



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**SÜT İNEKLERİNDE LAKTASYONUN İLK 100 GÜNÜNDE
ŞEKİLLENEN SUBKLİNİK MASTİTİSLERDE
SOMATİK HÜCRE VE TOPLAM BAKTERİ SAYISI
İLE
BAZI ANTİOKSİDAN MADDELERİN ARAŞTIRILMASI**

Taha Burak ELİFOĞLU

**DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN**

**ANKARA
2020**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SÜT İNEKLERİNDE LAKTASYONUN İLK 100 GÜNÜNDE
ŞEKİLLENEN SUBKLİNİK MASTİTİSLERDE
SOMATİK HÜCRE VE TOPLAM BAKTERİ SAYISI
İLE
BAZI ANTİOKSİDAN MADDELERİN ARAŞTIRILMASI**

Taha Burak ELİFOĞLU

**DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN**

**ANKARA
2020**

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Süt İneklerinde Laktasyonun İlk 100 Gününde Şekillenen Subklinik Mastitislerde Somatik Hücre ve Toplam Bakteri Sayısı ile Bazı Antioksidan Maddelerin 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: Taha Burak ELİFOĞLU

Tarih:

imza:

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	xi
Çizelgeler	xii
1.GİRİŞ	1
1.1. Mastitis Nedir?	2
1.2. Mastitislerin Prevalansı	3
1.3. Mastitislerin Patofizyolojisi	3
1.4. Mastitislerin Etkileri	5
1.4.1. Mastitislerin Ekonomik Etkileri ve Önemi	5
1.4.2. Süt Verimi ve Kalitesine Etkileri	8
1.5. Mastitislerin Sınıflandırılması	12
1.5.1. Klinik Mastitisler	13
1.5.1.1. Perakut Mastitis	13
1.5.1.2. Akut Mastitis	13
1.5.1.3. Subakut Mastitis	14
1.5.1.4. Kronik Mastitis	14
1.5.2. Subklinik Mastitisler	15
1.6. Mastitis Patojenlerinin Sınıflandırılması	15
1.7. Subklinik Mastitislerin Tanısında Kullanılan Belirteçler	17
1.7.1. Somatik Hücre Sayısı	17
1.7.1.1. Somatik Hücre Sayısını Etkileyen Faktörler	21
1.7.1.1.1. Enfeksiyon Geçmişi ve Durumu	22
1.7.1.1.2. Bakterinin Türü	22
1.7.1.1.3. Sağım Sıklığı ve Aralığı	23

1.7.1.1.4. İneğin Yaşı	23
1.7.1.1.5. Stres	24
1.7.1.1.6. Diurnal ve Günler Arası Değişim	24
1.7.1.1.7. Mevsim ve Laktasyon Dönemi	24
1.7.1.2. Somatik Hücre Sayısının Belirlenmesi	26
1.7.2. Toplam Bakteri Sayısı	26
1.8. Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem	26
1.8.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Oluşum Mekanizması	27
1.8.2. Antioksidan Sistem ve Enzimler	29
1.8.2.1. Süperoksit Dismutaz	31
1.8.2.2. Glutasyon Peroksidaz	32
1.8.2.3. Paraoksonaz	32
1.9. Oksidatif Stres ve Mastitis	33
1.10. Erken Laktasyon Dönemi ve Mastitis	36
2. GEREÇ ve YÖNTEM	39
2.1. Gereç	39
2.1.1. Numune Toplanmasında Kullanılan Gereçler	40
2.1.1.1. Eldiven	40
2.1.1.2. Holder ve İğnesi	40
2.1.1.3. Biyolojik Numune Nakil Çantası ve Buz Aküleri	40
2.1.1.4. Kan Serum Tüpleri	41
2.1.1.5. Mikrosantrifüj Tüpleri	41
2.1.1.6. Süt Numunesi Tüpleri	41
2.1.2. Laboratuvar Malzemeleri ve Cihazları	42
2.1.2.1. Somatik Hücre ve Toplam Bakteri Sayım Cihazı	42
2.1.2.2. Santrifüj Cihazları	42
2.1.2.3. Derin Dondurucu	42
2.1.2.4. Otoanalizör	43
2.1.2.5. Otomatik Pipet ve Pipet Uçları	43
2.2. Yöntem	43
2.2.1. Hayvanların Belirlenmesi ve Gruplara Ayrılması	43

2.2.2. Örneklerin Toplanması	44
2.2.2.1. Süt Örneklerinin Toplanması	44
2.2.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması ve Kan Serumlarının Eldesi	45
2.2.3. Analizlerin Yapılması	45
2.2.3.1. Somatik Hücre ve Toplam Bakteri Sayımı	45
2.2.3.2. Süt Serumunun Eldesi	46
2.2.3.3. Biyokimyasal Analizler	46
2.2.3.3.1. Süt Serumunda GSH-Px ve SOD Aktivitesi	46
2.2.3.3.2. Kan Serumunda PON Aktivitesi	47
2.2.3.4. Mikrobiyolojik Analizler	47
2.2.3.5. İstatistiksel Analizler	48
3. BULGULAR	49
3.1. Subklinik Mastitisin Tanısı	56
3.1.1. Somatik Hücre Sayısı	56
3.1.2. Toplam Bakteri Sayısı	56
3.1.3. Mikrobiyolojik Ekimler	57
3.2. Antioksidan Enzimler	58
3.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	58
3.2.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)	58
3.2.3. Paraoksonaz (PON)	58
3.3. Korelasyonlar	59
3.3.1. Grup Bağımsız Korelasyonlar	59
3.3.2. Grup İçi Korelasyonlar	59
4. TARTIŞMA	61
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	73
ÖZET	74
SUMMARY	75
KAYNAKLAR	76
EKLER	88
Ek-1. Etik Kurul Onayı	88
ÖZGEÇMİŞ	89

ÖNSÖZ

Tahminen on bin yıl önce evcilleştirildiği düşünülen sığırlar, geçmişten günümüze insan refahına katkılarda bulunmuştur. Süt inekleri, çiftlik hayvanları içinde protein ve enerjiyi insan gıdasına dönüştürülmesinde en verimli hayvanlardan biridir. Süt ineği endüstrisi, dünya nüfusunun et ve süt ürünleri ihtiyacını karşılamak için önemli bir hayvancılık sektörüdür. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre 2016 yılında dünya genelinde 1 milyar sığır, 7 milyar insanın hayvansal protein ve süt ihtiyacının karşılanmasında kullanılmıştır. Günümüzde inekçilik sektörü de sanayileşmeye başlamış ve büyük sürülerin varlığı ülkemizde de yaygınlaşmaya başlamıştır. Süt ineği endüstrisinin temel amacı karlılığın artırılması ve rekabet piyasasının gereklilikleri gereği bir inekten en fazla süt verimi elde etmek olmuştur. Aynı zamanda artan sera gazları, hayvansal atıkların oluşturduğu çevre kirliliğini engellemek için dünya çapında daha az hayvandan daha çok süt hedeflenmiştir. Bu amaç doğrultusunda ülkelerdeki sürü için hayvan sayıları azaltılırken toplam süt üretimlerinde artış amaçlanmıştır. 1970'lerde 6500 kg olan süt verimleri, milenyuma girilmesiyle 8,8 tonlara kadar yükselmiştir. Süt veriminde artışa bağlı olarak artan enerji ihtiyaçlarının karşılanmasında yaşanan güçlükler sonucu homeostasiz bozulmuş ve başta fertilité ve meme problemleri olmak üzere çeşitli hastalıklara yatkınlık şekillenmiştir.

Mastitisler, süt endüstrisinin ekonomik yönden en önemli hastalığı olarak kabul edilmektedir. Süt verimi ve kalitesinde şekillenen azalmalar ekonomik kayıpların temelini şekillendirmektedir. Ülke ekonomisinde de çok ciddi kayıplara neden olan subklinik mastitislerin patogenezelelerinin daha iyi anlaşılması, korunma ve tedavi şansının artırılmasında katkı sağlayacaktır. Oksidatif stres ve antioksidanlar günümüzde popülerliğini koruyan çalışma konularından biridir. Meme savunma sisteminin de bir parçası olan antioksidanların mastitislerdeki rolünün anlaşılması, tedavi ve korunma stratejilerinin geliştirilmesinde faydalı olacaktır.

Sunulan tez çalışmasının planlanmasından yürütülmesine kadar bu aşamaya getirilmesinde ve doktora eğitimim boyunca bilgilerini ve deneyimini hiçbir zaman esirgemeyen, desteğini her zaman yanımda hissettiğim danışmanım Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN'a, laboratuvar analizlerinin yürütülmesinde emeğini ve desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen Prof. Dr. Tevhide SEL, Doç. Dr. Mert PEKCAN ve Doç. Dr. Bülent BAŞ'a, doktora eğitimim boyunca her zaman yardımlarını gördüğüm ve bana kattıkları mesleki tecrübeler için Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Şükrü KÜPLÜLÜ, Prof. Dr. Rıfat VURAL, Prof. Dr. Mustafa KAYMAZ ve Doç. Dr. Halit KANCA ve diğer görevli öğretim elemanı ve personeline, istatistiksel analizlerin yapımında yardımcı geçen Dr. Araş. Gör. Ufuk KAYA'ya, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Merkez Tanı Laboratuvarı ve değerli yönetim ve personeline, bu süreçte yardım ve desteklerini esirgemeyen Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Hakan KALENDER, Prof. Dr. Ceyhun MACUN, Doç. Dr. İlknur PİR YAĞCI ve Dr. Öğr Üyesi Mert POLAT'a, teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam başta olmak üzere mesleki ve akademik hayatın her aşamasında varlığından güç aldığım Dr. Öğr. Üyesi Kübra KARAKAŞ ALKAN'a, çalışmanın numunelerinin toplanması sırasında yardımıyla her zaman yanımda olan Vet. Hek. Esra KOCABAŞ'a, bu noktaya gelmemde özverileri ve emekleri olan manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve bu hayattaki en büyük dayanağım sevgili eşim Aysel KAMEN ELİFOĞLU'na sonsuz teşekkürleri borç bilirim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece
\$	Dolar
%	Yüzde
£	Sterlin
€	Euro
<	Küçüktür
>	Büyüktür
μl	Mikrolitre
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
Apo A-1	Apolipoprotein A-1
Ca	Kalsiyum
CaCl_2	Kalsiyum Klorür
CRP	C Reaktif Protein
Cu	Bakır
DNA	Deoksiribonükleik Asit
ETS	Elektron Taşıma Sistemi
Fe	Demir
g	Gram
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
IL	İnterlökin
kDa	Kilodalton

kg	Kilogram
KNS	Koagulaz Negatif Stafilokok
kob	Koloni Oluşturan Birim
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MDA	Malondialdehit
ml	Mililitre
mM	Milimol
Mn	Manganez
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NO	Nitrik Oksit
O ₂	Oksijen
O ₂ -	Süperoksit Anyonu
OH	Hidroksil Radikali
pH	Asitlik ya da bazlık derecesini tarif eden ölçü
PMN	Polimorfo Nükleer Nötrofil
PON	Paraoksonaz
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SAA	Serum Amiloid A
SHS	Somatik Hücre Sayısı
SOD	Süperoksit Dismutaz
TNF	Tümör Nekroz Faktör
U	Unite

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Somatik hücre sayısı ve verim kayıpları	19
Şekil 1.2.	Elektron taşıma sisteminde moleküler oksijenin indirgenmesi	28



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1.	Sürü büyüklüğüne göre mastitislere bağlı tahmini yıllık ekonomik kayıplar	6
Çizelge 1.2.	Mastitislere bağlı ekonomik kayıplar	8
Çizelge 1.3.	İlk laktasyon ve sonraki laktasyonlardaki somatik hücre sayısına göre tahmini süt verimi kayıpları	8
Çizelge 1.4.	Somatik hücre sayısındaki değişime göre sütün bileşimindeki değişiklikler	10
Çizelge 1.5.	Sütün bileşiminde subklinik mastitislere bağlı oluşan değişimler	12
Çizelge 1.6.	Sağlıklı ve enfekte sütteki somatik hücrelerin oranları	20
Çizelge 1.7.	Laktasyonun gününe ve enfeksiyonun durumuna göre ortalama somatik hücre sayıları	25
Çizelge 3.1.	Enfekte (grup I) ve sağlıklı (grup II) ineklerin somatik hücre sayısı, toplam bakteri sayısı ve enzim aktiviteleri	50
Çizelge 3.2.	Grup I’de bakteriyolojik kültürde üreme olan ve olmayan sütlerin somatik hücre ve toplam bakteri sayısı ve enzim aktiviteleri	51
Çizelge 3.3.	Grup I’de en çok üreyen bakteriye göre SHS, TBC, SOD, GSH-Px ve PON değerleri	52
Çizelge 3.4.	Grup bağımsız parametrelerin korelasyonları	53
Çizelge 3.5.	Gruplar içinde parametrelerin korelasyonları	54
Çizelge 3.6.	Subklinik mastitisli ineklerin mikrobiyolojik kültür sonuçları	55

