örneklerinden bakteriyolojik kültür yapıldığında süt içerisinde bakteri sayısı az olduğundan ve süt ile antikorlar dilüe olduğundan etken üretilmeyebilmektedir. ProStaph testinin duyarlılığı %69-90 arasında değişmektedir.

1.8.2.10.Sütün Elektrik İletkenliğinin (Eİ) Ölçülmesi

Memede yangı sırasında meme dokusunun geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak iyonik bileşim de değişiklik göstermektedir. Sodyum ve klor miktarı artar iken potasyum oranı düşmektedir. Sütün iyonik bileşimindeki değişmeyle birlikte Eİ oranı artmaktadır. Bu sebeple sütteki Eİ artışını tespit ederek mastitis tanısı yapılabilir. Bu amaçla sağım makinesine bağlı otomatik ölçerler kullanılabildiği gibi milk-checker denilen elde taşınabilen bir alette mevcuttur. Sütün elektrik iletkenliği sütün bileşimine, miktarına, ısısına, hayvanın ırkına, mevsime, bakteriyel floraya, laktasyon dönemine, sağım sıklığına ve örneklerin sağım başı ve ortasında alınmasına göre değişiklik göstermektedir (Baştan, 2002; Pyörala, 2003).

Sütün elektrik iletkenliği, absolüt ve komparatif değerlerle açıklanmaktadır. Sütlerin absolüt elektrik iletkenliği, bir ineğin her meme lobu için elde edilen mutlak değerlerdir (5.6, 5.1, 4.6, 4.5 gibi). Komparatif elektrik iletkenliği ise, elde edilen absolüt değerlerin sırası ile ilk üç değerin en düşük değere bölünmesi (uluslararası standart) veya en küçük değerin diğer üç değerden çıkartılması (Japon standardı) ile belirlenmektedir. Absolut elektrik iletkenliği uluslararası standartlara göre 5.6 mS/cm'den büyük, Japon standartlara göre 6.2 mS/cm'den büyük ise süt mastitis şüpheli olarak kabul edilir. Komparatif elektrik iletkenliği, uluslararası standartlara göre 0.6, Japon standardına göre ise 0.5'e kadar olan değerler normal kabul edilir (Küplülü ve ark, 1995).

Çizelge 1.15. E.İ. ölçülmesinin subklinik ve klinik mastitislerde tahmini teşhis kapasitesi (Pyörala, 2003)

Teşhis	Teşhis kriteri	Duyarlılık (%)	Hassasiyet (%)	(+) tahmin (%)	(-) tahmin (%)
Klinik mastitis	Klinik belirtiler	68	82	58	82
Subklinik mastitis	S.H.S	68	88	72	85
Subklinik mastitis	Bakteriyolojik muayene	61	66	55	70

Çizelge 1.16. Çeşitli mikroorganizma ve CMT sonuçlarında bazı araştıncıların bulunduğu EI değerleri.

Araştıncı	S. aur.	S. ube.	S. dysa.	E. coli.	CMT (?)	CMT(+)	CMT(++)	CMT (+++)
Küplülü, 1995	7.53 ±0.22	5.24 ± 0.06	5.54 ± 0.11	4.86 ± 0.08	5.41 ± 0.49	6.317 ± 0.61	6.867 ± 0.60	7.85 ± 1.79
Nak, 1999	6.80 ± 0.23	6.85 ± 0.18	7.32 ± 0.78	6.22 ± 0.38	4.68 0.065	6.29 ± 0.22	6.41 ± 0.18	7.25 ± 0.24
Ünal, 1996					523 ± 0.07	0.70 ± 0.40	6.90 ± 0.83	8.49 ± 0.45
Baştan, 1997					5.41 ± 0.49	6.317 ± 0.61	6.867 ± 0.60	7.857 ± 1.79

Danimarka'daki araştırmacılar (Nerbey ve ark, 2004), E.İ. ölçülmesiyle klinik mastitislerin % 80.6, subklinik mastitislerin % 45.0 ve mastitis olmayanların ise %74.8 doğrulukla ölçtüklerini belirtmektedirler.

1.8.2.11.Enzim Oranı

Memede yangı esnasında, sütte fagositlerden köken alan birçok endojen enzim artmaktadır. N-acetyl-p-D-glukosamidaz (NaGase), p-glucorinadase, katalaz fagositten köken alan enzimlere örnek teşkil eder (Pyörala, 2003).

Çizelge 1.17. Yangı sırasında, sütteki enzim değişimi (Sandholm, 1995)

Artanlar		Azalanlar
• NaGase • Alfa-mannosidaz, • p-glukorinidaz, • Lizozim, • Katalaz, • Arilsülfotaz, • Aldolaz, • Plazmin, • Terroksidaz	• Asit Fosfataz, • Alkalın Fosfataz, • Arilesteraz, • Karboksilesteraz, • Laktat - Dehidrogenaz • Glutamat - oksalasetat - transaminaz, • Lipoprotein lipaz,	• Laktaz, • GalaktosStransferaz, • Glutamil transderaz, • Omitin dekarboksilaz,

1.8.2.11.1. N-acetyl-p-D-glukosamidaz (NaGase)

Memede, epitel hücrelerin hasarında, fagositoz ve hücre lizisi sırasında nötrofillerden köken alan intracellüler lizozomal bir enzimdir. Sütte bu enzimin artışının saptanması ile mastitis teşhisi yapılabilir. Bu enzimin tespitinde fluorometrik ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır. Dondurma ve çözdürme işlemleri NaGase düzeyini artırdığı unutulmamalıdır (Pyörala, 2003).

1.8.2.11.2. Diğer Enzimler

Lipaz, esteraz, laktat dehidrogenaz ve fosfataz mastitisli sütte yükselen enzimlere örnektir. Süt plasmini somatik hücre sayısı ile pozitif ilişkili olduğundan plazmin konsantrasyonunun artması da mastitis yönünden şüphe uyandırır.

Yeni Zelanda’da yapılan bir çalışmada (Davis ve ark, 2004), Subklinik mastitisli sütlerde SHS’nin artmasıyla paralel olarak Laktat seviyesinin 30 kata kadar arttığını (0.14 mM’den 3.3 mM’ye) belirtilmektedir. Laktat seviyesinin belirlenmesinin subklinik mastitislerde önemli bir teşhis yöntemi olduğunu bildirmektedir.

Yapılan bir çalışmada (Ünal ve ark, 1995), normal sütte LDH oranı 43.4 ± 11.064 U/L bulunurken, CMT ? ve + sonuç veren subklinik mastitisli sütte bu oranın 461.16 ± 108.756 U/L olduğu bildirilmektedir.

Çizelge 1.18. Normal ve subklinik mastitisli süt serumlarına ait enzim seviyeleri(Nak,1999)

Enzimler	Normal süt	Subklinik mastitisli süt
LDH	39.83 ± 10.98	410.47 ± 59.26
AST	2.5 ± 0.71	22.74 ± 4.92
ALT	4.5 ± 0.99	12.23 ± 1.88
Amilaz	5.46 ± 1.53	6.67 ± 1.86
GGT	1326.38 ± 160.37	1710.77 ± 151.53
CK	4.86 ± 0.68	14.04 ± 1.91
ALP	261.47 ± 34.25	723.79 ± 64.66
ASP	0.63 ± 0.20	2.16 ± 0.34

1.8.2.12. Akut Faz Proteinler

Sığırdada herhangi bir inflamasyon esnasında karaciğerden haptogloblin, serum amyloid A (SAA) ve α 1acid glukoprotein gibi birçok akut faz proteinleri salgılanır. Bunlardan ilk ikisi major akut faz proteinlerindendir ve kronik yangılarda serum konsantrasyonu yüz kattan fazla artmaktadır. Özellikle koliform mastitislerde haptogloblin konsantrasyonu keskin bir şekilde artmaktayken *E. coli* mastitislerde SAA oranı sadece iki kat civarı artmaktadır (Pyörala, 2003).

Yapılan bir çalışmada (Nielsen ve ark, 2004), Mastitisli sütlerde yükselen SHS ile orantılı olarak SAA ve haptoglobulin seviyesinin arttığı bildirilmektedir.

1.8.2.13. Bakteriyolojik Muayene

Bakteriyolojik muayene, antibiyotik seçiminde yardımcı olduğu gibi, sürü bazında hangi etkenin enfeksiyona yol açtığına tespit edilmesi, enfeksiyon teşhisi, tedavi seçenekleri veya kesime gönderilmeye karar verme açısından önem arz eder. (Schalm, 1971; Baştan, 2002).

Bakteriyolojik muayene için örnekler steril tüplere alınmalı ve örneği alacak kişi her koşulda ellerini dezenfekte etmelidir. Süt örnekleri, sağımından önce alınmalı ve aseptiye dikkat edilmelidir. Örnekler laboratuvara birkaç gün içinde gönderilemeyecekse buzdolabında değil -20 C°'de dondurulup saklanmalıdır (Baştan, 2002).

1.8.2.14. Sitokinler

Bu konuda son derece sınırlı çalışma olmasına rağmen son yıllarda reverse transcriptase-poliymerase chain reaction (RT-PCR) ve immunosorbent assay yöntemiyle normal ve mastitisli sütte sitokinlerin varlığı tespit edilebilmektedir. IL-1 seviyesi *E. coli* enfeksiyonlarında nötrofil akımına bağlı olarak ani ve keskin bir artış göstermektedir. IL-2 *S. aureus* ve koliform mastitislerde özellikle deneysel olarak *S. aureus* enfekte edilen memelerde 24 saat sonra seviyesi artmaktadır. IL-6 koliform mastitislerin yol açtığı akut septik şoklarda veya deneysel olarak *E. coli* enfekte edildikten 14 saat sonra ve *S. aureus*'la enfekte memelerde tespit edilebilmektedir. IL-8 ise özellikle *S. aureus* mastitisin erken döneminde teşhiste kullanılabilecek güvenilir ve duyarlı bir kıstastır. TNF-a'nın da deneysel *E. coli* enfeksiyonundan sonra sütte ve serumda seviyesi artmaktadır. Sığır T hücrelerinden izole edilen ve alveoller makrofajlarda, periferik kan mononükleer hücrelerde bulunan Granulocyte-monocyte-colony-stimulating faktör (GM-CSF) 'ünde TNF-a ve IFN ile orantılı olarak yükseldiği bildirilmektedir (Aluwaimi, 2004).