1. GİRİŞ

Son yıllarda yapılan araştırmalar ve gelişen teknoloji ışığında süt inekçiliği de değişim göstermektedir (Hamann, 2005). Ülkemizde küçük aile tipi 4-5 hayvanlı ahırların sayısı günden güne azalırken, teknolojik destekli yapılar ve büyük sürülerin sayısı artmaktadır (Baştan, 2013). Son on yıldır ineklerin bireysel süt verimi dünya genelinde artış göstermektedir. Üreticiler artan maliyetler karşısında karlılığı koruyabilmek için her zaman daha yüksek süt verimini hedeflemektedir (Anonim 1, 2020). Dünya genelinde işletme ve sürü sayısı azalırken, mevcut sürülerdeki hayvan sayısında artış şekillenmektedir. Daha az işletme ve daha az hayvandan daha çok süt üretimi hedeflenmektedir. ABD ve Almanya'nın 10 yıllık hayvansal verilerine bakıldığında sürü sayısının %50, inek sayısının %10 azaldığı, bir ineğin yıllık süt veriminin ise her yıl %2 artarak 10 tona yaklaştığı görülmektedir (Hamann, 2005). Yapılan araştırmalar yüksek verimli ineklerin enfeksiyöz hastalıklar açısından risk grubunda olduğunu göstermektedir (Grohn ve ark., 1994). Bu hastalıklar içinde süt ineklerinin en sık görülen ve en maliyetli hastalıklarının başında mastitisler yer alır (Biggs, 2009). Hiç şüphesiz azalan hayvan sayısı ve artan süt verimi ile birlikte mastitislerin, özellikle subklinik mastitislerin önemi daha da artmaktadır (Hamann, 2005). Çiftliğin hemen hemen her yerinde bulunan bakterilerin neredeyse tamamı mastitisle ilişkilidir, bu bağlamda mastitisleri eradike etmek mümkün değildir, kabul edilebilir sınırlarda tutmak daha akılcı bir yaklaşımdır (Biggs, 2009). Mastitis en basit tanımıyla meme dokusunun yangısı anlamına gelmektedir (Bradley, 2002; Hamann, 2005; Blowey ve Edmondson, 2010, Baştan, 2013). Çoğu zaman mastitisler memede şişlik ve sütte fiziksel değişimler ile ilişkilendirilmektedir, ancak subklinik mastitisler memede ve sütte herhangi bir değişim göstermeden seyreder (Philpot ve Nickerson, 2000; Hamann, 2005). Klinik ve subklinik mastitislerin işletmelere ekonomik etkileri olmaktadır. Geçtiğimiz yıllarda mastitislerin süt ineği işletmelerindeki ekonomik etkileri hesaplanırken, subklinik mastitisler gözden kaçtığı için etkileri de gözden kaçmaktaydı. Son yıllarda gelişen teknoloji ve yapılan araştırmalar ışığında subklinik

mastitislerin etkileri daha iyi anlaşılmış, süt verimi ve kalitesinde yaşanan kayıplar ortaya konmasıyla bu mastitislerin önemi artmıştır (Biggs, 2009).

Ekonomik olarak çok ciddi kayıplara yol açan bir hastalık için korunma stratejilerine önem vermek ve bu alana yatırım yapmak akılcı bir yaklaşım olacaktır. Hangi vakaların tedavi edilebilir, hangi vakalarda tedavi başarısının düşük olduğunu belirleyebilmek, gereksiz kayıpların yaşanmasını önleyecektir. Bunlar da ancak hastalığın ve mekanizmasının daha iyi anlaşılmasıyla mümkündür (Biggs, 2009).

1.1. Mastitis Nedir?

Mastitis; *mast-meme* ve *itis-inflamasyon* kelimelerinin birleşmesiyle oluşmuş Yunanca kökenli bir kelimedir (Philpot ve Nickerson, 2000; Biggs, 2009) ve en basit tanımlamasıyla meme bezindeki yangıya mastitis denilmektedir (Bradley, 2002; Sharma ve ark., 2006; Biggs, 2009; Sharma ve ark., 2011; Karyak ve ark., 2011). Mastitislerin etiyolojisinde enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz etkenler yer almaktadır (Bradley, 2002). Memede görülen yangısal yanıt; travmalara, kimyasal irritasyonlara ve bakterilere bağlı şekillenir (Philpot ve Nickerson, 2000). İnflamasyon genellikle meme dokusunda çoğalmaya başlayan mikroorganizmalara karşı şekillenen patofizyolojik yanıtıdır (Biggs, 2009). Yangının şiddetine ve patojen mikroorganizmaya bağlı olarak sütün kimyasal ve/veya fiziksel yapısında birtakım değişiklikler olur ve meme dokusunda farklı derecelerde değişimler gözlenir (Sharma, 2007; Karyak ve ark., 2011; Sharma ve ark., 2011). Şekillenen yangısal yanıt bir korunma mekanizmasıdır ve bakterilerin eliminasyonunda, toksinlerin nötralizasyonunda ve süt sekretorik hücrelerinin onarılmasında yardımcı olarak görevlidir (Philpot ve Nickerson, 2000).

Süt ineklerinde mastitis, patojen mikroorganizmalar tarafından meme bezindeki süt üreten dokuların tahribatına bağlı olarak şekillenen yangı olarak tanımlanmaktadır (Schroeder, 2012; Mushtaq ve ark., 2018). Bakteri, maya ve alg olmak üzere ineklerde

mastitis şekillendirebilen 137'ye yakın mikroorganizma bildirilmiştir (Bradley, 2002; Mushtaq ve ark., 2018). Gram pozitif bakteriler dışında stafilokoklar, streptokoklar, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* gibi gram negatif bakteriler de mastitis şekillendirebilmektedir (Contreras ve Rodriguez, 2011). Ayrıca koagülaz negatif stafilokoklar (KNS) mastitis şekillendiren fırsatçı patojenler olarak bilinmektedir (Mushtaq ve ark., 2018).

1.2. Mastitislerin Prevalansı

Mastitis prevalansı belirli bir zamanda enfekte olan hayvanları ya da meme loblarını ifade etmektedir. İnsidens ise yeni enfeksiyonları tanımlayan bir kavramdır. Subklinik mastitislerin prevalansı ile süt somatik hücre sayısı (SHS) arasında korelasyon vardır, yüksek somatik hücre yüksek prevalans, düşük somatik hücre sayısı düşük prevalans ile seyretmektedir (Philpot ve Nickerson, 2000).

Amerika Birleşik Devletleri'nde Ulusal Mastitis Konseyi'nin 1996 yılında yaptığı araştırmaya göre ülke genelinde ineklerin %33'ünün en az 1,5 memesinin enfekte olduğunu bildirmiştir (Philpot ve Nickerson, 2000). Yapılan başka bir çalışmada mastitislerin ineklerde prevalansının %29-79 arasında seyrettiği bildirilmiştir (Sharma ve ark., 2011).

1.3. Mastitislerin Patofizyolojisi

Meme içi enfeksiyon, mikroorganizma meme başı kanalından girip, süt üreten dokularda çoğalıp toksin salgılamaya başladığında şekillenmiş olur. Bakterilerin, toksinlerinin ve bakteri parçalarının ortamda bulunması lökositlerin kandan süte göçünü başlatır (Jones ve Bailey, 2009; Baştan, 2013). Lenfatik sistemden ve kandan etkilenen meme bölgesine ve süte serum da sızar ve toksinler dilüe edilmeye çalışılır (Philpot ve Nickerson, 2000).

Meme içi enfeksiyonun başlaması için bakterinin meme başı kanalını geçip çoğalmaya başlaması gerekir (Blowey ve Edmondson, 2010). Enfeksiyon şekillendiren mikroorganizmalar meme başını en sık 4 şekilde geçer:

- İki sağım arasında meme başı kanalında çoğalıp ilerleyerek
- Meme başı kanalında bulunan bakteriler, inek yürümeye başladığında oluşan basınçla mekanik olarak yukarı taşınmasıyla
- Makineli sağım sistemlerinde sağım sırasında ters vakum etkisiyle
- Meme içi ilaç uygulamaları sırasında, kanülün hepsinin meme başına yerleştirilmesi ile (Philpot ve Nickerson, 2000).

Bakterinin meme dokusunda tutunabilme kabiliyeti şekillenecek enfeksiyonun şiddetiyle doğrudan ilişkilidir. Özellikle düzenli sağım yapılan bir memede bakterinin tutunma kabiliyeti meme içi enfeksiyonların şekillenmesi için gereklidir. Ya da iki sağım arasında çok hızlı çoğalarak enfeksiyon şekillendirmelidir (Philpot ve Nickerson, 2000).

Mikroorganizma meme başını geçtikten sonra lökositler tarafından elimine edilebilirse enfeksiyon sonlanır, ancak bakteriler elimine edilemez ise kronik enfeksiyon şekillenir ve yüksek somatik hücre ile seyreder (Harmon, 1994; Jones ve Bailey, 2009; Baştan, 2013).

Sütte bulunan makrofajlar ve Polimorfo nükleer nötrofiller (PMN) bakterilerin parçalarını ve toksinlerini tanıyıp, fagositoza başlarlar. Fagositoz işlemi interlykin 8 (IL-8) ve tümör nekrosis faktör (TNF) gibi kemotaksin olarak bilinen mediyatörlerin salınmasına öncülük eder (Blowey ve Edmondson, 2010).

Mikroorganizmalar ilk olarak meme başı sisternasına tutunurlar. Daha sonra duktuslar ile sekretorik bölümlere ve alveollere çıkarlar. Bakteriler burada ürettikleri toksinler ile süt sekretorik hücreleri öldürmeye başlar (Philpot ve Nickerson, 2000;

Jones ve Bailey, 2009). Ölen hücrelere bağlı salgılanan mediyatörler aracılığı ile bakterilerin eliminasyonu için bölgeye kandan lökosit göçü başlar ve yangısal yanıt şekillenir. Kemotaksinlere yanıt olarak memedeki ve meme başı duvarındaki kapillar damarlardan meme kanalına ve sisternasına yoğun PMN göçü başlar (Blowey ve Edmondson, 2010). Aynı zamanda toksinleri dilüe etmek ve doku hasarını onarmak için kandan serum ve pıhtılaşma faktörleri de bölgeye geçer (Philpot ve Nickerson, 2000; Baştan, 2013).

Meme ve meme başı duvarındaki damarlar dilate olur, buna bağlı olarak etkilenen memedeki kan akımı ve PMN göçü hızlanır (Harmon, 1994; Jones ve Bailey, 2009). Selektinlerin kapillar duvarlarında belirmesiyle PMN'lerin damar dışına çıkışı hızlanır. Aynı zamanda kapillar ve meme duvarındaki endotelyel hücre birleşmelerinde gevşemeler ile PMN göçü kolaylaştırılır. Aynı zamanda açılan endotelyel açıklıktan kan serumu da bölgeye sızmaktadır (Blowey ve Edmondson, 2010).

Lökositler etkilenen bölgeye göç ederken alveoller, duktuslar ve sisterna etrafında birikmeye başlarlar (Harmom, 1994). Burada süt sekretorik hücrelere yapışırlar. Migrasyon sırasında salgıladıkları enzimler bazı süt sekretor hücreleri öldürebilir, ya da daha az süt salgılamalarına neden olur. Mastitisler sırasında süt veriminin düşmesinin bir sebebi de budur (Philpot ve Nickerson, 2000).

1.4.Mastitislerin Etkileri

1.4.1. Mastitislerin Ekonomik Etkileri ve Önemi

Mastitisler geçmişten günümüze süt ineği işletmelerinin ekonomik açıdan en önemli hastalıklarının başında gelmektedir (Kossaibati ve Esslemeont, 1997; Bradley, 2002). Süt ineklerinin tek başına en çok ekonomik kayıp şekillendiren hastalığıdır,

infertiliteye bağı kayıpların neredeyse iki katı kadar kayba yol açmaktadır (Philpot ve Nickerson, 2000). Üretimi etkileyen diğr hastalıkların içinde işletmedeki direkt ekonomik kayıpların %38'ini şekillendirmektedir (Kossaibati ve Esslemont, 1997; Bradley, 2002). Mastitislerin işletmelerde ekonomik kayıplar üstüne direkt ve indirekt etkileri bulunmaktadır (Blowey ve Edmondson, 2010). Direkt etkileri klinik vakalar, atık sütler, sürüden çıkarmalar ve ilaç masrafları şeklindedir (Philpot ve Nickerson, 2000; Blowey ve Edmondson, 2010). Subklinik mastitislere bağı şekillenen görülmeyen ve hesaplanamayan kayıpların çok daha fazla olduğı düşünölmektedir (Philpot ve Nickerson, 2000). İndirekt etkilerin başında artan somatik hücre sayısına bağı alınamayan teşvikler, laktasyonun geri kalanında azalan süt verimi ve artan sürüden çıkarma oranlarına bağı kaybolan genetik potansiyel oluşturmaktadır (Hogeveen ve Osteras, 2005; Blowey ve Edmondson, 2010). Artan sürü büyüklüğüne göre mastitise bağı tahmini ekonomik kayıplar Çizelge 1.1'de gösterilmiştir (Philpot ve Nickerson, 2000).

Çizelge 1.1. Sürü büyüklüğüne göre mastitislere bağı tahmini yıllık ekonomik kayıplar

Sürü büyüklüğü	Toplam kayıp (\$)
50	9250
100	37000
400	74000
1600	296000

Subklinik mastitisler uzun dönem etkilerinden dolayı ekonomik açıdan en önemli mastitislerdir. İşletme bazında subklinik mastitisler hayvan başına ortalama \$200 yıllık kayıp şekillendirmektedir (Karyak ve ark., 2011). Subklinik mastitislere bağı kayıplar özellikle azalan süt verimi ve süt kalitesine bağı olarak şekillenir (Philpot ve Nickerson, 2000). Toplam kayıp düşünöldüğünde süt ineğı işletmelerinin en büyük ekonomik kaybını subklinik mastitisler şekillendirmektedir. Genellikle üreticiler klinik mastitis vakalarına yoğunlaşıp, kaybı bu hayvanlardan yaşadıklarını

düşünseler de her klinik mastitisli hayvan için neredeyse 15-40 adet subklinik mastitisli hayvan bulunmaktadır ve bu hayvanlar somatik hücre sayısının yükselmesinde son derece etkili olmaktadır (Karyak ve ark., 2011).

Mastitis, azalan süt verimi ve kalitesi, artan sürüden çıkarmalar, yükselen tedavi masrafları ve ihtiyaç duyulan iş gücünün artması gibi çeşitli şekillerde ekonomik kayıplar şekillendirmektedir (Baştan, 2013; Mushtaq ve ark., 2018). Yapılan araştırmalara göre mastitislerin İngiltere’de ortalama 200 milyon £ yıllık kayba yol açtığı düşünülmektedir (Biggs, 2009). Amerika Birleşik Devletleri’nde, İngiltere’de ve dünya çapında mastitislere bağlı yıllık ekonomik kayıpların sırasıyla 2 milyar dolar, 371 milyon dolar ve 35 milyar dolar olduğu bildirilmiştir (Mushtaq ve ark., 2018). ABD’de gerçekleştirilen bir araştırmaya göre yalnızca süt üretimindeki kayıplara bağlı ekonomik kaybın yıllık 1 milyar \$, diğer giderler ve masraflar hesaplandığında 2 milyar \$’a yakın bir kaybın olduğu düşünülmektedir (Philpot ve Nickerson, 2000).

Klinik mastitislerde kesin ekonomik kaybı hesaplamak oldukça zordur. Tedavi giderlerinden başlayıp, azalan verim, imha edilen sütler, sürüden çıkarmalar ve ölüm de dahil edildiğinde kesin bir rakam vermek oldukça zordur. Subklinik mastitislerde kayıpları hesaplamak daha da zordur. Azalan süt verimi ve kalitesiyle birlikte, artan tedavi masrafları ve sürüden çıkarma oranlarının yükselmesi ekonomik kayıpları arttırmaktadır (Bradley, 2002). Aynı zamanda klinik ve subklinik mastitis görülen hayvanlarda fertilitenin olumsuz etkilenişi de ekonomik açıdan kayıplara neden olmaktadır (Schrack ve ark., 2001). Mastitislere bağlı şekillenen tahmini hayvan başına ekonomik kayıplar Çizelge 1.2’de gösterilmektedir (Philpot ve Nickerson, 2000).

Çizelge 1.2. Mastitislere bağlı ekonomik kayıplar

	Hayvan başına kayıp (\$)	Toplam kayıpdaki yeri (%)
Azalan süt üretimi	121	66
İmha edilen sütler	10,45	5,7
Sürüden çıkarmalara bağlı giderler	41,73	22,6
Ekstra iş gücü	1,14	0,1
İlaçlar	7,36	4,1
Veteriner hekim masrafları	2,72	1,5
Toplam	184,40	100

1.4.2. Süt Verimi ve Kalitesine Etkileri

Mastitisler süt verimi ve kalitesini direkt ve indirekt şekilde olumsuz etkileyen, süt ineği işletmelerinin en çok ekonomik kayıp yaşatan hastalığıdır (Hogeveen ve Osteras, 2005). Tank sütü somatik hücre sayısındaki yükselmeye bağlı şekillenen etkiler subklinik mastitislere bağlı kayıpların temelini oluşturmaktadır. Özellikle ülkelerde farklı farklı uygulanan ceza ve teşvik uygulamaları SHS'ye bağlı direkt kayıpları oluşturmaktadır (Biggs, 2009). Aynı zamanda sadece mastitis sırasında süt veriminde yaşanan kayıp dışında, tedavi sonrası da normalden daha düşük seyreden süt verimi gözden kaçır ve gizli kayıpları oluşturmaktadır (Hogeveen ve Osteras, 2005). Somatik hücre sayısı 200×10^3 eşik değerinden sonra her 100×10^3 'lük artış için süt veriminde %2,5'lik kayıp şekillendiği bildirilmiştir (Biggs, 2009). Artan somatik hücre sayısına göre mastitislere bağlı şekillenen ilk laktasyon ve diğer laktasyonlardaki karşılaştırmalı tahmini süt kayıpları Çizelge 1.3'de gösterilmiştir (Philpot ve Nickerson, 2000).

Çizelge 1.3. İlk laktasyon ve sonraki laktasyonlardaki somatik hücre sayısına göre tahmini süt verimi kayıpları

SOMATİK HÜCRE SAYISI / ML	SÜT VERİMİNDEKİ KAYIP (KG)		TOPLAM SÜT VERİMİNDEKİ KAYIP (KG)	
	İlk Laktasyon	Diğer Laktasyonlar	İlk Laktasyon	Diğer Laktasyonlar
50000	0	0	0	0
100000	90	180	90	180
200000	90	180	180	360
400000	90	180	270	540
800000	90	180	360	720

Mastitisler süt kalitesini doğrudan etkilemektedir. Mastitis olgularında yangıya, bakterinin patojenitesine ve etkilenen meme dokusunun byklğine göre süt kompozisyonunda ve meme dokusunda farklı derecelerde değişimler şekillenir. Memede kandan süte olan geçirgenlik artar. Buna bağlı olarak sütte protein ve enzim miktarlarında yükselme şekillenir (Baştan, 2013). Fagositik hücrelerin meme içine invazyonu artar ve şekillenen yangının şiddetine göre çeşitli derecelerde meme bezlerinin süt sentezi azalır. Etkilenen meme loblarında yangı reaksiyonuyla ilişkili maddeler üretilmeye başlar (Vural ve ark., 2016).

Oksidatif durum ve mastitis arasındaki yakın ilişkiden dolayı, oksidasyon işlemi memenin subklinik yangısının bir göstergesidir. Yangının şiddetine bağlı olarak süt veriminde düşme ve sütün kompozisyonunda değişiklikler şekillenmektedir (Jozwik ve ark., 2012). Mastitisli ineklerin sütünde yağ, kazein proteinleri ve kalsiyum içeriği düşerken, peynir altı proteinleri, sodyum ve klor seviyelerinde artış şekillenmektedir. Bununla birlikte lipaz, proteaz, oksidaz ve plazminojen enzim aktivitelerindeki artışa bağlı olarak süt ürünlerinin kalitesi düşmektedir (Sawa ve ark., 2008; Strzalkowska ve ark., 2010; Jozwik ve ark., 2012). Mastitisli sütlerden peynir yapıldığında kalitenin daha düşük olduğu ve peynir yapmak için daha fazla süte ihtiyaç olduğu bilinmektedir (Philpot ve Nickerson, 2000).

Enfekte ineklerin sütlerinde bakteri enterotoksinleri de bulunabilir. Sütte şekillenen oksidasyon işlemi sütün besin değer içeriğini olumsuz etkilediği gibi, sütün organoleptik değerlerini de olumsuz etkilemektedir (Jozwik ve ark., 2012). Genel olarak sütün somatik hücre sayısı ve toplam bakteri sayısının artması bir yangının göstergesidir (Biggs, 2009) ve bu iki değer sütün kalitesinin belirlenmesinde de kullanılmaktadır (Sawa ve ark., 2008; Bagnicka ve ark., 2011; Jozwik ve ark., 2012). Farklı somatik hücre sayısına sahip sütlerin bileşimindeki değişimler izelge 1.4’de gösterilmiştir (Sharma ve ark., 2011).

Yangı sırasında somatik hücre sayısının artışı sütteki nötrofil sayısının arttığı bir göstergesidir. Buna bağlı olarak oksidasyon reaksiyonları ve eritrosit lipid hidroperoksidasyonu artar ve süt kalitesinde düşüş şekillenir (Suriyasathaporn ve ark., 2006; Karyak ve ark., 2011).

Çizelge 1.4. Somatik hücre sayısındaki değişime göre sütün bileşimindeki değişiklikler

		Somatik Hücre Sayısı ($\times 10^3$ hücre/ml)			
Sütün Bileşimi		<100	<250	500-1000	>1000
Azalma (g/100 ml)					
	Laktoz	4,90	4,74	4,60	4,21
	Kazein	2,81	2,79	2,65	2,25
	Yağ	3,74	3,69	3,51	3,13
Yükselme (g/100 ml)					
	Peynir altı protein	0,81	0,82	1,10	1,31
	Serum albümin	0,02	0,15	0,23	0,35
	İmmunoglobulin	0,12	0,14	0,26	0,51
	Klor	0,091	0,096	0,121	0,147
	Sodyum	0,057	0,062	0,091	0,105
	Potasyum	0,173	0,180	0,135	0,157
	pH	6,6	6,6	6,8	6,9

Yangının şiddetine bağlı olarak SHS’de artışla birlikte sütün kompozisyonunda da değişimler gözlenir (Philpot ve Nickerson, 1991). Yüksek somatik hücreye sahip sütlerde şeker, protein ve yağ gibi istenilen bileşenlerin miktarı düşerken, sütü parçalayan istenmeyen enzimlerin miktarı artmaktadır (Philpot ve Nickerson, 2000). Özellikle süt yağı ve laktoz içeriğinde düşüşler görülür. Süt laktoz seviyesinin subklinik mastitisli ineklerde %5-20 oranında düştüğü bildirilmiştir (Philpot ve Nickerson 1991). Mastitisli ineklerin sütünde yağ oranının etkilenmediği yönünde farklı çalışmalar olmasına rağmen, süt üretimindeki düşmeye bağlı olarak süt yağ yüzdesinde düşüşler şekillendiği bildirilmiştir (Vural ve ark., 2016).

Subklinik mastitisli ineklerin sütünde total protein seviyesindeki düşüşler az miktarda olmakla birlikte süt proteinlerinin kendi içindeki dağılımları farklı şekillerde etkilenmektedir. Süt SHS değeri yükseldikçe en önemli süt proteini olan kazein

seviyesinde %6-18 oranında bir düşüş gözlemlenirken, kan meme bariyerindeki bozulmalara bağlı olarak normalde sütte düşük miktarlarda seyreden transferrin, immunoglobülin ve serum albümin seviyelerinde artış şekillenir. Bu değişimlere bağlı olarak total protein seviyesindeki azalma oldukça düşük olmasına rağmen kazein oranındaki düşüş süt kalitesini doğrudan etkilemektedir (Vural ve ark., 2016).

Sonuç olarak yüksek somatik hücre sayısına sahip sütler düşük kaliteli sütlerdir. Kazein içerikleri daha düşüktür ve peynir verimleri düşerken; plazmin ve lipaz seviyeleri yüksektir (Blowey ve Edmondson, 2010). Kan süt bariyerinin bozulmasıyla sızan lipaz ve plazmin süt kalitesini düşürmektedir (Biggs, 2009). Özellikle lipaz yoğurt kültürlerini inhibe eder ve kötü aroma verir (Blowey ve Edmondson, 2010). Aynı zamanda düşük kaliteli süttten yapılan ürünlerde de olumsuz etkiler görülmektedir. Son ürünlerin raf ömrü kısalmış, istenmeyen tat ve aromalar şekillenir. Ayrıca süt kalitesinin düşüklüğüne bağlı alınamayan teşvikler ve ceza uygulamaları da ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Hogeveen ve Osteras, 2005). Süt kalitesinde meydana gelen değişimler klinik mastitislerde daha belirgin olmasına rağmen, süt kalitesindeki bozulmaya bağlı şekillenen ekonomik kayıplar subklinik mastitislerde çok daha yüksektir. Protein seviyesi subklinik enfeksiyonlarda değişmemiş bile olsa, protein içeriği kazeinden albümine dönmektedir (Biggs, 2009). Subklinik mastitislere bağlı süttün bileşiminde istenen ve istenmeyen parametrelerdeki değişimler Çizelge 1.5’de gösterilmektedir (Blowey ve Edmondson, 2010).

Çizelge 1.5: Sütün bileşiminde subklinik mastitislere bağlı oluşan değişimler

	İstenen	Bileşen	Subklinik Mastitisin Etkisi
		Toplam protein	Azalır
		Kazein	%6-20 azalır
		Laktoz	%5-20 azalır
		SNF	%8'e kadar azalır
		Tereyağı	%4-12 azalır
		Kalsiyum	Azalır
		Fosfor	Azalır
		Potasyum	Azalır
		Kararlılık ve raf ömrü	Azalır
		Yoğurt başlatıcı kültürler	İnhibe olur
		Plazmin	Artar
	İstenmeyen	Lipaz	Artar
		İmmunglobulin	Artar
		Sodyum	Artar (acı tat verir)

1.5.Mastitislerin Sınıflandırılması

Mastitisler meme dokusunda ve inekte yaptığı değişimlere göre (klinik ve subklinik), mastitis oluşturan patojene göre (majör ve minör) ve enfeksiyonun kaynağına göre (bulaşıcı ve çevresel) sınıflandırılmaktadır (Biggs, 2009).

Meme içi enfeksiyon sırasında mikroorganizmanın türüne ve yangının şiddetine göre süt kanalları, sisterna ve alveollerde değişik derecelerde yıkımlanmalar şekillenmektedir. Enfeksiyonun semptomları ineğin bağışıklık sistemine, enfeksiyon şekillendiren mikroorganizmanın türüne ve patojenitesine göre farklılık göstermektedir. Bu anlamda mastitislerin sınıflandırılması görülen semptomlara göre klinik ve subklinik olarak iki ana grup şeklinde yapılmaktadır (Baştan, 2013). Kaba hatlarıyla sütte ve memede değişimlerin gözle görüldüğü olgular klinik mastitisler ve değişimlerin gözle görülmediği, tanının testere dayalı olduğu olgular subklinik mastitisler olarak sınıflandırılır (Biggs, 2009).