1.8.2.15. Diğer Yöntemler

ATP, bütün hücrelerde olduğu gibi süt somatik hücrelerinde de mevcuttur. Sütte ATP, selüler ve ekstra selüler orijinli olup somatik hücrelerle arasında pozitif bir korelasyon olduğundan mastitis teşhis yöntemi olarak düşünülmektedir (Pyörala, 2003).

Mastitis sonucu memede süt sentezinden sorumlu sekretör hücrelerin yıkımlanmasına bağlı olarak laktoz seviyesinde azalma olur. Normal bir sütte laktoz

seviyesi %4.60 civarındadır. Yapılan bir çalışmada (Kalaycıoğlu ve Ergin, 1980), normal sütte laktoz oranı % 4.05 iken subklinik mastitisli sütlerde laktoz oranının % 2.83 bulunduğu belirtilmektedir.

Sütte ve kan serumunda, yangı mediatörü olan PGFza'nın düzeyindeki yükselme de mastitis yönünden şüphe uyandırmaktadır. Yapılan bir çalışmada (Alaçam ve ark, 1988), normal sütte 1155 ± 209.5 pg/tüp bulunan PGFsa düzeyinin mastitisli sütte arttığı, 2128 ± 148 pg/tüp, belirtilmektedir.

1.9. Mastitislerden Korunma Yöntemleri

Mastitislerin kontrolü basit ve kısa sürede başarılabilecek bir iş değildir. Bu nedenle mastitis programları birçok basamaktan oluşmaktadır. Bir sürüde kullanılacak mastitis programları pratik, ekonomik ve kullanışlı olmalıdır (Baştan,2019).

Mastitise yaklaşıırken iki önemli durum dikkate alınmalıdır. Bunlardan birincisi; problemin ciddi olduğu durumlarda en kısa sürede gerekli önlemlerin alınması diğeri ise çok daha kapsamlı bir yaklaşımdır, sürüye büyük oranda uygulanabilir stratejilerin tercih edilmesidir (Baştan,2019).

Korunma mastitis kontrolünde anahtar role sahiptir. Çünkü birçok mastitis vakasında tedavi sonuçları başarısızdır ve ekonomik değildir. Ayrıca sürü içinde mastitis prevelansı yüksek olduğunda sütte antibiyotik rezidüe problemi oluşmakta, bu durum halk sağlığı için olumsuz sonuçlar doğurmaktadır (Baştan, 2019).

Günümüzde mastitis kontrol programlarında daha çok hijyenik önlemler ön planda tutulmaktadır. Bu programlar genelde meme başının dezenfeksiyonu,

kurudönem tedavisi ve kronik enfekte ineklerin kesimini kapsamaktadır. Belirtilen önlemler sayesinde işletmelerde bulaşıcı mastitis etkenlerinin neden olduğu mastitisler önlenmiştir. Buna karşın çevresel etkenlerin ve mikroorganizmaların neden olduğu mastitislerde belirgin bir artış olmuştur (Baştan,2019). Bu nedenle bulaşıcı mastitislerden korunabilen işletmelerde de çevresel etkenlere karşı da önlem alma zorunluluğu doğmuştur.

Bulaşıcı etkenlerden en önemli ikisi, *S.aureus* ve *S. agalactia*'dır. Bu bakterilerin başlıca kaynağı enfekte meme ve meme loblarıdır. Bulaşıcı etkenler sağım sırasında enfekte memelerden diğer meme loblarına bulaşır ve en önemli özellikleri;

- 1-Sıklıkla laktasyon sırasında meme içi enfeksiyona yol açarlar.
- 2- Tank sütü somatik hücre sayısında artışa neden olurlar.
- 3- Neden oldukları mastitis genelde uzun sürelidir.(kronik)
- 4- Çok düşük oranda klinik mastitise neden olurlar.
- 5- Kuru dönemde bu etkenlere bağlı nadiren mastitis gözlenir (Baştan, 2019).

Çevresel kaynaklı mastitislere en çok *E. coli* ve çevresel streptokoklar neden olmaktadır. Çevresel patojenlerin en önemli kaynağı ise ineğin yaşam alanlarıdır.

Çevresel patojenlerin neden oldukları enfeksiyonların genel özellikleri:

1. Laktasyon döneminde mastitise yol açarlar.
2. Tank sütü somatik hücre sayısında artışa neden olmazlar.
3. Kısa süreli enfeksiyonlara yol açarlar.
4. Genellikle klinik mastitislere yol açarlar.
5. Kuru dönemde enfeksiyon prevalansı laktasyon dönemine oranla oldukça yüksektir (Baştan, 2019).

1.9.1.Çevresel ve bulaşıcı mastitis etkenlerinin yol açtığı mastitislerden korunma amacıyla alınması gereken önlemler

1.9.1.2.Uygun Sağım Hijyeninin Kullanılması

Sağım hijyeni hem sürü sağlığı hem de süt kalitesi açısından oldukça önemlidir. Her sağım öncesi mutlaka her meme başı temizlenip silinmelidir. Süt içinde partikül, süt filitrelerinde dışkı, çamur, kir, sap görülmesi meme başının iyi ve yeterince temizlenmediğini ya da sağım ünitelerinin takılması ve çıkarılması sırasında gerekli önlemlerin alınmadığının göstergesidir. Son yıllarda sağım hijyeni değerlendirmesi için meme başı skor değerlendirmesi yapılmaktadır. Bu skarlama temizden kirliye doğru 1,2,3,4 şeklinde yapılmaktadır. Aşağıda gösterilmiştir.

Şekil 1.3. Sağım Hijyeni Skor Değerlendirmesi (Baştan, 2019)



1.9.1.3. Sağım Makinalarının fonksiyonu

Makineli sağımda, makine yapı ve fonksiyon bozuklukları mastitislere duyarlılık oluşturur (Izgür, 1984). Sağım makinelerinde süt vakum uygulanarak alınmaktadır. Vakumun meydana getirdiği negatif basınç sfinkter kasın sıkma gücünü aşınca, sinüs papillaris'teki süt emzik lastiğine oradan kısa süt hortumuyla süt pençesine gelir. Sürekli vakum uygulayarak sütü almak mümkün olmakla beraber meme sağlığı üzerine zararlı etkisi vardır. Bu nedenle meme başında kansirkülasyonunun yapılması gerekmektedir. Bu işlevi pulzatör yapmaktadır. Vakum döneminde ductus papillaris açılır ve süt meme başından akar. Masaj döneminde ise atmosferik hava meme başlığının emzik lastiği ve metal kısımları arasına girerek meme başının masajına neden olur. Özetle sağım makinesi, sağım ve dinlenme dönemlerinin kombine olduğu iki fazlı bir sistemle sağımı gerçekleştirir (Kingwill, 1979; FAO, 1989; Mannien, 1995).

Kullanılan sağım başlıklarının meme başına temas eden materyal kısmı yumuşak olmalı ve bu kısım dezenfektan ve temizlik ürünlerinin verebileceği zararlara karşı dayanıklı olmalı ve uygulanabilirliği açısından memeye ve meme başına zarar vermeyecek şekilde uygun olmalıdır. Dezenforme olan ve meme başının dokusuna ve kendisine zarar verebilecek durumda ki materyal kısımları değiştirilmelidir. Değiştirilmemesi durumunda mastitislerin oluşmasına ortam hazırlayan meme derisinin yaralanması veya bütünlüğünün bozulmasına yol açılabilir. Bu nedenle sağım işlemi sonlanır sonlanmaz sağım makinesinin başlıkları meme başlarından çıkarılmalıdır. Çünkü memedesüt kalmayınca mukozayı zedeler ve enfeksiyona predispozisyon oluşmaktadır, süt varken vakum sadece meme başının dışdeliğini etkilemektedir (Bray ve Sherear, 1994).

Mastitis ile sađım makinesinin oluřturduđu vakum arasında bir bađlantı bulunmaktadır. Vakum dűzeyi 25.4-27.9 cm/Hg basıncı ile 34.5-40.6 cm/Hg olması mastitisten korunmak ve sűtűn tamamının indirilmesi için en uygun deđerdir. Yűksek vakum deđerlerine maruz kalan meme ve meme bařı ařırı basınçtan dolayı zarar gűrerek gerilir ve doku bűtűnlűđű bozulurken dűřűk vakum seviyelerinde ise sűtűn tamamının indirilme sűresi uzadıđı için meme bařı olması gerekenden daha uzun sűre pulzasyona maruz kalır.

Mastitis açısından risk oluşturan etmenlerden biride vakum rezervidir. Vakum rezervi, vakum pompasının sağım cihazı için gerekli olandan daha fazla hava çekmesi durumu olarak tanımlanmaktadır. 38 cm/Hg basıncı ile çalışan bir sağım makinesinde vakum rezervi, 114 cm³ olmalıdır. Vakum dalgalanmalarının asıl sebebi dűřen rezerv sonrası sağım başları değerştirilirken sisteme dışarıdan hava girmesidir. Mastitise predispozisyon sağlayan bu durumun en önemli sebebi ise vakum rezervinin yeterli olmamasıdır. (Bařtan, 2002; Bray ve Sherear, 1994; Kingwill, 1979; Manninen, 1995; Köker ve Salmanođlu, 2000).

Meme bařına uygulanan pulzasyon ile mastitis önemli iliřki vardır. Pulzasyon siklusların, sađım makinelerinin yapılarına gűre, dakikada 48-120 arasında deđerşebilir. Pulzasyon hızı ise bir dakikadaki pulzasyon sayısı demektir. Pulzasyon hızı pulzat rce ayarlanmakta ve dakikada 44-60 pulzasyon en yaygın kullanılan deđerlerdir. Dakikada 30'dan az gibi çok dűřűk pulzasyon hızı meme bařlarında dolařım yetersizliđinden kaynaklanan ađrıya neden olmaktadır. 50'den yűksek pulzasyon hızlarında ductus papillaris zorlanır ve onun bakterilerin giriřini engelleyici gűcűnű yitirmesineneden olur (Bray ve Sherear, 1994; Manninen, 1995; Erdem, 2001) .