1.5.1. Klinik Mastitisler

Sütte ve meme dokusunda şişlik, ısı artışı, kızarıklık ve ağrı gibi yangı belirtilerinin şekillendiği, sistemik belirtilerin de görülebildiği meme içi enfeksiyonlar klinik mastitisler olarak adlandırılmaktadır. Klinik mastitisler ortaya çıkan klinik değişikliklere göre perakut, akut, subakut ve kronik olarak dörde ayrılır (Baştan, 2013).

1.5.1.1. Perakut Mastitis

Nadiren görülmektedir ve meme dokusunda yangı semptomlarıyla birlikte genel durum bozukluğu görülür (Philpot ve Nickerson, 2000; Vural ve ark., 2016). Meme dokusunda şekillenen ani şişlikler ve şiddetli yangı belirtileri ile karakterizedir (Baştan, 2013). Hasta hayvanlarda depresyon, solunum ve nabız sayısında artış ve inkoordinasyon, dehidrasyon eşlik eder (Vural ve ark., 2016). Sistemik enfeksiyon belirtileri septisemi veya toksemiye bağlı şekillenir ve sütte değişim meydana gelmeden önce görülmeye başlar. Müdahale edilmeyen olgularda şiddetli dehidrasyon ve takibinde ölümler şekillenebilir (Biggs, 2009).

1.5.1.2. Akut Mastitis

Ortadan şiddetliye kadar değişen yangısal yanıtın olduğu, aniden şekillenen meme içi enfeksiyonlardır (Philpot ve Nickerson, 2000; Biggs, 2009). Meme dokusunda 24 saat içinde şekillenen yangılardır (Vural ve ark., 2016). Sistemik belirtiler perakut mastitise benzerdir ama daha hafif seyreder (Biggs, 2009). Memede şişkinlik, kızarıklık, süt veriminde azalma ve sütün fiziksel özelliklerinde değişiklikler ile genel durum bozukluğu görülür (Philpot ve Nickerson, 2000; Vural ve ark., 2016). Sütün fiziksel yapısında bozulmalar mevcuttur, süt seroz görünümde ve içerisinde fibrin veya pıhtılar bulunmaktadır (Baştan, 2013).

1.5.1.3.Subakut Mastitis

Sistemik enfeksiyon belirtilerinin görülmediği, genelde süte küçük pulcuklar şeklinde yapısal bozulmaların görüldüğü enfeksiyonlardır (Philpot ve Nickerson, 2000; Biggs, 2009). Memede gözle görülür yangı belirtileri mevcut değildir (Biggs, 2009).

1.5.1.4.Kronik Mastitis

Uzun süreli ve sık sık tekrarlayan olgular kronik hastalıklar olarak adlandırılırlar. Kronik mastitisler subklinik formda aylar hatta yıllarca süren, dönem dönem klinik alevlenmelerin olduğu olgulardır (Philpot ve Nickerson, 2000; Biggs, 2009). Bir laktasyondan diğer laktasyon dönemine kadar yangı belirtileri devam edebilmektedir (Baştan, 2013). Tekrarlayan klinik alevlenmeler meme dokusunda geri dönüşsüz yıkımlanmalara neden olabilir (Biggs, 2009). Memede ağrı, kızarıklık ve ısı artışı gibi yangı semptomları görülmeden sertlik, hipertrofi ve/veya atrofi ile seyreder (Vural ve ark., 2016) Bu tip mastitislerde paronşim dokudaki yıkımlanmalar sonucu yerini bağ doku almaktadır (Baştan, 2013). Etkilenen hayvanın genel durumunda değişiklik görülmeden meme dokusunda yıkımlanmalar, büyüklüğünde değişimler ve süt verimindeki kayıplar ile seyreder (Vural ve ark., 2016). Kronik mastitis görülen hayvanların etkilenen meme lobları sert ve atrofiktir. Belli aralıklar ile subakut ya da akut mastitislere dönebilmektedir (Baştan, 2013). Sütün fiziksel yapısında her zaman değişim görülmeyebilir. Genellikle akut ve subklinik mastitislerin uzun süre tedavi edilmemesi sonucu şekillenirler (Vural ve ark., 2016).

1.5.2. Subklinik Mastitisler

En yaygın olarak seyreden mastitis formudur ancak memede ve sütte yangısal değişimler görülmediği için gözlemlerle belirlemek mümkün değildir (Philpot ve Nickerson, 2000; Baştan, 2013). Klinik mastitislere göre 15-40 kat daha yaygındır (Philpot ve Nickerson, 2000; Biggs, 2009; Baştan, 2013). Sütte ve memede gözle görülür herhangi bir yangısal değişim yoktur. Süt veriminde ve kalitesinde azalmayla seyreder (Biggs, 2009; Vural ve ark., 2016).

Sürülerin gizli hastalığıdır, meme dokusunu veya ineğin hayatını tehdit eden bir hastalık olmadığı ve klinik semptomlar şekillenmediği için azalan süt verimi ve sürü içi yayılmalar ihmal edilmektedir. Mastitis türleri içerisinde en büyük ekonomik kaybı subklinik mastitisler şekillendirir (Philpot ve Nickerson, 2000).

1.6. Mastitis Patojenlerinin Sınıflandırılması

Diğer hastalıklardan farklı olarak 140 farklı mikroorganizma tarafından mastitis şekillenebilir (Philpot ve Nickerson 2000). Genel olarak mastitis patojenleri bulaşıcı (kontagiyöz) ve çevresel (environmental) olarak sınıflandırılmaktadır (Bradley, 2002; Sharma ve ark., 2011). Bulaşıcı ve çevresel mastitis patojenleri arasında kesin bir ayrım yoktur, bazı etkenler farklı dönemlerde farklı karakterlerde mastitisler şekillendirebilir (Biggs, 2009).

İnekten ineğe bulaşan mikroorganizmalar bulaşıcı mastitis patojenleri olarak bilinirler. Bu mikroorganizmalar ineğin memesinin içinde, üstünde ya da memede şekillenen lezyonlarda yaşarlar (Biggs, 2009; Baştan, 2013), meme dokusu dışında uzun süre canlılığını koruyamayan, sadece hedef dokuda üremeye ve canlılığını korumaya adapte olmuş patojenlerdir (Bradley, 2002; Biggs, 2009). Bu mikroorganizmalar çoğunlukla subklinik ve kronik enfeksiyonlar şekillendirirler (Biggs, 2009) ve etkilenen meme lobunda somatik hücre sayısında (lökositler,

özellikle nötrofil) artışlar gözlenir (Bradley, 2002). Bulaşmalar sağım sırasında inekten ineğe ve/veya bir meme lobundan diğerine şeklinde olmaktadır (Bradley, 2002; Biggs, 2009). Başlıca kontagiyöz mastitis patojenleri *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* ve *Mycoplasma spp*’dir (Baştan, 2013).

Enfeksiyonun çevreden ineğe bulaştığı meme içi enfeksiyonlar çevresel mastitisler olarak adlandırılır (Biggs, 2009). Çevresel mastitis patojenler meme dokusunda yaşamaya adapte değillerdir (Bradley, 2002), Bu mikroorganizmalar ineğin çevresindeki ortamda, dışkıda, altlıkta, toprakta, yataklıkta ve suda bulunabilirler (Biggs, 2009). Tipik olarak hızlı bir şekilde enfeksiyon şekillendirip, çoğalıp, konakçıda yangısal yanıt başlatıp hızlı bir şekilde elimine edilirler (Bradley, 2002). Bulaşıcı mastitis etkenlerinin sayılarının azaldığı dönemlerde etkinlikleri artar. Bulaşmalar sağım sırasında kontaminasyonlar ile veya iki sağım arasında şekillenebilir. Koliform grubu bakteriler ve *Streptococcus uberis* bu grupta yer alır. Aynı zamanda ineğin çevresinde bulunan ve mastitis şekillendirebilen diğer mikroorganizmalar da bu sınıflandırmaya dahildir (Biggs, 2009).

Major mastitis patojenleri çoğunlukla klinik mastitis şekillendiren mikroorganizmalardır. *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysagalactiae*, koliform grubu bakteriler (*klebsiella*, *E. coli*, *Enterobakter spp* ve *Citrobakter spp.*) ve *Pseudomonas spp.* ile son yıllarda *Mycoplasma spp.*’de majör patojenler arasında yer almaktadır (Bradley, 2002; Biggs, 2009; Baştan, 2013).

Major bulaşıcı mastitis patojenleri *S. aureus*, *Str. dysagalactiae* ve *Str. agalactiae* iken majör çevresel patojenler arasında *Cory. bovis*, *KNS*, *E. coli* ve *Str. uberis* bulunmaktadır (Sharma ve ark., 2011). Ancak bu patojenlerin sınıflandırılmasında kesin çizgi yoktur, bulaşıcı bir mikroorganizma çevresel bir mikroorganizmaya benzer enfeksiyonlar şekillendirebilir (Bradley, 2002). Genellikle bulaşıcı mastitis patojenlerinin şekillendirdiği enfeksiyonlardaki somatik hücre

sayısındaki artış, çevresel mastitis patojenlerinin şekillendirdiği enfeksiyonlardakinden daha yüksek seyretmektedir (Sharma ve ark., 2011).

Minor mastitis etkenleri memenin kommensal bakterileri olarak görülür ve memenin doğal florasında bulunan bakterilerdir. Farklı etkileşimler ve mekanizmalar aracılığı ile yükselen somatik hücre sayısı ile ilişkileri bulunmaktadır. Koagülaz negatif stafilokoklar ve korineformlar bu grupta sınıflandırılmaktadır. Bu grupta yer alan bazı bakterilerin salgıladıkları enzimler ve yarışmacı inhibisyonları ile majör patojenlerin meme içi enfeksiyon şekillendirmelerini engelledikleri düşünülmektedir (Biggs, 2009; Blowey ve Edmondson, 2010).

1.7.Subklinik Mastitislerin Tanısında Kullanılan Belirteçler

1.7.1.Somatik Hücre Sayısı

Somatik - *somatikos*, vücutla ilgili olan, vücuttan türemiş anlamına gelen bir terimdir (Philpot ve Nickerson, 2000; Biggs, 2009; Baştan, 2013). Çekirdeği olan vücut hücrelerine somatik hücreler denmektedir. Süt somatik hücre sayısında etkili olan asıl hücreler lökositlerdir. Sağlıklı bir sütün somatik hücrelerinin %75-85'i lökositlerden, geri kalanı ise epitel hücrelerden oluşmaktadır (Baştan, 2013).

Somatik hücre sayısı (SHS) en basit tanımıyla sütte bulunan hücre sayısıdır (Blowey ve Edmondson, 2010) ve 1 mililitre süt içerisindeki somatik hücre sayısını ifade etmektedir (Philpot ve Nickerson, 2000). Günümüzde süt endüstrisinde SHS; sürü yönetiminde, meme sağlığının ve süt kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılan en önemli parametrelerden biridir (Biggs, 2009; Baştan, 2013).

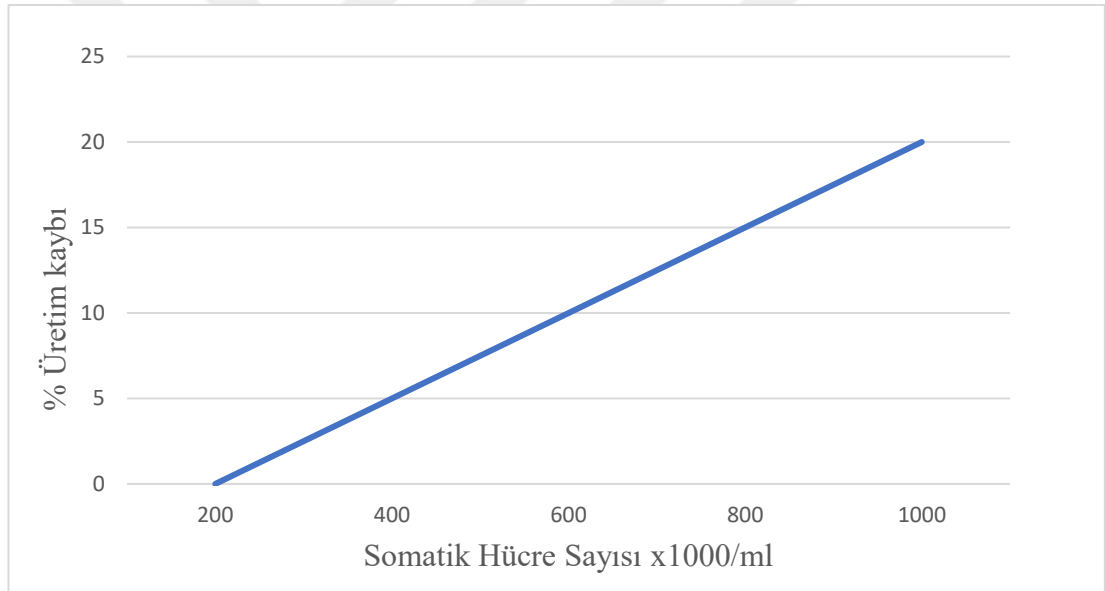
Sağlıklı bir inek sütündeki somatik hücrelerin %65-85'ini makrofajlar, %10-25'ini lenfositler, %10'a kadar nötrofiller ve %5'e kadar da epitel hücreleri oluşturmaktadır. Enfekte bir sütte ise hücrelerin %90'ını nötrofiller oluşturmaktadır (Philpot ve Nickersoni 2000; Biggs, 2009).

Patojen mikroorganizma tarafından meme dokusunda enfeksiyon şekillendikten sonra polimorfonükleer hücreler (PMN) kandan meme dokusuna geçmeye başlar ve buna bağlı olarak somatik hücre sayısında (SHS) artış şekillenir. Dokudaki nötrofil, makrofaj, epitel döküntüleri, eosinofil ve lenfositlerin miktarı yangının şiddetinin bir göstergesi olarak kabul edilir (Knnappen ve ark., 1999; Jozwik ve ark., 2012). Ayrıca enfekte meme dokusunda TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 gibi sitokinlerin ve nitrik oksit (NO) seviyesinde artış görülür (Notebaerta ve ark., 2008; Jozwik ve ark., 2012). Sonuç olarak mastitis süt verimini düşürdüğü gibi, sütün kimyasal kompozisyonunu ve kalitesini de olumsuz etkilemektedir. Çoğu ülkede SHS süt kalitesinin ve hijyeninin belirteci olarak kullanılmaktadır (Jozwik ve ark., 2012).

Avrupa Birliği ülkelerinde 29 Nisan 2004 tarihli EC No 853/2004 sayılı düzenleme ile çiğ inek sütünün insan tüketiminde kullanılabilmesi için 4×10^5 hücre/ml'nin altında olmalıdır (EU Official Journal, 2004). Türkiye'de de bu sınır kullanılmaktadır (Resmi Gazete, 2008). Amerika Birleşik Devletleri'nde bu sınır $7,5 \times 10^5$, Kanada'da ise 5×10^5 şeklindedir (Jozwik ve ark., 2012).

Mastitisli bir meme lobundan alınan süt örneğinde SHS'nın büyük çoğunluğunu lökositler oluşturmaktadır (Philpot ve Nickerson, 2000). Meme bezindeki enfeksiyon sonucunda kandan süte nötrofil lökositleri geçmektedir ve süt SHS artmaktadır. Mastitislerin şekillendiği durumlarda somatik hücre sayısının artmasındaki bir diğer etken de vücudun enfeksiyona bağlı olarak zarar gören süt sekresyonu yapan epitel hücreleri hızlı bir şekilde onarması ve süte epitel döküntülerinin karışmasıdır (Baştan, 2013).

Süt verimi ile somatik hücre sayısı arasındaki ilişki subklinik mastitisler ile açıklanmaktadır (Baştan, 2013). Eskiden 400×10^3 hücre/ml'den yüksek hayvanlarda süt kaybı yaşandığı düşünülmekteydi. Günümüzde yapılan çalışmalar asıl kayıpların 200×10^3 hücre/ml'den sonra başladığını göstermektedir (Philpot ve Nickerson, 2000). Yapılan araştırmalara göre süt SHS 50×10^3 den yüksek olduğunda süt veriminde kayıplar şekillenmekte, 100×10^3 olduğunda ise ortalama günlük 0,6 kg süt kayıpları şekillenmektedir (Baştan, 2013). Somatik hücre sayısı 200×10^3 'in üzerine çıktığında, her 100×10^3 lük artış için süt veriminde %2,5 kayıp şekillenmektedir (Bradley, 2002). Artan somatik hücre sayısına göre şekillenen süt verimi kayıpları Şekil 1.1'de gösterilmektedir (Blowey ve Edmondson, 2010).



Şekil 1.1. Somatik hücre sayısı ve verim kayıpları

Sütteki somatik hücre sayısı meme sağlığının izlenmesinde ve korunmasında oldukça önemlidir (Baştan, 2013). Sağlıklı bir ineğin sütünün somatik hücrelerinin büyük çoğunluğunu makrofajlar oluşturmaktadır. Şemokinlerin aktivasyonu ve salınımı ile makrofajlar nötrofil göçünü başlatır ve somatik hücre sayısı yükselir (Sordillo ve ark., 1997; Bradley, 2002). Sonuç olarak somatik hücreler, savunma sisteminin bir parçası olduğu için, süt somatik hücre sayısındaki yükselme yangısal

yanıtın bir göstergesi niteliğindedir ve meme sağlığında kullanılan bir belirteçtir (Baştan, 2013).

Süt somatik hücreleri çoğunlukla süt üreten epitel hücrelerin döküntüleri ve lökositler oluşmaktadır. Somatik hücrelerin %75'ini lökositler (nötrofiller, makrofajlar, lenfositler ve eritrositler), %25'ini ise epitel hücreler oluşturmaktadır. Epitel hücreler belli sürelerde dökülmekte ve yenilenmektedir, ancak enfeksiyon durumunda bu döküntülerin sayısı artmaktadır. Beyaz kan hücreleri memede enfeksiyonla savaşan ve hasar gören dokunun onarılmasında yardımcı rolü bulunan hücrelerdir. Mastitis sırasında somatik hücrelerdeki asıl artış nötrofillerde şekillenir (Sharma ve ark., 2011). Sağlıklı ve enfekte sütteki hücrelerin dağılımı çizelge 1.6'da gösterilmiştir (Ruegg, 2001).

Çizelge 1.6. Sağlıklı ve enfekte sütteki somatik hücrelerin oranları

	Normal Süt	Subklinik Mastitisli Süt
Nötrofil	%1-11	>%90
Makrofaj	%66-88	%2-10
Lenfosit	%10-27	%2-10
Epitel Hücre	%0-7	%0-7

Sütte bulunan somatik hücreler patojen mikroorganizmanın memeye girmesiyle birlikte enfeksiyonla savaşmaya başlar. Bu hücreler aslında meme sağlığının korunmasında son derece önemlidir. Enfekte olmayan meme lobunda da bir miktar bulunan bu hücreler meme sağlığının korunmasında etkilidir. (Sharma ve ark., 2011). Enfeksiyon devam ettiği sürece somatik hücre sayısı da değişim halindedir (Philpot ve Nickerson, 2000). Enfeksiyonlara yanıt olarak somatik hücrelerde sayı ve oran olarak değişim görülmektedir (Biggs, 2009).

Polimorf nükleer lökositler memenin hücresel savunma sisteminin ikinci basamağını oluşturmaktadır. PMN'ler bakteriyi fagosite ederek öldürmektedir. Ancak bu hücreler aynı zamanda yağ globüllerini ve kazeini de parçalamaktadırlar. Bunun sonucunda sütte putrefekasyon şekillenir ve fiziksel yapısı bozulur. Yangısal yanıt bakteri meme başı kanalından girip sütte çoğalmaya başladığı gibi şekillenir.

Bakterilerin toksinleri, hücre duvarındaki bazı yapıları ya da bazı enzimleri meme epitelinde çeşitli uyarımlar yaparak vazodilatasyon ve artan vasküler permeabilite ile bölgeye nötrofil göçü şekillenir (Sharma ve ark., 2011).

Kandaki monositler meme dokusunda makrofajlara dönüşürler ve memenin involusyonu sırasında en yoğun bulunan hücrelerdir. Bakteriyel invazyon sırasında makrofajlar doğuştan gelen veya sonradan kazanılan bağışıklık sisteminin bir parçası olarak görev alırlar. Erken post-partum dönemde sütteki hücrelerin %68'ini makrofajlar oluştururken, bu oran laktasyon sonunda %21'e kadar inmektedir. Makrofajların aynı zamanda patojen bakterileri fagosit etme ve proteaz ve reaktif oksijen türleri ile parçalama özelliği de bulunmaktadır (Sharma ve ark., 2011).

Lenfositler immun sistemdeki görevli hücreler içinde membran reseptörleri aracılığı ile çeşitli antijenik yapıları tanıma özelliği olan hücrelerdir (Boyso ve ark., 2007; Sharma ve ark., 2011). T-lenfositleri ve B-lenfositleri olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar, görev ve yapı olarak birbirlerine göre farklılıkları bulunmaktadır (Sharma ve ark., 2011).

1.7.1.1.Somatik Hücre Sayısını Etkileyen Faktörler

Süt somatik hücre sayısının doğru yorumlanabilmesi için somatik hücre sayısını etkileyen faktörler iyi bilinmelidir. Birçok faktör somatik hücre sayısını etkileyebilmektedir (Sharma ve ark., 2011). Laktasyon dönemi, mevsim, sağımlık sıklığı ve aralıklarına bağlı olarak somatik hücre sayısı değişmektedir (Biggs, 2009). Meme içi enfeksiyonlar süt somatik hücre sayısının yükselmesindeki en büyük etkidir (Philpot ve Nickerson, 2000; Blowey ve Edmondson, 2010). Somatik hücre sayıları genellikle süt verimi yüksek olan sürülerde daha düşük seyretmektedir. Bunun nedeni hem yüksek süt verimine bağlı konsantrasyona bağlı düşük seyretmesidir, hem de bu tarz sürülerde yönetim ve korunma stratejilerine verilen önemin yüksek oluşudur (Philpot ve Nickerson, 2000).

1.7.1.1.1. Enfeksiyon Geçmişi ve Durumu

Daha önce hiç enfekte olmamış meme loblarında somatik hücre sayıları 20×10^3 – 50×10^3 aralığında seyretmektedir. Büyük sürülerde enfekte olmayan hayvanların %80'i 200×10^3 'den, %50'si 100×10^3 'den düşük somatik hücre sayısına sahiptir (Philpot ve Nickerson, 2000). Enfeksiyon olmadığı halde somatik hücre sayısının yüksek seyretmesinin bir nedeni de bir önceki enfeksiyonun etkilerinin tam geçmemesi, tam iyileşmenin sağlanamamasıdır (Baştan, 2013). SHS değerleri enfeksiyon öncesi değerlere; bütün mastitis patojenleri elimine edildikten, hasar gören sekretorik hücreler tamamen iyileştiğinde ve süt üretimi enfeksiyon öncesi haline geldiğinde dönecektir (Philpot ve Nickerson, 2000; Biggs, 2009).

1.7.1.1.2. Bakterinin Türü

Somatik hücre sayısını etkileyen en önemli faktör memedeki enfeksiyonun şiddeti ve enfeksiyon şekillendiren mikroorganizmanın türüdür. Enfeksiyonun şiddetine göre somatik hücre sayısı da aynı oranda yükselmektedir (Sharma ve ark., 2011; Baştan, 2013). Bulaşıcı mastitis patojenleri genellikle subklinik mastitis şekillendirdikleri için yüksek somatik hücre sayısından sorumlu bakteriler olarak görülürler (Blowey ve Edmondson, 2010). Majör mastitis patojenleri genellikle 200×10^3 'ün üzerinde somatik hücre sayısı ile seyreden enfeksiyonlar şekillendirmektedir. Minör patojenlerin şekillendirdiği enfeksiyonlarda ise 50×10^3 'lük bir artış şekillendirmektedir (Biggs, 2009). Farklı organizmalara karşı farklı yangısal yanıt şekillendiği gibi, aynı hayvanda aynı mikroorganizmaya karşı farklı zamanlarda farklı şiddetlerde yangısal yanıt şekillenebilir, somatik hücre sayıları farklı çıkabilir (Blowey ve Edmondson, 2010).

1.7.1.1.3. Sağım Sıklığı ve Aralığı

Tank sütü somatik hücre sayısı günde üç sağım yapılan işletmelerde, günde iki sağım yapılanlara göre daha düşük seyretmektedir. İki sağımdan üç sağıma geçiş sürecinde hücre sayılarında dönemsel artış gözlenebilir (Biggs, 2009).

Yapılan araştırmalara göre enfekte olmayan ineklerde laktasyonun sonlarına doğru gün aşırı sağım yapılması somatik hücre sayısını arttırdığı bilinmektedir. İki sağım arası iki gün bırakıldığında somatik hücre sayısının 540×10^3 'lere kadar çıktığı, dört gün daha sağım yapılmadığında somatik hücre sayısının 15 milyonlara kadar yükselebildiği bildirilmiştir. Bunun nedeninin sağım aralıkları kısa tutulduğunda sütte bulunan ama enfeksiyon şekillendirmeyen bakterilerin her sağımda atılırken, sağım aralıkları uzatıldığında bakterilerin çoğalması için imkan şekillenmesi olduğu düşünülmektedir (Blowey ve Edmondson, 2010).

İki sağım arasında sürenin uzaması somatik hücre sayılarının azalması ile sonuçlanmaktadır. İki sağım arası süre arttıkça, hücre diapedezi azalmakta ve toplam süt verimi sağım başına artacağı için, somatik hücre bakımından daha dilüe bir süt elde edileceği için sayılarda düşme görülecektir (Biggs, 2009). Aynı sebeple sabah sütlerinin somatik hücre sayısı akşam sağımına göre daha düşük seyretmektedir (Biggs, 2009; Blowey ve Edmondson, 2010).

1.7.1.1.4. İneğin Yaşı

Hayvanın yaşının somatik hücre sayıları ile doğrudan bir ilişkisi olmamakla birlikte yapılan araştırmalara göre yaşa bağlı somatik hücre sayısının yüksek seyretmesinin nedeninin daha uzun süredir sağıldıkları oldukları düşünülmektedir (Biggs, 2009). Aynı zamanda yaşlı inekler patojenlere daha uzun süre maruz kaldıkları için enfeksiyon şekillendirme ihtimalleri daha yüksektir (Philpot ve Nickerson, 2000; Blowey ve Edmondson, 2010).

1.7.1.1.5. Stres

İneklerde herhangi bir stres oluşturan faktörlerin somatik hücre sayısını arttırdığı bilinmektedir (Blowey ve Edmondson, 2010). Köpek tarafından kovalanan, grupları değiştirilen ya da yalnız bırakılan ineklerin somatik hücre sayıları yükselmektedir (Biggs, 2009).

1.7.1.1.6. Diurnal ve Günler Arası Değişim

Ön sütte somatik hücre sayısı en yüksek seviyededir. Sağımdan birkaç saat sonra aşamalı olarak en düşük seviyeye inmektedir (Biggs, 2009).