Sağımcıların, sağım yerlerinin ve sağım makinelerinin temizliğine dikkat edilmemesine bağlı olarak çevreden meme başına, inekler arasında vememe başları arasında mikroorganizmalarının transferi riski artmaktadır (Erdem, 2001).

Bu yűzden memelerin sağım öncesi ve sonrası uygulanacak hijyenik önlemler ile mastitislerin oluşması arasında ilişki vardır.

1.9.1.4. Sağıım Öncesi ve Sonrası Meme Başlarının Dezenfeksiyonu

Sağıım Öncesi

Sağıım öncesi yapılan uygulamalar ile özellikle çevresel mastitis etkenlerinin elimine edilebilmesi en önemli ölkü iken bunun yanı sıra kontamine olmul meme başlarının dezenfeksiyonuda bu uygulamaları son derece önemli kılan bir diğer faktördür.

Kontamine meme başlarının temizlenmesi oldukça önemlidir çünkü sağıım öncesi ve sonrası meydana gelebilecek kontaminasyonlar sonucu başka memelerde enfeksiyonlar oluşabilir. Solüsyonların inaktivasyonun engellemek için öncesinde meme başları temizlenmelidir. Bu durumda solüsyonların aktivitesi artmaktadır. Silinen yahut yıkanan meme başları solüsyonu dilüe etmemesi için kurulanmalıdır. Kurulama için tek kullanımlık kağıt havlular ya da pamuklu bezlerin kullanılması önem arz eder (Pankey, Eberhart ve ark., 1984). Araştırmacılar (Rasmussen, Galton ve ark., 1991) pamuk içeren havluların kullanılmasının daha efektif olduğunu belirttikleri çalışmalar göz önüne alınmalıdır.

Solüsyon kabı tüm meme başını kavrayacak şekilde en az otuz saniye kadar tutulmalıdır. Teat dipping sonrası dezenfektanların süte geçmesi ve meme başlarının başlık içinde yapışmasını önlemek için meme başları tekrar silinmesi elzemdir. Ortalama yirmi saniyelik kurulama işleminin sütteki rezidüeyi büyük miktarda azalttığı belirtilmiştir. İşlemler sırasında hızlı olunduğu takdirde bölgenin bakteriyel kontaminasyonun en aza ineceği bildirilmiştir.(Rasmussen, Galton ve ark., 1991).

Pankey ve ark.,(Pankey, Wildman ve ark., 1987), yıkama ve kurulama işlemlerinin yanı sıra sağım öncesi TD uygulayarak *Streptococcus uberis* açısından % 41'lik azalma elde ederken, Serieys ve Poutrel,(Serieys and Poutrel 1996) , ise *S. aureus*, *Streptococcus uberis* ve *Corynebacterium bovis* yönünden sırasıyla %48, %60 ve %47 oranında azalma elde edebilmişlerdir. Yine çeşitli araştırmacılar sağım öncesinde başta iyot solüsyonları olmak üzere çeşitli dezenfektan solüsyonlarıyla TD uygulanan hayvanlarda klinik mastitislerde azalma ve sütteki somatik hücre sayılarında azalmalar görüldüğünü bildirmişlerdir (P , Blowey and Collis 1992, Ruegg and Dohoo 1997).

Sağım Sonrası

Kontagiyöz mastitis riskini en aza indirmek için en hızlı şekilde meme başları temizlenmelidir çünkü sağım sırasında kontamine bir meme ile temas eden sağım ekipmları 6-8 farklı meme başında enfeksiyon oluşturabilmektedir. Sağım sonrası yapılan TD ile major olmayan mastitis etkenleri elimine edilebilir. Bunun için sağım başlıkları çıkarıldıktan sonraki 1-2 saniye içinde daldırma yapılmalı ve daldırma kabı içerisinde 20 saniye kadar tutulması önerilmektedir. Solüsyonun dezenfektan etkisi organik materyal tarafından inaktive olacağından 1-2 saat ile sınırlıdır ve 1-2 saat sonra solüsyon değişimi yapılmalıdır (Pankey, Eberhart ve ark., 1984) .

Bu uygulamanın en etkili olduğu yer meme başı enfeksiyonlarıdır. Farklı dezenfektanların kullanımıyla klinik mastitis ve somatik hücre sayılarında gerilemelerin gözlemlendiği bildirilmiştir (Alaçam, P , Pankey, Eberhart ve ark., 1984, Du Preez 1987, Fehlings, Deneke ve ark., 1997). Gerek iyotlu solüsyonlar gerekse klorlu dezenfektanların pozitif etkisi olduğu bildirilmiştir (Alaçam, Shailja , Galton 2004).

Bu uygulamaların yapıldığı sürülerin somatik hücre sayıları oldukça önemlidir özellikle düşük somatik hücre sayısına sahip sürülerde sağım sonrası uygulamalardan kaçınılmalıdır (Malinowski, 2000). Lam ve ark. sağım sonrası TD'nin sonlandırıldığı çiftliklerde *E.coli*'ye bağlı mastitis oranlarının azaldığı bildirmiştir. Bunun asıl nedeni klinik mastitislerin az olduğu ve somatik hücre sayısının yüksek olmadığı sürülerde sağım sonrası TD'in floralarda erezyona sebep olması olarak gösterilmektedir.

1.9.1.5. Klinik Mastitislerin Tedavisi ve Kayıt Edilmesi

İneklerde tüm bakteriyel kaynaklı enfeksiyonlarda olduğu gibi mastitisler içinde antibiyotik kullanılmaktadır. Laktasyon döneminde meydana gelen enfektik mastitislerde (özellikle de *S. aureus* kaynaklı) antibiyotik kullanımı olumsuz sonuçlar verebilmektedir. Bu nedenle etkene yönelik antibiyotik seçimi klinik mastitislerde oldukça önemlidir. Tedavi öncesi mastitise sebep olan etken veya etkenlerin belirlenmesi işletme açısından hayati öneme sahiptir. Ayrıca hem gereksiz antibiyotik kullanımını hemde süte geçen antibiyotik miktarını azaltmak açısından oldukça akılcıdır. Mastitis patojenlerinin tespitinde sahada kullanılan 12 saat içerisinde sonuçların alındığı hızlı test kitlerinden yararlanılabilir (Baştan, 2019).

1.9.1.6. Üç veya Fazla Mastitis Geçiren (Kronik Enfekte) İneklerin Kesime Gönderilmesi

Çok sayıda klinik mastitis enfeksiyonu geçiren ineklerde mastitis etkeni bulaşıcı mastitislerden biridir. (*S.aureus* gibi) Bu ineklerin sürüdeki varlığı diğer ineklere

mikroorganizmaların hızlıca bulaşması ve tank sütünde somatik hücre sayısının artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle kronik mastitis ve subklinik kronik mastitis tespit edilen hayvanların sürüden uzaklaştırılıp kesime sevk edilmesi en akılcı yol olacaktır.

1.9.1.7. Çevresel Mastitislerden Korunma Programı Özet (Baştan, 2019)

- 1- Meme ve meme başları temiz ve kuru olmalıdır
- 2- Sağım öncesi meme başları dezenfekte edilmeli, yaklaşık 30 saniye bekledikten sonra kurulanmalıdır.
- 3- Sağımdan sonra meme başı kanalı 30-60 dk açık kalır. Bu nedenle sağımdan sonra ineklerin ayakta kalmaları teşvik edilmelidir.
- 4- Altlıklar her zaman kuru ve temiz olmalıdır.
- 5- Doğum bölmelerinin temizliğine çok özen gösterilmelidir
- 6- Her inek için bir doğum bölmesi olmalıdır (ideali bölme sayısı inek sayısından %5 fazla olmasıdır.)
- 7- Sağım boyunca vakum düzeyi sabit olmalı ve sağım başlıkları kaymamalıdır.
- 8- Meme başları sürekli izlenmeli, meme başlarında bir hasar varsa, meme başı bu bölgelerden bakterilerin girişini önlemek için bariyer oluşturan dezenfektana daldırılmalıdır.
- 9- Kuru dönem tedavisiyle birlikte meme başı kanalı tıkaçları uygulanmalıdır. Uygulama öncesi ve sırasında meme başı dezenfeksiyonuna özen gösterilmelidir.
- 10- Mastitis insidensi ve enfeksiyon zamanı sürekli izlenmeli klinik mastitislerde sorumlu patojen tesbit edilmelidir.
- 11- Aşı yapılmalıdır.

1.9.2.Bulaşıcı Mikroorganizmalara Bağlı Mastitisleri Önleme Stratejileri (Baştan, 2019)

- 1-Satın alınacak ineklere dikkat edilmelidir
- 2-Sağım hijyenine dikkat edilmelidir
 - Sağımçı eldiven giymelidir.
 - Sağım öncesi teat diping yapılmalı.
 - Ön süt muayenesi yapılmalı
 - Sağım başlıkları meme başlarına doğru bir şekilde takılmalıdır.
 - Sağım başlıkları çıkarıldıktan sonra meme başları teat diping yapılmalı ve hayvanların ayakta kalması sağlanmalı
- 3- Meme başları dezenfekte edilmelidir.
- 4- Kuru dönem tedavisi yapılmalıdır.
- 5- Sağım makinalarının fonksiyonları uygun olmalıdır.
- 6- Çevre yönetimi iyi yapılmalıdır.
- 7- Beslenmeye dikkat edilmelidir.
- 8-Klinik mastitisler tedavi edilmelidir.
- 9- Kronik mastitisli hayvanlar sürüden çıkarılmalıdır.
- 10- Meme sağlığı kontrol programlarının etkinliği izlenmelidir.