İneklerin yaşayan birer organizma oldukları, bir günlerinin diğer günlerinden farklı olduğu unutulmamalıdır. Her gün bakteriler ile mücadele eden ve kazanarak sağlık kalan bir sistemde somatik hücre sayılarının farklı günlerde her zaman aynı çıkması beklenmemelidir. İneklerin de güne kötü başladığı, uğursuz günleri vardır (Biggs, 2009).

1.7.1.1.7. Mevsim ve Laktasyon Dönemi

Yaz mevsiminde tank sütü somatik hücre sayılarının laktasyon döneminden etkilenmeksizin yükseliş gösterdiği bilinmekle birlikte bu artışın altında yatan neden tam olarak açıklanamamaktadır (Biggs, 2009; Blowey ve Edmondson, 2010).

Laktasyon dönemi somatik hücre sayısını etkileyen bir diğer faktördür (Philpot ve Nickerson, 2000). Laktasyon ilerledikçe, özellikle laktasyonun sonlarına doğru enfeksiyon şekillenmese dahi somatik hücre sayısı yükselmektedir (Sharma ve ark., 2011). Somatik hücre sayısı doğum zamanı yükselirken, pik laktasyondan, laktasyonun ortalarına kadar en düşük seviyelerde seyrederken, kuru döneme geçiş

sırasında en yüksek seviyelere ulaşır (Philpot ve Nickerson, 2000). Doğum sonrası enfeksiyonlardan bağımsız olarak somatik hücre sayısı yükselmektedir (Biggs, 2009, Blowey ve Edmondson, 2010). Erken post-partum süreçte immün sistemin uyarılmasına ve meme savunma sisteminin aktivasyonuna bağlı olarak meme içi enfeksiyon şekillenmemiş olsa bile somatik hücre sayısında yükselmeler görülür (Sharma ve ark., 2011). Özellikle düvelerde doğum sonrası somatik hücre sayısının yüksek seyretmesinin bir nedeninin de doğum stresi olduğu düşünülmektedir (Biggs, 2009). Doğumdan sonraki ilk üç gün ve laktasyonun sonunda, süt sekresyonundan sorumlu epitel hücrelerin büyük çoğunluğu yenilenmekte ve süte epitel döküntüleri karışmaktadır. Buna bağlı olarak bu dönemlerde süt somatik hücre sayısında az miktarda artış görülmektedir ve bu durum fizyolojik kabul edilmektedir (Baştan, 2013). Laktasyon dönemi boyunca somatik hücre sayısının değişim göstermesinin bir nedeni de değişen süt verimine bağlı konsantrasyon değişimidir (Philpot ve Nickerson, 2000). Laktasyon sonlarına doğru süt verimin azalmasıyla birlikte konsantrasyona bağlı somatik hücre sayısında artışlar görülmektedir (Biggs, 2009; Blowey ve Edmondson, 2010). Laktasyonun farklı günlerindeki ortalama somatik hücre sayıları çizelge 1.7’de gösterilmiştir (Harmon, 1994). Doğum anında somatik hücre sayısı genelde 1×10^6 /ml ‘den yüksektir. Doğumdan 7 – 10 gün sonra bu sayı 100×10^3 ‘lere kadar düşer (Sharma ve ark., 2011).

Çizelge 1.7. Laktasyonun gününe ve enfeksiyon durumuna göre ortalama somatik hücre sayıları

LAKTASYON GÜNÜ	SOMATİK HÜCRE SAYISI ($\times 10^3$ /ML)			
	Hayvan Sayısı	Enfeksiyon Durumu		
		Yok	Minor Patojenler	Major Patojenler
0 – 49	380	164	247	839
50 – 99	429	138	286	861
100 – 149	498	125	240	1068
150 – 199	399	126	298	735
200 – 249	452	208	240	902
250 – 299	445	139	267	758

1.7.1.2.Somatik Hücre Sayısının Belirlenmesi

En basit ve kabul görmüş yöntem ışık mikroskobu ile direkt sayılmasıdır ancak pratik değildir. Çoklu numunelerin sayımı oldukça uğraştırıcı ve zaman kaybı olacaktır (Biggs, 2009). Gelişen teknoloji ile otomasyon sistemleri kullanılmaya başlanmıştır. Coulter Counter sistemiyle birlikte çok sayıda numune kısa süreler içinde incelenebilir fakat bu sistemin prensibi belli bir büyüklükteki nesneleri saymasıdır (Baştan, 2013). Sayım sırasında o büyüklükteki gaz baloncukları, hücre parçaları gibi artefaktlar da sayıma dahil olduğu için çıkan sonuçlar gerçek değerlerden daha yüksek seyretmektedir (Biggs, 2009).

Foss sisteminin kullanılmaya başlanması ile daha net sonuçlar elde edilmeye başlandı. Bu sistemin prensibi florasan yapılı bir bileşiğin (ethidium bromide) lökositlerin hücre duvarını geçerek nükleer materyalleri ile kompleks yapılı bir bileşik oluşturması ve cihazın floro-optik yapısı sayesinde oluşan bu kompleks yapıları tanıyıp saymasıdır (Biggs, 2009; Baştan, 2013).

1.7.2. Toplam Bakteri Sayısı

Çiğ sütün hijyen ve kalite göstergelerinden biri de toplam bakteri sayısıdır (Baştan, 2013). Süt ve süt ürünlerinin üretim hijyeninin değerlendirilmesinde toplam bakteri sayısı kullanılmaktadır. Toplam bakteri sayısının belirlenmesi için bakteri kültürünün elde edilmesi ve sayılması gerekmektedir (Biggs, 2009).

1.8.Oksidatif Stres ve Antioksidan Sistem

Fizyolojik şartlarda hücrelerde üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) ve onların etkilerini azaltan ya da ortadan kaldıran antioksidanlar arasında bir denge vardır (Jozwik ve ark., 2012). Bu dengenin bozulduğu durumlarda, hücrelerde süperoksit

radikallerinin birikmesine oksidatif stres denmektedir (Sies ve Cadenas, 1985; Aslankoç ve ark., 2019). ROS artışı hücre için patolojik sonuçlar şekillendirir, hücrelerde proteinleri, lipidleri ve nükleik asitleri hasara uğratarak hücre içi sinyalizasyon ve haberleşmeyi bozar (Lopez-Alarcona ve Denicola, 2013; Aslankoç ve ark., 2019).

Organizmada hücreler tarafından sürekli olarak üretilen serbest radikaller antioksidan sistemler tarafından yok edilir ya da etkisiz hale getirilirler. Antioksidanlar en basit haliyle serbest radikalleri temizleyerek hücre hasarından korumaktadır. Bu antioksidanlar vücut tarafından üretilir ya da gıda yoluyla alınır (Lobo ve ark., 2010; Aslankoç ve ark., 2019). Antioksidan savunması enzimatik ve non-enzimatik sistemlerden oluşmaktadır. Serbest radikallerin oluşumunu baskılayan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) antioksidan savunma sisteminin ilk basamağını şekillendirmektedir (Ighodaro ve Akinloye, 2018; Aslankoç ve ark., 2019).

1.8.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Oluşum Mekanizması

Serbest radikaller ilk olarak 18. yy'ın başlarında Moses Gomberg tarafından tanımlanmıştır. Aynı yüzyılın ortalarında Leonor Michaelis organik molekülleri içeren bütün oksidatif reaksiyonların serbest radikallerle bağıntılı olduğunu ortaya atmıştır. O yıllardan günümüze serbest radikaller ve işlevleriyle ilgili araştırmalar devam etmekte ve her yeni bir araştırma ile bilgilerimiz yenilenmekte ve gelişmektedir (Lushchak, 2014).

“Serbest radikal” ve “reaktif oksijen türleri” çoğu zaman birbirleriyle aynı anlamda kullanılabilse de bazı durumlarda farklılıklar şekillenebilmektedir. Bir organizmada aerobik koşullar altında kullanılan oksijenin %90'dan fazlası elektron taşıma sistemi (ETS) vasıtasıyla sitokrom oksidaz tarafından 4-elektron mekanizması ile reaktif oksijen türleri salınmadan suya indirgenir. Bu mekanizma Şekil 1.2.' de

$$\begin{array}{ccccccc}
 \text{O}_2 & \xrightarrow{\bar{e}} & \text{O}_2^{\bullet -} & \xrightarrow[2\text{H}^+]{\bar{e}} & \text{H}_2\text{O}_2 & \xrightarrow{\bar{e}} & \text{HO}^\bullet + \text{HO}^- \\
 \downarrow 4\bar{e} \quad 4\text{H}^+ & & & & & & \\
 2\text{H}_2\text{O} & \xleftarrow[\text{H}^+]{\bar{e}, \text{H}^+ (\text{H}^\bullet)} & & & & &
 \end{array}$$

28

Serbest radikallerin oluşumunda kaynak iki eşlenmemiş elektrona sahip moleküler oksijendir. Organizmada geçiş metallerini (Fe, Cu, vb.) içeren enzimler aracılığı ile oksitlenme reaksiyonu şekillenir. Eşlenmemiş elektron içeren moleküler oksijen ROS oluşumunda doğrudan etkilidir (Aslankoç ve ark., 2019). Hem serbest radikalleri hem de hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali (OH) gibi serbest olmayan oksijenli molekülleri içeren ROS hücre, doku hatta organ düzeyinde son derece toksiktir (Kohen ve Nyska, 2002; Aslankoç ve ark., 2019).

1.8.2. Antioksidan Sistem ve Enzimler

ROS seviyesinin korunmasında üretimleri kadar ortadan kaldırılmasında görevli olan mekanizmalar da kritik önem taşımaktadır. Organizma içinde çok fonksiyonlu ve yolaklı antioksidan mekanizmalar ile ROS'lar ortadan kaldırılmakta ya da zararlı etkileri minimize edilmektedir (Lushchak, 2014).

Hücre içi lipid, protein ve DNA gibi serbest radikaller tarafından okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen ya da geciktiren maddelere antioksidan, çok yolaklı karmaşık bu mekanizmalara da antioksidan savunma sistemi denmektedir. Antioksidanlar serbest radikaller ile elektron transferi yaparak hücresel düzeyde şekillenecek olan hasarı engellemektedir (Valko ve ark., 2007; Aslankoç ve ark., 2019).

Antioksidanlar temel olarak dört şekilde çalışmaktadır:

- Serbest oksijen radikallerinin tutulmasını ya da oksidanlarını daha zayıf moleküle dönüştürerek (Enzimler)
- Oksidanlara hidrojen vererek onları etkisiz forma dönüştürerek veya reaksiyon hızlarını yavaşlatarak (Vitaminler ve flavonoidler)
- Lipid, protein veya DNA'da oluşan serbest radikallere bağlı şekillenen hasarın onarılması

- Serbest oksijen radikallerini bağlayıp zincirlerini kırarak (Valko ve ark., 2007; Aslankoç ve ark., 2019).

Antioksidanlar besinler (non-enzimatik antioksidanlar) yoluyla alınabildiği gibi, organizma tarafından hücresel düzeyde üretimi de (enzimatik antioksidanlar) yapılmaktadır (Ighodaro ve Akinloye, 2018; Aslankoç ve ark., 2019). Son yıllarda yapılan çalışmalar süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimatik antioksidanların ve C vitamini, E vitamin gibi non-enzimatik antioksidanların oksidatif strese karşı korunmada çok farklı rollerinin olduğunu göstermektedir (Aslankoç ve ark., 2019).

Yüksek verimli süt ineklerinde homeostazis, serbest radikallerin üretimi ve birikiminden dolayı ki bu durum tamamen doğaldır ve kaçınılmazdır, bozulmuş durumdadır (Valko ve ark., 2007; Jozwik ve ark., 2012). Moleküler oksijen ve peroksit anyonundan gelen serbest radikaller reaktif oksijen türleri olarak adlandırılırlar. Homeostazisin bozulmadığı durumlarda ROS'lar hücresel savunma sistemleri (enzimler) ve enzimatik olmayan antioksidanlar yoluyla nötralize edilirler (Jozwik ve ark., 2012).

Homeostazisin bozulduğu durumlarda oksidatif yapım, nötralize edilebilir seviyenin üstüne çıkar ve bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır. Hücre içi ROS seviyesindeki en ufak bir artış bile metabolizma hızını, gen ekspresyonunu, hücre bölünme döngüsünü ve apoptozis mekanizmasını etkilemektedir (Crujeiras ve ark., 2008; Jozwik ve ark., 2012). Oksidatif stres şekillenen yüksek verimli süt ineklerinde birçok fizyolojik mekanizmalarda aksamalar şekillenir, buna bağlı olarak bağışık sistemi zayıflar ve çeşitli hastalıklar şekillenmeye başlar (Poulsen, 2005; Jozwik ve ark., 2012).

Bazı durumlarda ROS'lar tek veya her iki DNA zincirini parçalar, bunun sonucunda da hücre ölümü şekillenir. Proteinlerin oksidasyonu sonucu enzimler etkisiz kalır, bu şekilde ROS'lar biyolojik olarak aktif maddeleri (DNA, yağ asidi,

peptitler ve vitaminler gibi) etkileyerek hücre ve tüm dokunun harabiyetine neden olur (Poulsen, 2005; Bagnicka ve ark., 2008; Litwinczuk ve ark., 2011; Jozwik ve ark., 2012). ROS'ların şekillendirdiği bu etkiler neredeyse tamamen geri dönüşlüdür ve enzimatik yollarla tamamen ortadan kaldırılabilir (Jozwik ve ark., 2012).

Son yıllarda yapılan araştırmalar bağışıklık sisteminin düzgün çalışmamasında ve yangısal cevabın doğru şekillenmemesinde oksidatif stresin doğrudan etkili olduğunu göstermektedir (Wilde, 2006; Joswik ve ark., 2012). Oldukça fazla sayıda hücre oksidatif strese daha duyarlıdır ve bu hücreler oksidatif stres altında nekroze olmakta ve apoptozise gitmektedir. Aynı zamanda bu hücrelerin patojen mikroorganizmalara karşı direnci düşmektedir (Jozwik ve ark., 2012).

Savunma sistemi enzimatik ve non enzimatik sistemler ile çalışmaktadır. Glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerini nötralize etmede son derece önemli görevleri bulunmaktadır (Karyak ve ark., 2011).

1.8.2.1.Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz (SOD, E.C. 1.15.1.1) ROS ve süperoksit anyon radikallerine karşı en önemli antioksidanlardandır (Moolchandani ve Sareen, 2018; Ighodaro ve Akinloye, 2018). SOD süperoksit radikalini O_2 molekülüne yükseltgeyip, başka bir süperoksit radikalinin daha az reaktif olan hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenmesini katalize eder (Karabulut ve Gülay, 2016; Aslankoç ve ark., 2019).

SOD'un Cu-Zn-SOD (SOD 1), Mn-SOD (SOD 2) ve Cu-SOD (SOD 3) olmak üzere bilinen üç farklı izoformu bulunmaktadır. SOD 1 sitoplazmada, nükleer kısımlarda ve lizozomlarda bulunmaktadır (Aslankoç ve ark., 2019). İnsanlarda Down Sendromu ve Amniyotrofik Lateral Skleroz (ALS) gibi önemli iki hastalığın patofizyolojisinde rol oynamaktadır (Zelko ve ark., 2002; Aslankoç ve ark., 2019).

SOD 2 aerobik hücrelerin mitokondrilerinde bulunmakta ve hücre farklılaşmasında görev almaktadır. SOD 3 plazmada, lenfte ve sinoviyal sıvıda bulunmakla birlikte damarların duvarlarında da bulunmaktadır (Aslankoç ve ark., 2019)

SOD aktivitesindeki artış, hayvanda oksidatif stres şekillendiğinin ve serbest radikallerin zararları etkilerinden korunmak için SOD üretiminde artış olduğunun göstergesidir (Moolchandani ve Sareen, 2018).

1.8.2.2.Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px, E.C. 1.11.1.9) hücresel bir antioksidandır (Karabulut ve Gülay, 2016), mitokondri ve sitozolde hidrojen peroksidi suya parçalayan ve hücreleri oksidatif strese karşı koruyan antioksidan sistemin önemli bir parçasıdır. Genellikle aktivitesi selenyuma bağlıdır. Bu nedenle selenyum bağımlı GSH-Px ve selenyum bağımsız GSH-Px olarak iki formu bulunmaktadır. (Aslankoç ve ark., 2019).

1.8.2.3.Paraoksonaz

Paraoksonaz (PON, E.C. 3.1.8.1) yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) ilişkili glikoprotein yapısında bir enzimdir (Bademkiran ve ark., 2008). Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) üzerinden üretilen lipid hidrojen peroksit ve organofosforlu bileşikler gibi birçok maddenin hidrolizinde katalizör görevi görmektedir. (Türk ve ark., 2005b). PON, Ca bağlı bir enzimdir ve HDL'nin apolipoprotein A1'ine bağlı olarak kan dolaşımında bulunmakta olup, asıl görevi dokuları LDL'nin oksidasyonundan korumaktır. Yapılan araştırmalarda oksidatif stres ile ilişkili hastalıklarda PON aktivitesinin düştüğü bildirilmiştir (Bademkiran ve ark., 2008). Paraoksonaz ilk olarak ekzojen organofosforlu bir bileşik olan insektisit paraoksonu hidrolize eden enzim olarak bulunmuştur. Günümüzde PON-1, PON-2 ve PON-3 olmak üzere aynı kromozomun farklı genlerinden üretilen 3 adet paraoksonaz bilinmektedir. PON-1

proteini 354 aminoasitten oluşmaktadır ve 43 kDa moleküler ağırlığındadır (Litvinov ve ark., 2012).

Beşeri hekimlikte yapılan araştırmalar sonucunda, paraoksonazın organofosfotaz aktivitesinin yanında esteraz ve laktonaz aktivitelerinin de olduğu ortaya konmuştur. Birçok maddenin paraoksonazlar tarafından hidrolize edildiği bilinmesine rağmen, tam olarak hangi maddelerin hidrolizinde etkin olarak görev aldığı halen belirlenememiştir. (Litvinov ve ark., 2012).

Yapılan çalışmalarda PON-1'in esterolitik ve hidrojen peroksit aktivitelerinin olduğu ve mekanizmalarının birbirinden farklı olduğu gösterilmiştir. Esterifiye yağların metabolize edilmesinde görev aldıkları gibi hidrojenperoksitlerin indirgenmesinde de önemli görevleri bulunmaktadır (Kulka, 2016).

PON-1 negatif akut faz proteini olarak da bilinmektedir. Yangının şekillendiği durumlarda konsantrasyonlarında düşme izlenmektedir. İnsanlarda ve tavşanlarda yapılan araştırmalarda akut faz yanıtın şekillendiği esnada Apo A-1 ve PON-1 aktivitelerinin azaldığı görülmüştür. Enflamatuvar yanıt şekillendiğinde, HDL üzerindeki Apo A-1'ler ile pozitif akut faz proteini olan serum amiloid A'ların yer değiştirdiği ve buna bağlı olarak PON-1 aktivitesinde azalma şekillendiği görülmüştür (Kulka, 2016).

1.9.Oksidatif Stres ve Mastitis

Süt ineği işletmelerinde oksidatif stres ile mastitis, plasental retensiyon, meme ödemi gibi birçok problem beraber seyretmektedir (Abd Allah, 2013). Oksidatif stres ve mastitis ilişkisi çeşitli mekanizmaları ve yolları kapsayan kompleks bir konudur. Mastitis sırasında kan serumundaki nitrik oksit seviyesi artmakta ve askorbik asit seviyesi ise azalmaktadır, ayrıca lipid hidroperoksitleri de artış göstermektedir (Jozwik

ve ark., 2012). Azalan askorbatlar ve artan lipid peroksidasyonu mastitis ve oksidatif stres arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (Castillo ve ark., 2006; Jozwik ve ark., 2012).

Rasyonun enerji değerinin düşük tutulması serbest radikallerin şekillenmesini azaltmaktadır. Bununla birlikte enerji değeri yüksek özellikle yüksek nişasta içeren rasyonlarda oksidatif stres görülme olasılığı artmakta ve mastitise yatkınlık şekillenmektedir. Glukojenik diyetlerde kan glukoz seviyesinin yüksek seyretmesine neden olur, buna bağlı olarak da reaktif oksijen türlerinin şekillenmesi artar ve oksidatif stres daha sık olarak görülür (Jozwik ve ark., 2012).

Malone dialdehit (MDA) ve SHS arasında pozitif korelasyon bulunmaktadır. Buna bağlı olarak SHS seviyesi oksidatif stresin bir belirtici olarak görülebilir. PMN'ler peroksit (O_2^-) oluşumunda etkilidir. Peroksitler bir yandan patojen mikroorganizmaların yıkımlanmasında görev alırken, bir yandan da lipid oksidasyonuna neden olurlar ve sonucunda MDA şekillenir (Jozwik ve ark., 2012).

Laktasyon sürecine geçen ineklerin sık sağılmaya başlanmasıyla sütteki epitel hücre sayısındaki artış bölgesel uyarıma bağlı olarak hücresel proliferasyonun artması ve apoptosiz ile hücre yıkımlanmalarının azalması ile şekillenir (Stefanon ve ark., 2002). Sık sağım ile birlikte süt veriminin yükselmesiyle birlikte vücudun ihtiyaç duyduğu enerji miktarı artar ve bunlara bağlı olarak ROS seviyesinde artışlar gözlemlenir (Jozwik ve ark., 2012).

Doğum sonrası süreç meme yangıları açısından oldukça kritik bir dönemdir. Bu dönemde özellikle meme patojenlere karşı açık bir durumdadır ve bu dönemde şekillenecek olan meme içi enfeksiyonlar hem süt verimini olumsuz etkileyeceği gibi hem de hayvanın sağlığını doğrudan olumsuz etkilemektedir. (Weiss, 2005; Jozwik ve ark., 2012). Bu dönemde artan metabolizma hızı ve süt verimiyle birlikte reaktif oksijen türlerinin üretiminde de bir artış şekillenir. Dengenin bozulmasıyla birlikte hücresel ve doku bazında harabiyet şekillenir (Sordillo, 2009; Jozwik ve ark., 2012).

Antioksidan maddelerin optimal konsantrasyonları, stres oluşturan koşullar altında daha da önemlidir. Meme dokusunda süt yapımının başladığı dönemde, meme bezinin enerji ve oksijen ihtiyacı artmaktadır. Oksijen tüketimindeki artış sonucunda, serbest oksijen radikallerinin artmasına, oksidatif strese ve dokuda harabiyete neden olmaktadır. ROS'ların olumsuz etkilerine ortadan kaldırmak için antioksidan etkili bazı enzimler ve moleküller dokulardan üretilmektedir. Oksidatif stresin kontrolü ile mastitislerin şiddetini azaltmak mümkündür (Baştan, 2013). Mastitislerde sütte serbest radikallerde artış görülmektedir (Gu ve ark., 2009). Klinik ve subklinik mastitislerde, serbest oksijen radikallerinin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak toplam oksidan kapasitesinde artış, toplam antioksidan kapasitesinde de azalma görülmektedir. Laktasyon süresince meme epitel hücrelerinin metabolizma hızındaki artışa bağlı olarak üretilen serbest oksijen radikal miktarı da artmaktadır (Li Yang ve Shan Li, 2015). Yüksek verimli süt ineklerinde hücrelerin yüksek enerji ihtiyacından dolayı homeostazis sağlanamamakta ve serbest oksijen radikallerinin miktarında artış görülmektedir. Bu serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkileri homeostazisin sağlandığı durumlarda enzimatik ve non-enzimatik antioksidant maddeler tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Subklinik mastitislerin NO seviyesini arttırdığı ve kan serumunda askorbik asit seviyesinde düşmeyle seyrettiği bilinmektedir. Askorbik asit seviyesindeki düşüş ve lipid peroksidasyon sonucu oluşan maddelerdeki artış, mastitis ve oksidatif stres arasında ilişki olduğunu göstermektedir. Özellikle doğum sonrası laktasyon başında artan metabolik ihtiyaçların karşılanamaması ve homeostazisin bozulmasıyla birlikte, mastitis ve oksidatif stres daha da önemli bir hal almaktadır (Jozwik ve ark., 2012).

Mastitisli sütteki serbest radikallerin düzeyindeki artışta, sütte bulunan nötrofil, makrofaj ve lenfosit gibi hücrelerin sayısındaki ve de bazı sitokinlerin ve nitrik oksit'in düzeyindeki artış etkilidir (Abd Ellah, 2013). Memedeki yangı sırasında artan somatik hücre sayısı sütte artan nötrofil sayısına bağlıdır. Bu durum da oksidatif aktivetinin artmasına ve süt kalitesinin düşmesiyle sonuçlanmaktadır (Karyak ve ark., 2011). Yangı sırasında makrofajlardan ve meme epitel hücrelerinden nitrik oksit (NO) üretilmektedir. Bu indirgenebilir NO mastitis mediyatörü rolündedir. Mastitis

sırasında artan NO seviyesine bağılı olarak antioksidant dengesi bozulur ve meme bezlerinde oksidatif hasar şekillenir. Yangı sırasında vücut serbest radikalleri savunma sisteminin bir parçası olarak kullanmaktadır, ancak yangının şiddetine ve süresine bağılı olarak artan serbest radikaller antioksidant dengesinde bozukluğa ve oksidatif hasara neden olmaktadır. Yapılan araştırmalarda mastitis sırasında sütte NO seviyesinin arttığı bildirilmiştir. Süt somatik hücre sayısı meme sağılığının ve süt kalitesinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda süt SHS ve NO seviyeleri arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Abd Allah, 2013).

1.10. Erken Laktasyon Dönemi ve Mastitis

Doğum sonrası memenin savunma sistemi önemli derecede zayıflamaktadır. Erken laktasyon dönemi doğumu takiben süt veriminde hızlı bir artışın görüldüğü ilk 100 günlük süreyi kapsamaktadır (Baştan, 2013). Sağlıklı bir ineğin laktasyon eğrisinde pik süt verimine 4-8 haftalarda ulaşır ve takibinde kuruya çıkana kadar günden güne süt veriminde düşüş görülür (Silvestre ve ark., 2009). Bu nedenlerle erken laktasyon döneminde inekler mastitisler açısından kritik bir dönemden geçmektedir (Baştan, 2013).