Son yıllarda özellikle sağlıklı ürün tüketimi ve özellikle hayvansal ürünlerin doğal olanlarına yönelim artmıştır. Ürünlerin fiyatları ve işletmeler tarafından alınmasında bazı kriterler ülkemizde oluşmaya başlamıştır. Özellikle süt ve süt ürünlerini işleyen firmalar tank sütünün somatik hücre sayısına, antibiyotik rezüdesine bakarak alımlar yapmaya başlamıştır. Bu durumda süt işletmelerinin, en çok ekonomik kayba neden olan mastitisten korunma ve çiftlikte antibiyotik kullanımının sınırlandırılması önemli bir durum haline gelmiştir. Subklinik mastitisler memede ve canlıda herhangi belirti oluşturmadığı için tank sütünde ortaya çıkan

belirsiz somatik hücre sayısının en temel nedenlerinden biridir. Bu çalışmada amaç, ticari bir süt işletmesinde subklinik mastitislerin teşhisi ve yapılan bakteriyolojik izolasyon sonrası mastitise neden olan bakterilerin belirlenmesidir.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Bu çalışma, Ankara ili sınırlarında bulunan ve 700 sağmal simmental ineğin bulunduğu ticari bir çiftlikte gerçekleştirilmiştir. İnekler otomatik sağım sistemi kullanılarak günde iki kez sağılmaktaydı ve süt verimlerine göre toplam karma rasyon (ticari bileşik, saman, yonca, fiğ, sarma arpa, mısır silajı ve vitamin-mineral takviyesi) ile beslenmekteydi.

Çalışma tasarımı: Bu çalışma Ankara Gölbaşı'nda bulunan ve 700 sağmal simmental ineğin bulunduğu ticari bir çiftlikte Şubat 2019 ile Mayıs 2019 tarihleri arasında yapılmış ve süt çiftliğinde CMT (+) olan hayvanlar belirlenip, steril süt örnekleri alınmıştır. Çalışmada yüz inekten karma steril süt örneği alınıp bu örneklerin bakteriyolojik izolasyonu yapılmıştır.

2.2. Yöntem

Süt örneklerini almadan önce genel hijyen kuralları uygulanıp lateks eldiven giyildi. Ön süt muayenesinde süt formu bozuk olan hayvanlara CMT testi yapıp CMT (+) çıkan hayvanlardan örnekler alındı. Bu örnekler alınmadan önce şüpheli hayvanların meme lobları temiz ıslak bir havluyla silinip temizlendikten sonra, meme başları teat-diping solüsyonu ile temizlendi 30 saniye bekletildikten sonra temiz kâğıt

havluyla silindi ve daha sonra %70 lik alkol sıkılıp meme başı daire şeklinde temizlendi. Steril tüp açılıp yaklaşık 45 derecelik açıyla tutularak süt örnekleri alındı. Alınan süt örnekleri aynı gün içerisinde soğuk zincirde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Mastitis Laboratuvarına getirildi.

Süt örneklerinin bakteriyolojik incelemeleri ABD Ulusal Mastitis Konseyi (NMC) tarafından belirlenen protokollere uygun olarak yapıldı. Protokole göre numuneler vortekslendi ve oda sıcaklığında homojenize edildi ve ardından steril bir öze kullanılarak % 5-7 (koyun kanı) içeren Blood Agar, Edward's Agar, Mac Conkey Agar ve Chapman Agar'a (0,05ml) nakledildi. Mac Conkey ve Edward's Agarları 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmeye bırakıldı ve Chapman agarları *S. aureus* ve Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) türlerinin izolasyonu için 48 saat inkübasyona bırakıldı. Bakteriyolojik izolasyon sırasında kanlı agardan elde edilen koloniler gram boyama ile boyandı. Gram boyama sonrası katalaz ve oksidaz testi uygulandı ve genel bakteriyolojik ve maya tanımlamaları yapıldı. Macconkey Agar'da üretilen koloniler, laktoz pozitif ve negatif özelliklerine göre değerlendirildi. Laktoz pozitif olarak izole edilen bakteri kolonilerinden kanlı agarda izole edilen bakterilere katalaz ve oksidaz testi uygulandı ve *E. coli* tespit edildi. *Pseudomonas* spp. Mac Conkey Agar'da mavi-yeşil pigmentasyona yol açan ve yapısındaki amino-asetofenon nedeniyle meyve aroması veren, katalaz ve oksidaz özelliklerine göre de belirlendi. 48 saat sonra Edward's Agar'dan izole edilen *Streptococcus* spp. Ninhidrin reaktifi kullanılarak yapılan sodyum hippurat testlerine ve Esculin çözünürlüklerine göre tanımlandı. Chapman Agar'da çoğaltılan koloniler, aşağıdaki gibi pigment varlığına göre değerlendirildi; sarı pigmentlere sahip olanlar *S. aureus* olarak değerlendirildi; beyaz pigmentlere sahip olanlar ise KNS olarak değerlendirildi. Bakteriyolojik muayeneler, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı.

3. BULGULAR

Yapılan çalışmada, CMT (+) 100 süt örneğinden yapılan bakteriyolojik izolasyon sonuçları değerlendirildi. 100 süt örneğinin 58'inde herhangi bir bakteri izolasyonu gözükmezken en yoğun bakteri izolasyonu bulaşıcı mastitise neden olan *Staphylococcus aureus* (%10) olarak gözlemlendi.

Çizelge 3.1.Yapılan çalışmanın bakteriyolojik analiz sonuçları

Etken	Sonuç
Üreme Yok	%58
<i>A.viridans</i>	%6
<i>Streptococcus uberis</i>	%3
<i>Staphylococcus aureus</i>	%10
<i>Enterococcus faecalis</i>	%2
<i>Staphylococcus hyicus</i>	%2
<i>Staphylococcus intermedius</i>	%4
<i>M.luteus</i>	%1
<i>Staphylococcus spp.</i>	%8
<i>Bacillus cereus</i>	%6

Çizelge 3.2. :Yapılan çalışma sonucu alınan süt örneklerinden izole edilen bakterilerin neden olduğu mastitis çeşitlerine göre sınıflandırılması

	Sonuçlar
Çevresel Mastitis Etkenleri	%80
Bulaşıcı Mastitis Etkenleri	%10
Diğer	%10

Yapılan başka bir çalışmada, meme loblarından alınan süt örneklerinde bakteriyolojik muayeneler sonucunda 34 meme lobunda üreme olduğu ve 75 meme lobunda ise üreme olmadığı tespit edildi. Toplam örneklemelerde meme loblarında 20 adet *S.aureus* (%18,34), 7 adet *Bacillus spp.* (%6,4), 3 adet mix enfeksiyon (%2,75), 1'er adet *Streptokok spp.*, *E.coli*, *Klebsiella* ve *Kandida* etkenleri izole edilmiştir. (ALKAN 2014)

Çizelge 3.3. Alkan 2014 Yaptığı Çalışmanın Bakteriyolojik Analiz Sonucu (Alkan, 2014)

ETKEN	SONUÇ
Üreme yok	75 (% 68,80)
<i>S.aureus</i>	20 (%18,34)
<i>Streptococcus spp.</i>	1 (% 0,9)
<i>E.coli</i>	1 (% 0,9)
<i>Bacillus spp.</i>	7 (% 6,4)
<i>Klebsiella spp.</i>	1 (% 0,9)
<i>Kandida spp.</i>	1 (% 0,9)
Mix Enf.	3 (% 2,75)

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

İneklerde 140'dan fazla mikroorganizmanın mastitise neden olduğu belirlenmiştir. Bu kadar çeşit mikroorganizma mastitise neden olmakla birlikte en sık izole edilen bakteriler Stafilokok, Streptokok türü bakteriler ile gram negatif bakterilerdir. İneklerde mastitislere sıklıkla bulaşıcı ve çevresel mikroorganizmalar neden olmaktadır. Bulaşıcı mikroorganizmalar inekten ineğe veya enfekte memeden sağlıklı olana bulaşma özelliği gösterirler ve bazı özellikleri birbirlerine benzerdir. Bu grup mikroorganizmalar memenin saprofitidir, inekler arasında kolayca yayılırlar. Son yıllarda bulaşıcı özelliklerinden dolayı eskiden çevresel mikroorganizma kabul edilen *S. dysgalactia* ile fırsatçı diye bilinen koagulaz negatif stafilokoklar da bulaşıcı mikroorganizmalar sınıfına sokulmuştur.

Bulaşıcı özellikteki mikroorganizmalar *S. aureus*, *S. agalactia*, mikoplazma türleri ve *C. bovis*, koagulaz negatif stafilokoklar (KNS) ve *S. dysgalactia*'dır. Bulaşıcı ajanlardan ekonomik yönden en önemlileri, *S. aureus*, KNS ve *S. agalactia*'dır. *S. dysgalactia* ise bazı sürülerde meme sağlığı problemleri oluşturabilmektedir. Bu bakteri epidemiyolojik özelliği nedeniyle bazen bulaşıcı bazen de çevresel patojen grubuna dahil edilmektedir.

Mikoplazmalara bağlı mastitisler ise oldukça bulaşıcıdır, problem genelde tek bir sürüyle sınırlıdır. *C. bovis*' de bulaşıcıdır ve memede orta şiddetli yangıya neden olur. *C. bovis*, ineklerde nadiren meme içi enfeksiyona neden olması itibarıyla minör patojenler grubuna da dahil edilmektedir. *S. aureus*, KNS, *S. agalactia*, *S. dysgalactia* ve mikoplazmalar en önemli bulaşıcı mikroorganizmalardır (*C. bovis* ise az patojeniktir).

Bulaşıcı etkenler, memeye genellikle sağım sırasında girmekte sağımıcının eli,

meme temizliğinde kullanılan bez veya süngerler ve sağım başlıklarıyla inekler arasında yayılmaktadır. Bu grup bakterilerin meme içinde çoğalma eğilimi fazladır, genellikle uzun süreli subklinik mastitise neden olmaktadır (süt normal görünümündedir). Bu mikroorganizmaların önemli bir özellikleri de enfekte memeden süte çok sayıda geçmeleridir.

Bulaşıcı patojenlerden en önemlileri; *S. aureus* ve *S. agalactia* olup, bu 2 bakterinin birçok özellikleri birbirine benzemekle birlikte oluşturdıkları enfeksiyonun şekli tamamen farklıdır.

Bulaşıcı patojenlerin en yaygın özellikleri meme derisi ile meme başı kanalına kolonize olma ve çoğalma yeteneğine sahip olmalarıdır. Bulaşıcı bakteriler meme sağlığı kontrol programı uygulanmayan sürülerde önemli meme problemlerine neden olmaktadır. Bu grup patojenlerin neden olduğu meme içi enfeksiyonlar, meme başı dezenfeksiyonu ve kuru dönem tedavisi ile kontrol altına alınabilir, bu önlemler yardımı ile enfeksiyon prevalansı azaltılabilir.

Günümüzde özellikle büyük sürülerde mastitis kontrol programlarının uygulanması bu grup patojenlerin neden olduğu meme içi enfeksiyonları önemli sorun olmaktan çıkarmıştır. Fakat bu defa da çevresel patojenler önemli meme sağlığı sorunları oluşturmaya başlamışlardır.

Çevresel mikroorganizmalar, adında anlaşılacağı üzere ineklerin yaşam alanlarında (altlık, toprak, gübre gibi) bulunan mikroorganizmalardır. Bu nedenle bu mikroorganizmalara bağlı mastitislerin prevalansı işletmedeki bakım ve barındırma koşullarıyla yakından ilgilidir. Bu çeşit mikroorganizmalar hayvanların yaşadıkları ortamlarda bulunduğundan, bunları ineklerin yaşam alanlarından tamamen yok etmek mümkün değildir. Ancak ineklerin barındığı ortamların ve çevrenin temizliği ile ineklerin bağışıklık sistemini güçlendirmekle, bu mikroorganizmalara bağlı mastitisler kontrol altında tutulabilir.

Çevresel mikroorganizmalar; koliformlar olarak adlandırılan *E. coli*, *Klebsiella*, *S. uberis* gibi çevresel streptokoklar, fırsatçı bakteriler ve çevresel stafilokoklara benzeyen diğer mikroorganizmalar, *Pseudomonas*, *Trueperella pyogenes* ve *Nocardia*'dır.

Bu mikroorganizmalardan mastitise en sık yol açanlar *E. coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp* ve *Citrobacter spp*'dir. Bu mikroorganizmalar gram negatif olup, dışkı, altlık ve ıslak-kirli meme bezinde bulunurlar. Koliform patojenlerin neden olduğu meme içi enfeksiyonlara çevresel mastitisler de denilmektedir.

Çevresel mikroorganizmalardan meme sağlığı açısından en önemli gruptan birisi; enterobacteriaceae familyasına ait; *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Yersinia*, *Edwardsiella* ve *Providencia*'dır. Bu familyadan meme sağlığı için en önemlileri; *E. coli* ve *Klebsiella* türü bakterilerdir. Enterobacteriaceae familyasına ait bakteriler gram negatiftir ve MacConkey agarda yuvarlak şekilde görülür. *E. coli*, *Enterobacter* ve *Klebsiella* laktozu fermente ederek asit üretirler, MacConkey agarda pH 6.8'in altındadır, bu nedenle görünüşleri kırmızı/pembe rengindedir. *Serratia* ve *Citrobacter*, laktozu yavaş veya zayıf fermente eder, *Proteus* ve *Shigella* türleri ise laktoz yerine pepton kullanır. Gram negatif bakterilerin ortak özelliklerinden birisi dış hücre duvarı membranlarının endotoksin özelliği olan lipopolisakkarit yapılı olmasıdır. Tüm gram negatif bakterilerin dış hücre membranında lipopolisakkarit bulunmasına rağmen, lipopolisakkarit'in yapısı bakteri türüne göre farklıdır. Lipopolisakkarit'in görevi; dış etkilere karşı hücresel bütünlüğü korumaya yardım etmek ve dış çevreye uyumu sağlamaktır.

Çevresel bakteriler ineklerin dışkı, toprak, altlık, su gibi yaşam alanlarında oldukça fazla sayıda bulunmaktadır. Özellikle bağlı sistemde barındırılan inekler daha büyük risk altındadır.

Çevresel patojenlere bağlı klinik mastitis insidensi, ineklerin kapalı bir bölümde

tutulduğu kış aylarında ve mikororganizmaların yoğun olarak bulunduğu yaz aylarında artmaktadır.

Çevresel bakteriler uygun maddelerin (dışkı gibi) bulunduğu ıslak koşullarda ürerler. İnek toprak üzerine veya çamura yattığı zaman veya memeler kontamine suyla temas ettiğinde (su havuzu veya ayak banyosu için), bakteriler meme derisine kolayca kolonize olur ve sağım sırasında meme başı kanalından meme dokusuna girerler. Meme derisi bu bakterilerle kontamine ise meme yıkandıktan sonra kurulanmadığında yukarıdan akan su bakterileri meme başı kanalına doğru taşır. Sağım başlıkları takıldıktan sonra da bakteriler sağım sırasında meme başı kanalına girebilir. Meme lobları yıkandıktan sonra kurulanmaz ise yıkama sonrası bakteriler meme başının sonlarına doğru taşınır. Bu durumda meme loblarının yıkanması memedeki bakteri sayısını azaltmak yerine artırma etkisi yapar. Bu nedenle ineklerde meme loblarının yıkanması çok zorunlu olmadıkça yapılmamalıdır.

İneklerde meme içi enfeksiyonlara yol açan çevresel mikroorganizmalardan birisi de çevresel streptokoklardır. Çevresel streptokoklarga gram pozitif bakterilerdir, ineğin derisinde ve yaşam alanlarında bulunmaktadır. Bu grup mikroorganizmalar klinik ve subklinik mastitise neden olmaktadır. Çevresel streptokoklar, ineklerin bakım ve beslenmesinin yapıldığı alanlarda yaygın olarak bulunur, genellikle de kuru dönemde mastitise yol açarlar. Bu grup patojene bağlı yeni meme içi enfeksiyon oranı, kuru dönemde laktasyon dönemine oranla oldukça yüksektir. Kuru dönem tedavisi yapılmayan sürülerde kuruya çıkarmadan kısa bir süre sonra enfeksiyon oranı belirgin şekilde yükselir. Ayrıca bu etkenlere bağlı doğum öncesi ve erken laktasyon döneminde yeni meme içi enfeksiyon oranı yüksektir, fakat laktasyonun ileri dönemlerinde bu oran azalır. Mastitis prevalansı ise sağım sırasında memenin ıslak ve meme temizliğinde kullanılan havlular kirli olduğunda veya kötü barınma koşullarında artar. Ilık ve nemli çevre koşulları, altlık materyalindeki bakteri sayısında artışa yol açarak enfeksiyon prevalansını artırır.

Bazı mastitis vakalarından alınan süt örneklerinden yapılan kültürlerde herhangi bir bakteri üremeyebilir. Yapılan çalışmalarda örneklerin %25-35'inde bakteriye çoğalması hiç veya yeterli olmadığı bildirilmiş olup, bu duruma daha çok klinik mastitislerde rastlandığı belirtilmiştir. Bir örnekte bakteri izole edilememesinin nedenlerinden birisi *E. coli* enfeksiyonlarıdır. Çünkü *E. coli* meme savunma sisteminde kolayca yok edilir. İkinci bir neden bakterinin süte aralıklı saçılımıdır. Kronik *S. aureus* ve *S. uberis* enfeksiyonlarında sütteki bakteri sayısı zamanla dalgalanma gösterir. Çünkü bu bakteriler süte aralıklı olarak geçer. Şayet örnek alma zamanı süte saçılım dönemine denk gelmez veya bakteri sayısı saptanamayacak düzeyde düşükse, süte herhangi bir bakteri izole edilemez. O nedenle mastitislerde bakteri izole edilemediğinde örnekleme 1-2 hafta arayla birkaç kez tekrarlanmalıdır.

Yapılan çalışmada CMT sonucuna göre pozitif 100 süt örneğinden yapılan bakteriyolojik izolasyon sonuçları değerlendirildi. 100 süt örneğinin 58'inde herhangi bir bakteri izolasyonu yapılamaz iken en fazla izole edilen patojen *S. aureus* (%10) idi. Bu sonuçlardan da anlaşılacağı üzere mastitislerden izole edilen patojenler bulaşıcı ve çevresel mastitis patojenleridir. Bu durum işletmede sağım rutinin yetersizliği, mastitis kontrol programlarının sıkıca uygulanmayışı ve altlık yönetimindeki hatalardan kaynaklanmış olabilir. Ayrıca örneklerin çoğunda herhangi bir izolasyon yapılmaması tek örnek alınmadan kaynaklanmış olabilir. Bu sonuçlar literatür verileriyle uyumludur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. İneklerde mastitis kontrol programının sıkı uygulanmadığı işletmelerde mastitislere sık rastlanır. O nedenle mastitis kontrol programları dikkatlice uygulanmalıdır.
2. İnek mastitislerinden sıklıkla bulaşıcı ve çevresel mikroorganizmalar izole edilmektedir.
3. Mastitisten sorumlu patojenin tesbitinde tek bir örnek almak ve sorumlu patojeni tesbit etmek mümkün değildir. O nedenle bir ineğe mastitis bakımından negatif demek için örnek alma işleminin 7-10 gün sonra tekrarlanması gerekir.

ÖZET

Tez çalışmasının amacı Simental ırkı ineklerde subklinik mastitise neden olan patojenlerin tesbitiydi. Bu amaçla Ankara İli sınırlarında bulunan Simental Çiftliğinde bulunan ineklere subklinik mastitis tanısı için karma süt örneğine önce CMT test'i yapıldı. Yüz adet inek CMT pozitif olarak belirlendi ve California Mastitis Test pozitif ineklerden steril koşullarda süt örneği alınarak mikrobiyolojik muayene yapıldı. Mikrobiyolojik muayene sonucunda CMT pozitif 100 örneğin 58'inden herhangi bir bakteri izolasyonu yapılamaz iken en 10'undan *S. aureus*, 8'inden diğer stafilokok türleri, 6'sından *B. cereus*, 6'sından *A. viridans* ve 3'ünden *S. uberis* izole edildi.

Sonuç olarak Simental ırkı ineklerde en yaygın izole edilen bakteriler bulaşıcı ve çevresel mastitis patojenleriydi.

Anahtar Sözcükler: Mastitis, Simental, Subklinik Mastitis.

SUMMARY

The aim of the thesis study was to determine the pathogens causing subclinical mastitis in Simmental cows. For this purpose, firstly CMT test was applied to the mixed milk sample for the diagnosis of subclinical mastitis in the cows in Simmental Farm located in the borders of Ankara Province. One hundred cows were determined to be CMT positive, and milk samples were taken from California Mastitis Test positive cows under sterile conditions and microbiological examination was performed. As a result of microbiological examination, 58 of 100 CMT positive samples could not be isolated, while 10 of them *S. aureus*, 8 of other staphylococcus species, 6 of them *B. cereus*, 6 of them *A. viridans* and 3 of them *S. uberis* isolated.

As a result, the most common bacteria isolated in Simmental cows were infectious and environmental mastitis pathogens.

Keywords: Mastitis, Simmental, Subclinic Mastitis.

KAYNAKLAR

AKAM, F. D., F. H. DODD AND A. J. QUICK (1989). "Milking, milk production hygiene and udder health." Fao Animal Production and Health Paper **78**.

ALAÇAM, E. "Meme Hastalıkları In: Sığır Hastalıkları. Ed. E Alaçam ve M Şahal. Medisan yayınevi, Ankara. 1997, 389-425."

ALAÇAM, E. (1997). Meme Hastalıkları. Sığır Hastalıkları. M. Ş. E. Alaçam. Ankara, Medisan: 389-425.

ALAÇAM, E., O. ALPAN AND T. TEKELİ (1983). "Süt İneklerinde Bazı Meme Ölçümleri ve Süt Verimi ile İlgili Subklinik Mastitis Arasındaki İlişkiler." Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi **23**(3-4): 85-99.

ALAÇAM, E. "Süt İneklerinin Mastitisten Korunmasında Teat Dipping'in Etkisi Üzerine Çalışmalar. Doçentlik Tezi, A. Ü. Veteriner Fakültesi, 1978. Ankara."

ALAÇAM, E., TEKELİ, T., ERGANİŞ, O., İZGİ, A. N. (1989). "İnek ve mandalarda subklinik mastitislerin tanısı, etkenlerin izolasyonu ve bunlara karşı etkili antibiyotiklerin belirlenmesi." SÜ Vet Fak Derg**5**(1): 91-101.

ALKAN, H , BAŞTAN, A , SALAR, S , ÖZDAL, M , KAYMAZ, M . (2014). Comparision of results of California Mastitis Test, somatic cell counts and microbiologicalexamination in healthy and infected quarter in cows at dry-off. . Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi , 61 (3) , 179-183 . DOI: 10.1501/Vetfak_0000002626

ALLUWAİMİ, A. M. (2004). "The cytokines of bovine mammary gland: prospects for diagnosis and therapy." *Res Vet Sci* **77**(3): 211-222.

ALMEİDA, R. A. AND S. P. OLİVER (1995). "Invasion of bovine mammary epithelial cells by *Streptococcus dysgalactiae*." *J Dairy Sci* **78**(6): 1310-1317.

AUTHORİTY, E. F. S. (2005). "Opinion of the Scientific Panel on additives and products or substances used in animal feed (FEEDAP) on the updating of the criteria used in the assessment of bacteria for resistance to antibiotics of human or veterinary importance." *EFSA Journal* **3**(6): 223.

AUTHORİTY, E. F. S. (2007). "Introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA - Opinion of the Scientific Committee." *EFSA Journal* **5**(12): 587.

AUTHORİTY, E. F. S. (2008). "Technical guidance - Update of the criteria used in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human or veterinary importance." *EFSA Journal* **6**(7): 732.

BAŞTAN, A. (2002). "İneklerde meme hastalıkları." Ed. A. Baştan, Hatipoğlu Yayınları, Ankara.

BAŞTAN, A. (2013). İneklerde Meme sağlığı ve Sorunları. 1th ed., 204-220, Kardelen Ofset, Ankara.

BAŞTAN, A. (2019). İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunarı 3.Baskı.,148-175, Neyir Matbaacılık,Ankara.

BAŞTAN, A. (2019). İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunarı 3.Baskı.,210-237, Neyir Matbaacılık,Ankara.

BERGLUND, I., G. PETTERSSON AND K. SVENNERSTEN-SJAUNJA (2002). "Automatic milking: effects on somatic cell count and teat end-quality." *Livestock Production Science* **78**(2): 115-124.

BİLGİN, H., R. AKDENİZ, N. SUNGUR AND R. UÇUCU (1995). "Sağım Makinalarının Kontrolü İçin Mekanik İşlev Testleri." EÜ Hayvancılık Kongresi, İzmir.

BLOWEY, R. W. AND P. EDMONDSON (2010). Mastitis Control in Dairy Herds, CABI.

BLOWEY, R. W. AND K. COLLIS (1992). "Effect of premilking teat disinfection on mastitis incidence, total bacterial count, cell count and milk yield in three dairy herds." Vet Rec**130**(9): 175-178.

BRADLEY, A. J. AND M. J. GREEN (2004). "The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention." Vet Clin North Am Food Anim Pract**20**(3): 547-568.

BRAY, D. R. AND J. K. SHEARER (2009). "Milking machine and mastitis control handbook."

BURVENİCH, C., V. VAN MERRİS, J. MEHRZAD, A. DÍEZ-FRAİLE AND L. DUCHATEAU (2003). "Severity of E. coli mastitis is mainly determined by cow factors." Veterinary research **34**(5): 521-564.

BUSATO, A., P. TRACHSEL, M. SCHÄLLİBAUM AND J. BLUM (2000). "Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland." Preventive veterinary medicine **44**(3-4): 205-220.

CAPLICE, E., & FİTZGERALD, G. F. (1999). "Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation." International journal of food microbiology**50**(1-2): 131-149.

CARR, F. J., D. CHİLL AND N. MAİDA (2002). "The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey." Critical Reviews in Microbiology**28**(4): 281-370.

CENGİZ, M. (2009). "İneklerde kuru dönem mastitise karşı koruyucu yaklaşımlar. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg, 4, 215-222."

CLEMENTI, F. AND L. AQUILANTI (2011). "Recent investigations and updated criteria for the assessment of antibiotic resistance in food lactic acid bacteria." *Anaerobe***17**(6): 394-398.

COOK, J. G. AND A. HOLLIMAN (2004). "Mastitis due to *Nocardia asteroides* in a UK dairy herd following restocking after FMD." *Vet Rec***154**(9): 267-268.

COUNCIL, N. M. AND W. MADISON (1996). Current Concepts of Bovine Mastitis. National Mastitis Council.

COURVALIN, P. (2006). "Antibiotic resistance: the pros and cons of probiotics." *Digestive and Liver Disease***38**: S261-S265.

CRIST, W., L., ROBERT, J., O'LEARY, J., MCALLISTER, A. C. (1997). "Mastitis and its Control." Kentucky Cooperative Extension Service: 1-14.

D'AIMMO, M. R., M. MODESTO AND B. BIAVATI (2007). "Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. isolated from dairy and pharmaceutical products." *International Journal of Food Microbiology***115**(1): 35-42.

DANIELSEN, M. AND A. WIND (2003). "Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents." *International Journal of Food Microbiology***82**(1): 1-11.

DEGO, O. K. AND F. TAREKE (2003). "Bovine mastitis in selected areas of southern Ethiopia." *Tropical animal health and production***35**(3): 197-205.

DELUYKER HA., VAN UFFEL K., ELFRING GD., VAN OYE SN., DUTTON C., NANHIJANI I., 2007. Efficacy of a J-5 *Escherichia coli* bacterin in clinical coliform mastitis of dairy cattle. In "Mastitis in Dairy Production: Current Knowledge and Future Solutions", Ed., H Hogeveen, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.

DEVECİ, H., A. APAYDIN, C. KALKAN AND H. ÖCAL (1994). "Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları." Fırat Üniversitesi Basımevi, Elazığ.

DEVİRGİLİS, C., S. BARİLE AND G. PEROZZİ (2011). "Antibiotic resistance determinants in the interplay between food and gut microbiota." *Genes Nutr***6**(3): 275-284.

DEVİRGİLİS, C., D. COPPOLA, S. BARİLE, B. COLONNA AND G. PEROZZİ (2009). "Characterization of the Tn916 Conjugative Transposon in a Food-Borne Strain of *Lactobacillus paracasei*." *Applied and Environmental Microbiology***75**(12): 3866-3871.

DU PREEZ, J. H. (1987). "The effect of post-milking teat dipping on teat canal infections." *J S Afr Vet Assoc***58**(3): 119-123.

EBERHART, R. J. (1986). "Management of dry cows to reduce mastitis." *J Dairy Sci***69**(6): 1721-1732.

ELMER, J. J., M. D. CHRISTENSEN AND K. REGE (2013). "Applying horizontal gene transfer phenomena to enhance non-viral gene therapy." *Journal of Controlled Release* **172**(1): 246-257.

ELLİS, K. (2015). Organic Dairy Farms. In "Bovine Medicine", Ed., PD Cockcroft, 3 ed., 476-484, John Wiley & Sons, Iowa.

FEHLİNGS, K., J. DENEKE AND G. WITTKOWSKI (1997). "[Prophylactic measures against infection in dairy cattle--necessity of hygiene management]." *Dtsch Tierarztl Wochenschr***104**(8): 306-312.

FİNCH JM., WİTER A., WALTON AW., LEİGH JA., 1997. Further studies on the efficacy of a live vaccine against mastitis caused by *Streptococcus uberis*. Vaccine., 15, 1138-43.

FORET, C., H. AGUERO AND P. JANOWÍCZ (2006). "Efficacy of two barrier iodine teat dips under natural exposure conditions." J Dairy Sci**89**(6): 2279-2285.

FRIEDMAN, S., E. SHOSHANI AND E. EZRA (2004). "Economical losses from clinical mastitis in 4 dairy herds in Israel." ISRAEL JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE**59**: 16-19.

GALTON, D. M. (2004). "Effects of an automatic postmilking teat dipping system on new intramammary infections and iodine in milk." J Dairy Sci**87**(1): 225-231.

GHADERSOHİ, A., R. G. HIRST, J. FORBES-FAULKENER AND R. J. COELEN (1999). "Preliminary studies on the prevalence of *Mycoplasma bovis* mastitis in dairy in cattle in Australia." Vet Microbiol**65**(3): 185-194.

GOLDER, H. M., A. HODGE AND I. J. LEAN (2016). "Effects of antibiotic dry-cow therapy and internal teat sealant on milk somatic cell counts and clinical and subclinical mastitis in early lactation." J Dairy Sci**99**(9): 7370-7380.

GODDEN, S. M., J. T. JANSEN, K. E. LESLİE, N. L. SMART AND D. F. KELTON (2002). "The effect of sampling time and sample handling on the detection of *Staphylococcus aureus* in milk from quarters with subclinical mastitis." The Canadian Veterinary Journal **43**(1): 38.

GRASSO PJ., SCHOLZ RW., ERSKİNE RJ., EBERHART RJ., 1990. Phagocytosis, bactericidal activity and oxidative metabolism of milk neutrophils from dairy cows fed selenium-supplemented and selenium-deficient diets. Am J Vet Res., 51, 269-74.

HADİMLİ, H., M. ATEŞ, L. GÜLER, K. KAV AND T. ÖNCEL (2001). "Mastitisli süt ineklerinden izole edilen stafilokokların β -laktamaz aktiviteleri ve antibiyotiklere duyarlılıkları." Vet Bil Derg **17**: 21-25.

HAMILTON-MILLER, J. M. AND S. SHAH (1998). "Vancomycin susceptibility as an aid to the identification of lactobacilli." Lett Appl Microbiol **26**(2): 153-154.

HOGAN JS., WEİSS WP., SMİTH KL., 1993. Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. J. Dairy Sci., 76, 2795-2803.

HOGAN, J. AND K. LARRY SMİTH (2003). "Coliform mastitis." Vet Res **34**(5): 507-519.

HOLZAPFEL, W. H. N., & WOOD, B. J. (2012). The genera of lactic acid bacteria (Vol. 2), Springer Science & Business Media.

HOWDEN, B. P., P. D. R. JOHNSON, P. B. WARD, T. P. STİNEAR AND J. K. DAVİES (2006). "Isolates with Low-Level Vancomycin Resistance Associated with Persistent Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Bacteremia." Antimicrobial Agents and Chemotherapy **50**(9): 3039-3047.

HUMMEL, A., W. H. HOLZAPFEL AND C. M. A. P. FRANZ (2007). "Characterisation and transfer of antibiotic resistance genes from enterococci isolated from food." Systematic and Applied Microbiology **30**(1): 1-7.

İZGÜR, H. (1984). "Mastitise predispoze faktörler." Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mastitis Semineri(1).

JAY, J. M., LOESSNER, M. J., & GOLDEN, D. A. (2008). Modern food microbiology, Springer Science & Business Media

KESKİN A., SEYREK, İNTAŞ K., TEK HB., TUNA B., YILMAZBAŞ G., ÖZAKIN C., ERTAŞ S., 2007. Efficiency of polyvalant mastitis vaccine in lactating dairy cows. J. Biol. Environ. Sci, 1, 87-92.

KÖKER, A. Y. AND R. T. D. SALMANOĞLU (2000). Sütçü ineklerde subklinik mastitislerin şekillenmesinde sağım makinesine ilişkin sorunların incelenmesi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doğum ve Jinekoloji

KÜÇÜK Ş., ALAÇAM E., (2003). Sütçü inek işletmelerinde mastitislere karşı sistemik immunizasyon uygulamalarında meme ve sağım hijyeninin etkisi. Ankara Üniv Vet Fak Derg., 50, 33-37.

KRUIP, T., H. MORICE, M. ROBERT AND W. OUWELTJES (2002). "Robotic milking and its effect on fertility and cell counts." Journal of Dairy Science **85**(10): 2576-2581.

KRUKOWSKI, H., SABA, L. (2003). "Bovine mycotic mastitis." Folia Vet **47**: 3-7.

KÜPLÜLÜ, Ş., M. R. VURAL, Ç. KILIÇLAROĞLU, H. İZGÜR, A. BAŞTAN, M. KAYMAZ AND J. ERDEĞER "Subklinik Mastitislerin Tanısında" Milk Checker" in Kullanılması."

LEBLANC SJ., DUFFIELD TF., LESLIE KE., BATEMAN KG., TENHAG J., WALTON JS., JOHNSON WH., (2002). The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. J. Dairy Sci., 85, 1416-1426.

LEİTNER G., YADLİN N., LUBASHEVSY E., EZRA E., GLİCKMAN A., CHAFFER M., WINKLER M, SARAN A., TRAİNİN Z., (2003). Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows. II. Field trial. Veterinary Immunology and Immunopathology. 93, 153-158.

LESLIE, K. E., T. F. DUFFIELD, Y. H. SCHUKKEN AND S. J. LEBLANC (2000). The influence of negative energy balance on udder health. National Mastitis Council Regional Meeting Proceedings, Citeseer.

Lİ, X.-Z. AND H. NİKAİDO (2009). "Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria." Drugs**69**(12): 1555-1623.

MADHAVAN, H. N., SOWMIYA, M.. (2011). "Mechanisms of Development of Antibiotic Resistance in Bacteria among Clinical Specimens." Journal of Clinical and Biomedical Sciences**1**: 42-48.

MALINOWSKI, E., A. KLOSSOWSKA, M. KACZMAROWSKI AND K. KUZMA (2003). "Prevalence of intramammary infections in pregnant heifers." BULLETIN-VETERINARY INSTITUTE IN PULAWY**47**(1): 165-170.

MALINOWSKI, M. J. (2000). "Separating predictive genetic testing from snake oil: regulation, liabilities, and lost opportunities." Jurimetrics**41**(1): 23-52.

MANNINEN, E. (1995). "Effect of milking and milking machine on udder health." The bovine under mastitis. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki ISBN: 951-834.

MANNINEN E.: Effect of milking and milking machine on udder health. In The Bovine Udder and Mastitis. Ed. M. Sandholm. T.H. Buzalski, Kaartinen, L.. Pyörala, University of Helsinki, Finland, 1995; 235-245."

MATHUR, S. AND R. SINGH (2005). "Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review." International Journal of Food Microbiology**105**(3): 281-295.

MELLENBERGER RW., (1977). Vaccination against mastitis. J. Dairy Sci., 60, 1016-1021.

MOEINI MM., KARAMI H., MIKAEILI E., (2009). Effect of selenium and vitamin E supplementation during the late pregnancy on reproductive indices and milk production in heifers. J. Dairy Sci., 114, 109-114.

MOYO N., NIELEN M., KRUITWAGEN C., BEYNEN AC., (2007). Vitamin E supplementation and udder health: A meta-analysis. In ‘‘Mastitis in Dairy Production: Current Knowledge and Future Solutions’’, Ed., H Hogeveen, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL., (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 11th ed., Natl. Acad. Press, Washington DC.

NORDHAUG ML., NESSE LL., NORCROSS NL., GUDDING R., (1994.) A field trial with an experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. 1. Clinical parameters. J. Dairy Sci., 77, 1267-1275.

NAWAZ, M., J. WANG, A. ZHOU, C. MA, X. WU, J. E. MOORE, B. CHÉRIE MILLAR AND J. XU (2011). "Characterization and Transfer of Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria from Fermented Food Products." Current Microbiology **62**(3): 1081-1089.

OLIVER, S., S. KING, P. TORRE, E. SHULL, H. DOWLEN, M. LEWIS AND L. SORDILLO (1989). "Prevention of bovine mastitis by a postmilking teat disinfectant containing chlorous acid and chlorine dioxide in a soluble polymer gel." Journal of dairy science **72**(11): 3091-3097.

OLIVER, S. P., B. E. GILLESPIE, M. J. LEWIS, S. J. IVEY, R. A. ALMEIDA, D. A. LUTHER, D. L. JOHNSON, K. C. LAMAR, H. D. MOOREHEAD AND H. H. DOWLEN (2001). "Efficacy of a new premilking teat disinfectant containing a phenolic combination for the prevention of mastitis." J Dairy Sci **84**(6): 1545-1549.

OUOBA, L. I. I., V. LEİ AND L. B. JENSEN (2008). "Resistance of potential probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria of African and European origin to antimicrobials: Determination and transferability of the resistance genes to other bacteria." *International Journal of Food Microbiology* **121**(2): 217-224.

OZDEMİR, G. B., E. ORYASIN, H. H. BİYİK, M. OZTEBER AND B. BOZDOĞAN (2011). "Phenotypic and genotypic characterization of bacteriocins in enterococcal isolates of different sources." *Indian J Microbiol* **51**(2): 182-187.

ÖZMEN, Ö. (2001). "Mastitislerde Etiyopatogenez." *Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyumu* **2**: 21-29.

PANKEY, J. W., E. E. WILDMAN, P. A. DRECHSLER AND J. S. HOGAN (1987). "Field trial evaluation of premilking teat disinfection." *J Dairy Sci* **70**(4): 867-872.

PANKEY, J. W., R. J. EBERHART, A. L. CUMING, R. D. DAGGETT, R. J. FARNSWORTH AND C. K. MCDUFF (1984). "Uptake on postmilking teat antisepsis." *J Dairy Sci* **67**(6): 1336-1353.

PANKEY, J. W. AND P. A. DRECHSLER (1993). "Evolution of udder hygiene. Premilking teat sanitation." *Vet Clin North Am Food Anim Pract* **9**(3): 519-530.

PERRETEN, V., F. SCHWARZ, L. CRESTA, M. BOEGLIN, G. DASEN AND M. TEUBER (1997). "Antibiotic resistance spread in food." *Nature* **389**(6653): 801-802.

PHILPOT, W. N. AND S. C. NICKERSON (1991). "Mastitis: counter attack."

PLUMED-FERRER, C., A. BARBERIO, R. FRANKLIN-GUILD, B. WERNER, P. MCDONOUGH, J. BENNETT, G. GIOIA, N. ROTA, F. WELCOME, D. V. NYDAM AND P. MORONI (2015). "Antimicrobial susceptibilities and random amplified polymorphic DNA-PCR fingerprint characterization of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*

and *Lactococcus garvieae* isolated from bovine intramammary infections." *Journal of Dairy Science***98**(9): 6216-6225.

PLUMED-FERRER, C., K. UUSIKYLÄ, J. KORHONEN AND A. VON WRIGHT (2013). "Characterization of *Lactococcus lactis* isolates from bovine mastitis." *Veterinary Microbiology***167**(3): 592-599.

PYÖRÄLÄ, S. (1995). "Staphylococcal and streptococcal mastitis." *The bovine udder and mastitis*. Edition Helsinki: 143-148.

PYÖRÄLÄ, S. (2003). "Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis." *Veterinary research* **34**(5): 565-578.

RASMUSSEN, M. D., D. M. GALTON AND L. G. PETERSSON (1991). "Effects of premilking teat preparation on spores of anaerobes, bacteria, and iodine residues in milk." *J Dairy Sci***74**(8): 2472-2478.

RASMUSSEN, M. D., J. Y. BLOM, L. A. H. NIELSEN AND P. JUSTESEN (2001). "Udder health of cows milked automatically." *Livestock Production Science* **72**(1-2): 147-156.

RİOLLET, C., P. RAINARD AND B. POUTREL (2000). "Cells and cytokines in inflammatory secretions of bovine mammary gland." *Adv Exp Med Biol***480**: 247-258.

RİŞVANLI, A. AND C. KALKAN (2002). "Sütçü İneklerde Yaş ve Irkın Subklinik Mastitisli Memelerin Sütlerindeki Somatik Hücre Sayıları ile Mikrobiyolojik İzolasyon Oranlarına Etkisi." *YYÜ. Vet. Fak. Derg***13**(1-2): 84-87.

RODRIGUES, M. X., S. F. LIMA, C. H. HIGGINS, S. G. CANNIATTI-BRAZACA AND R. C. BICALHO (2016). "The *Lactococcus* genus as a potential emerging mastitis pathogen group: A report on an outbreak investigation." *J Dairy Sci***99**(12): 9864-9874.

RODRÍGUEZ-ALONSO, P., C. FERNÁNDEZ-OTERO, J. A. CENTENO AND J. I. GARABAL (2009). "Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria and

Micrococcaceae/Staphylococcaceae Isolates from Artisanal Raw Milk Cheeses, and Potential Implications on Cheese Making." *Journal of Food Science***74**(6): M284-M293.

RUEGG, P. L. AND I. R. DOHOO (1997). "A benefit to cost analysis of the effect of premilking teat hygiene on somatic cell count and intramammary infections in a commercial dairy herd." *Can Vet J***38**(10): 632-636.

RUEGG PL., (2009). Evaluating the effectiveness of mastitis vaccines. <http://www.uwex.edu/MilkQuality/PDF/mastitis-vaccine-efficacy.pdf>. html

RUEGG PL., (2009). Management of mastitis on organic and conventional dairy farms. *J Anim Sci.*, 87, 43-55.

RUPP, R. AND D. BOÏCHARD (2003). "Genetics of resistance to mastitis in dairy cattle." *Veterinary research***34**(5): 671-688.

SALONIEMI, H. (1995). "Impact of production environment on the increase in udder diseases." Sandholm, M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L. & Pyörälä. S.(ed.). *The Bovine Udder and Mastitis*: 228-234.

SANDHOLM, M., KORHONEN, H. (1995). Antibacterial Defense Mechanisms of the Udder. *The Bovine Udder and Mastitis*. Jyväskylä Finland: 37-47.

SANDHOLM, M. AND S. PYÖRÄLÄ (1995). "Dry cow therapy." *The Bovine Udder and Mastitis*. Sandholm, M.; Honkanen-Buzalski, T: 209-214.

SANDHOLM, M. B., T. H., KAARTINEN, L., PYÖROLA, S., (1995). Anatomy and Physiology " *The Bovine Udder and Mastitis*". Finland: 7-31.

SCHALM, O. W., E. J. CARROLL AND N. C. JAIN (1971). "Bovine mastitis." *Bovine mastitis*.

SCHRICK, F., M. HOCKETT, A. SAXTON, M. LEWIS, H. DOWLEN AND S. OLIVER (2001). "Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters." *Journal of dairy science* **84**(6): 1407-1412.

SCHUKKEN, Y. H., D. J. WILSON, F. WELCOME, L. GARRISON-TIKOFSKY AND R. N. GONZALEZ (2003). "Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts." *Veterinary research* **34**(5): 579-596.

SCHWAN, O. AND O. HOLMBERG (1979). "Heifer mastitis and dry-cow mastitis: A bacteriological survey in Sweden." *Veterinary Microbiology* **3**(3): 213-226.

SEARS, P. M. (1984). "Immunization and immunity." *Vet Clin North Am Large Anim Pract* **6**(2): 391-398.

SEEGERS, H., C. FOURICHON AND F. BEAUDEAU (2003). "Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds." *Veterinary research* **34**(5): 475-491.

SEMACAN, A. (2001). "Mastitisin Ekonomik Önemi." *Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyumu* Burdur.

SERIEYS, F. AND B. POUTREL (1996). "Field trial evaluation of two teat dips containing nisin or polyvinylpyrrolidone iodophor designed for use before and after milking." *Vet Res* **27**(3): 295-303.

SHAILJA, S. M. "Postmilking teat dip effect on somatic cell count, milk production and composition in cows and buffaloes. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2002; 15(10): 1517-1522."

SHAO, Y., W. ZHANG, H. GUO, L. PAN, H. ZHANG AND T. SUN (2015). "Comparative studies on antibiotic resistance in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*." *Food Control* **50**: 250-258.

SHARMA, P., S. K. TOMAR, P. GOSWAMI, V. SANGWAN AND R. SINGH (2014). "Antibiotic resistance among commercially available probiotics." Food Research International **57**: 176-195.

SHEARN M.F.H., LANGRIDGE S., TEVERSON R.M., BOOTH J.M., HILLERTON J.E.:Effect of premilking teat dipping on clinical mastitis. Vet. Rec, 1992; (131): 488-489.

SHITANDI, A., G. ANAKALO, T. GALGALO AND M. MWANGI (2004). "Prevalence of bovine mastitis amongst smallholder dairy herds in Kenya." Israel Journal of Veterinary Medicine**59**: 20-23.

SHPIGEL, N. Y. (2001). "Clinical and therapeutic aspects of coliform mastitis in dairy cows under intensive management."

SMITH, K. L., HOGAN, J. S. (1999.). " Managing dry cows to control mastitis. In Proceedings of the British Mastitis Conference, 79-86."

SMITH KL., WEISS WP., HOGAN JS., (2009). Role of nutrition in mammary immunity and mastitis control. <http://www.veterinaria.uchile.cl/publicacion/cogresoxti/bovi/17.doc.html>

SMITH KL., HARRISON JH., HANCOCK DD., TODHUNTER DA., CONRAD HR., (1984). Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. J. Dairy Sci., 67,1293-1300.

SMITH, J., L. ELY, W. GRAVES AND W. GILSON (2002). "Effect of milking frequency on DHI performance measures." Journal of Dairy Science **85**(12): 3526-3533.

SOMMERHÄUSER, J., B. KLOPPERT, W. WOLTER, M. ZSCHÖCK, A. SOBİRAJ AND K. FAİLİNG (2003). "The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme." *Veterinary microbiology***96**(1): 91-102.

SORDİLLO, L. M. AND K. L. STREİCHER (2002). "Mammary gland immunity and mastitis susceptibility." *J Mammary Gland Biol Neoplasia* **7**(2): 135-146.

STİLES, M. E. AND W. H. HOLZAPFEL (1997). "Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy." *Int J Food Microbiol***36**(1): 1-29.

TEMMERMAN, R., B. POT, G. HUYS AND J. SWİNGS (2003). "Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products." *International Journal of Food Microbiology***81**(1): 1-10.

TİKOFSKY LL., ZADOKS RN., (2007). An alternative treatment trial for *Staphylococcus aureus* mastitis in organically managed dairy cattle. In “Mastitis in Dairy Production: Current Knowledge and Future Solutions”, Ed.,H Hogeveen, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.

UÇAR, M. (1999). "Kuru dönem başlangıcında ve 14. gününde meme içi antibiyotik uygulamalarının subklinik enfeksiyonları üzerine etkisi." *Hayvancılık Araştırma Dergisi* 1999, 9: 71**76**.

VURAL, R., Ö. ESENDAL, H. İZGÜR, S. ASLAN and Ç. KILIÇOĞLU "Holstein Düvelerde Subklinik Mastitis Olguları II. İlk Laktasyon Süresince Meme içi Enfeksiyonlar."

WALSH, C. (2003). *Antibiotics: actions, origins, resistance*. Washington, American Society for Microbiology (ASM).

WEİSS WP., (2002). Relationship of mineral and vitamin supplementation with mastitis and milk quality. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings.

WEISS WP., HOGAN JS., TODHUNTER DA., SMITH KL., (1997). Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. J. Dairy Sci., 80, 1728-1737.

WELLENBERG, G. J., W. H. VAN DER POEL AND J. T. VAN OIRSCHOT (2002). "Viral infections and bovine mastitis: a review." Vet Microbiol **88**(1): 27-45.

WILSON DJ., GONZALEZ RN. (2003). Vaccination strategies for reducing clinical severity of coliform mastitis. Vet. Clin. Food Anim., 19, 187-197.

YÜCE, A. (2001). "Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmalar."

ZDANOWICZ, M., J. SHELFORD, C. TUCKER, D. WEARY AND M. VON KEYSERLINGK (2004). "Bacterial populations on teat ends of dairy cows housed in free stalls and bedded with either sand or sawdust." Journal of dairy science **87**(6): 1694-1701.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Mehmet Akif

Soyadı: ARAS

Doğum yeri ve tarihi:

Uyruğu: Türkiye Cumhuriyeti

Medeni durum: Bekâr

II- Eğitimi

Yabancı dili: İngilizce

2017-2021 Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji

Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı

2010-2016 Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

2006-2010 Çanakkale Yenice Reyan Bodur Anadolu Lisesi

III- Ünvanları

2016 Veteriner Hekim