Kuru dönemden laktasyon dönemine geçiş, süt ineği işletmelerinde kritik önem taşımaktadır (Pyorala, 2008). Gebeliğin son 3-4 haftasında hızla büyüyen bir fötüs, meme bezinin gelişimi ve kolostrum yapımının başlaması sonucu ineğin besin maddesi ihtiyaçları maksimum seviyeye çıkar, vücut yağları ve diğer besin maddeleri mobilize edilmeye başlar. Doğum sonrası artan süt sekresyonu için vücudun ihtiyaçlarının artması ve azalan yem tüketimine bağılı olarak ihtiyaç duyulan besin maddelerinin yetersizliği sonucu farklı hastalıklara yatkınlıklar şekillenir (Baştan, 2013). İneklerde meme içi enfeksiyonların en sık doğum zamanında şekillendiği bildirilmiştir (McDougal ve ark., 2007). Özellikle doğum öncesi ve sonrasını kapsayan periparturient dönemde, meme başı bakteri yükündeki artış, meme savunma sisteminin zayıflaması gibi sebeplerden meme içi enfeksiyonlara karşı duyarlılık artmaktadır (Baştan, 2013). Kuru dönem boyunca memenin yeni enfeksiyonlar açısından laktasyon

dönemine göre daha dayanıklı olduğu kabul edilir. Keratin tıpa ile kanal kapalıdır, lökosit konsantrasyonu laktasyon dönemine göre daha yüksektir. Doğumdan sonraki ilk 2-3 hafta meme içi enfeksiyonlar açısından kritiktir (Pyorala, 2008). Süt ineklerinde özellikle erken laktasyon döneminde şekillenen negatif enerji dengesi meme bağışıklık sistemini de baskılamaktadır (Spain ve Scheer, 2006). Özellikle meme parenşiminde gelişimin hızlandığı ve süt yapımının başladığı dönemde, meme dokusunun enerji ve oksijen ihtiyacı artar, serbest radikallerin üretimi artar, dengenin bozulması sonucu oksidatif hasar şekillenir (Baştan, 2013). Artan süt verimi ve karşılanamayan metabolik ihtiyaçlar sonucu yağlı karaciğer ve ketozis şekillenir. Bu duruma bağlı olarak, karaciğerden salgılanan humoral immün faktörlerin üretiminde bozulmalar şekillenir, polimorfonükleer lökositlerin kapasiteleri düşer (Zerbe ve ark., 2000).

Hipotez;

Süt ineklerinde laktasyonun ilk 100 gününde genellikle çevresel patojenlere bağlı klinik veya subklinik mastitise sık rastlanır. Bu dönemde mastitislerin sık görülmesinin nedeni; immun sistemin baskılanmasıdır. Çevresel mikroorganizmalara bağlı mastitisler sıklıkla immun sistemin baskılandığı dönemde şekillenir.

Sunulan bu doktora tez çalışmasının amacı; laktasyonun ilk 100 gününde süt somatik hücre sayısı, toplam bakteri sayısı ile serum paraoksonaz, süt glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz düzeyleri arasındaki ilişkiyi, süt somatik hücre sayısının, toplam bakteri sayısının, süt glutatyon peroksidaz, süt süperoksit dismutaz ve kan serumu paraoksonaz seviyelerinin subklinik mastitisteki rolünü ve mastitislerden izole edilen patojenle antioksidan mekanizma arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Bu dönemde şekillenen subklinik mastitis ve süt kalitesi üzerine antioksidan mekanizmanın rolü belirlenir ise subklinik mastitisi önlemek ve süt kalitesini iyileştirmek için özellikle immun sistemin etkilendiği dönemde antioksidan maddelerin kullanımının önemine dikkat çekilecektir. Böylece mastitislerin görüldüğü özellikle laktasyonun ilk 100 gününde antioksidan mekanizmanın ne oranda etkilendiği ortaya çıkacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

Çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 19L0239003 proje numarası ile desteklenerek ve Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı 2019-4-32 karar numarası ile onay alınarak Ankara ilinde üretim yapan süt ineği işletmesinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın gerçekleştirildiği işletme; hayvan refahı ve süt üretiminde belli standartlara ulaşmış olup, serbest duraklı ahır sistemine sahip, koruyucu hekimlik ve aşılama programlarının takip edildiği, biyogüvenlik kurallarının uygulandığı, bilgisayarlı sağımlı sistemi ile günde 3 kez sağımlı uygulandığı ve sürü yönetiminin yazılım sistemleri ile takip edildiği ticari süt sığırları işletmesidir.

Çalışmanın hayvan materyalini; Ankara ilinde üretim yapan bir sütçü çiftlikte yetiştirilen inekler oluşturdu. Çiftlik kayıtlarına göre geçmişinde klinik olarak herhangi bir sağlık problemi olmayan, beş yaşından küçük ve vücut kondisyonları benzer olan en az bir doğum yapmış, laktasyonunun ilk 100 gününde olan, aynı şartlarda barındırılan ve dönemine uygun beslenme programı takip edilen, aynı kuru dönem süresi ve tedavisi görmüş 100 adet Holstein sütçü inek çalışmada kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan hayvanlar doğum sonrası dönemlerine uygun olarak yonca kuru otu, yonca silajı, ot silajı, mısır silajı, ticari premiks, mısır flake, soya fasulyesi küspesi, soda, bypass yağ ve ticari konsantre yemler ile dengeli ve yeterli olarak beslenmektedir.

Oksidatif stres düzeyinin ve antioksidan mekanizmaların çevre sıcaklıklarından etkilendiği için, mevsimin ve çevre sıcaklığının hayvanlar üzerine etkisinin aynı olması amacıyla çalışma benzer hava sıcaklıklarının olduğu aralık, ocak ve şubat aylarında gerçekleştirilmiştir.

2.1.1. Numune Toplanmasında Kullanılan Gereçler

2.1.1.1. Eldiven

Çalışmanın hayvan ve laboratuvar aşamalarında kullanılmak amacıyla standart kalınlıkta, steril olmayan nitril eldivenler (Isolab®) kullanılmıştır.

2.1.1.2. Holder ve İğnesi

Çalışma boyunca kan örneklerinin tüplere toplanması amacıyla holder (Vacutainer®) ve 18G kalınlığında holder iğnesi (BD vacutest) kullanılmıştır.

2.1.1.3. Biyolojik Numune Nakil Çantası ve Buz Aküleri

Çalışmada elde edilen numunelerin laboratuvara ulaştırılmasında ısı yalıtımını ve soğuk zinciri koruması için köpükten bölmelere sahip strafordan izolasyon maddesi içeren kapaklı taşıma çantası (Kaletermos®) ve soğuk zincirin korunması için standart boy ve 25lt buz aküleri (Kaletermos®) kullanılmıştır.

2.1.1.4.Kan Serum Tüpleri

Çalışmada paraoksonaz değerlerinin kan serumunda ölçülmesi için steril kan numunelerinin toplanmasında vakumlu, 10 ml hacminde ve antikoagülsüz steril kırmızı kapaklı (Hema&Tube®) tüpler kullanıldı.

2.1.1.5.Mikrosantrifüj Tüpleri

Süt numunelerinden serum eldesinde ultrasantrifüj işlemlerinde şeffaf, kilitli kapaklı, 2 ml ölçekli, dibi yuvarlak ve polipropilenden yapılmış mikrosantrifüj tüpleri (Isolab, Eppendorf®) kullanıldı.

Elde edilen kan serumu ve süt serumu numunelerinin -80°C’de saklanması için ultra şeffaf, polipropilenden yapılmış, kilitli kapaklı 1,5 ml ölçekli tüpler (Isolab, Eppendorf®) kullanıldı.

2.1.1.6. Süt Numunesi Tüpleri

Çalışmada süt serumunda Gpx ve SOD parametrelerinin belirlenmesi için süt örneklerinin toplanmasında ve saklanmasında vidalı kapaklı, 50 ml ve 15ml hacminde, konik tabanlı, ultra şeffaf, polipropilen, steril falkon tüpler (Isolab®) kullanıldı.

2.1.2.Laboratuvar Malzemeleri ve Cihazları

2.1.2.1.Somatik Hücre ve Toplam Bakteri Sayım Cihazı

Çalışmada süt örneklerinde somatik hücre sayısı ve toplam bakteri sayılarının belirlenmesi için flow sitometri prensibi ile çalışan, yarı otomatik, çiğ inek sütünde mikroorganizma sayımı için EN-ISO 4833-1:2013 ve 4833-2:2013 referans yöntemlerine en az eşdeğer (Sertifika n° 2013LR44) çalışan bir cihaz (Bentley Instruments®, IBCm) kullanıldı.

2.1.2.2.Santrifüj Cihazları

Serum örneklerinin eldesi için 5000 rpm'e kadar çıkabilen, 12 tüplü santrifüj cihazı (Yuda® 80-2A) kullanıldı.

Süt örneklerinden serum eldesi için 30000 rpm / 60000 xg devirin üstüne çıkabilen, yüksek devirli ve sıcaklık ayarı -20°C ile +40°C arasında olan masaüstü soğutmalı santrifüj cihazı (Sigma® 3k30) kullanıldı.

2.1.2.3.Derin Dondurucu

Kan ve süt serum örneklerinin saklanması için -50°C ile -86°C sıcaklık aralığına sahip, klorflorokarbon içermeyen, tek kapaklı, iki bölmeli dikey tip derin dondurucu (Sanyo®) kullanıldı.

2.1.2.4.Otoanalizör

Elde edilen örneklerin biyokimyasal analizlerinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik Tanı Laboratuvarına ait çoklu biyokimya testleri yapabilen, bilgisayar destekli tam otomatik veteriner otomatik biyokimya, C-CRP ve elektrolit analiz cihazı (Fujifilm® DRI-CHEM NX500V IC) kullanıldı.

2.1.2.5.Otomatik Pipet ve Pipet Uçları

Süt ve kan serumlarının hazırlanmasında mikrosantrifüj tüplerine ve godelere aktarılmasında, analizlerin yapımı sırasında hacimlerinin ayarlanmasında 10 – 100 µl, 100 – 1000µl hacimli ayarlanabilir otomatik pipetler (Isolab®) ve tek kullanımlık 200µl (sarı) ve 1000µl (mavi) pipet uçları (Isolab®) kullanıldı

2.2.Yöntem

2.2.1. Hayvanların Belirlenmesi ve Gruplara Ayrılması

Yapılan çiftlik ziyaretleri ve çiftlik kayıtları incelendiğinde geçmişinde herhangi bir klinik-subklinik veya kronik sağlık problemi olmayan, vücut kondisyonları ve yaşları benzer olan en az bir doğum yapmış laktasyonun ilk 100 gününde olan hayvanlar belirlendi. Bu hayvanlar aynı şartlarda barındırılmakta ve kendi dönemlerine uygun beslenme programları bulunmakta, aynı kuru dönem tedavilerini uygulanmıştır.

Belirlenen hayvanların hepsinden 7-10 gün arayla iki defa süt somatik hücre sayımı yapıldıktan sonra, elde edilen sonuçlara göre iki çalışma grubu oluşturuldu. Her iki ölçümde de 200×10^3 'ün üstünde somatik hücre sayısına sahip hayvanlar subklinik

mastitistli (Grup 1, n=50) kabul edildi. Her iki ölçüm sonucunda da 150×10^3 ün altında somatik hücre sayısına sahip hayvanlar sağlıklı (Grup 2, n=50) kabul edildi.

2.2.2. Örneklerin Toplanması

2.2.2.1. Süt Örneklerinin Toplanması

Yapılan ön çiftlik ziyaretinden ve kayıtların incelenmesinden sonra belirlenen hayvanlardan sabah sağımından önce süt örnekleri toplandı. Memeler ılık suyla temizlenip kurulandıktan sonra, sağım öncesi ön sütün rutin kontrolü ve predipping işleminden sonra asepsi antisepsi kurallarına uygun olarak alkollü pamuklar ile meme başları temizlendikten sonra 4 meme lobundan eşit olacak şekilde üzerinde hayvan bilgilerinin yazılı olduğu 50 ml'lik vidalı kapaklı tüplere prosedüre uygun olarak süt örnekleri alındı. Alınan örnekler numune toplama işlemi bitene kadar buz aküleri ile soğutulmuş örnek taşıma çantasına yerleştirildi. Numune toplama işlemi bitiminde sütler soğuk zincir kurallarına uygun olarak 4 saat içerisinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi.

Sabah sağımında alınan süt örnekleri soğuk zincir kurallarına uygun şekilde 4 saat içinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirildi. Üzerinde hayvan bilgilerinin yazıldığı 50 ml'lik tüpler çalkalayıcıda 5 dakika homojenize edildikten sonra, 5 ml'si toplam bakteri ve somatik hücre sayısı analizleri ve mikrobiyolojik ekimler için ayrıldıktan sonra üzerinde hayvana ait bilgilerin yazılı olduğu 15 ml'lik 3 ayrı tüpe pay edilip laboratuvarda bulunan -80°C derin dondurucuda biyokimyasal analizler yapılana kadar saklandı.

2.2.2.2.Kan Örneklerinin Toplanması ve Kan Serumlarının Eldesi

Çalışmaya dahil edilen ineklerden serum paraoksonaz aktivitesinin değerlendirilmesi için kan örnekleri; sabah sağımında süt örneği alındıktan sonra sabah yemlemesinden önce asepsi ve antisepsi kurallarına uygun olarak koksigeal venadan 18G holder iğnesi yardımıyla üzerinde hayvan bilgilerinin yazdığı 10ml'lik antikoagülsüz kan tüplerine alındı. Alınan kan örnekleri buz aküleri ile soğutulan numune taşıma çantası ile soğuk zincir kurallarına uygun olarak Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı laboratuvarına 4 saat içinde ulaştırıldı.

Soğuk zincir altında laboratuvara ulaştırılan kan tüpleri 1300 xg devirde +4°C'de 15 dakika süre ile santrifüj edildi. Ayrılan serum örnekleri üzerlerinde hayvanların kulak numaralarının yazdığı 1,5 ml'lik kilitli kapaklı mikrosantrifüj tüplerine ayrılıp ilgili analiz yapılana kadar laboratuvar bünyesindeki -80°C soğutmalı derin dondurucuda saklandı.

2.2.3. Analizlerin Yapılması

2.2.3.1.Somatik Hücre ve Toplam Bakteri Sayımı

Çiftlikten soğuk zincirde 4 saat içinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı laboratuvarına getirilen süt örnekleri IBCm cihazının yönergelerine uygun olarak çalkalayıcı ile homojenize edildikten sonra kendi solüsyonları ile numuneler hazırlanıp cihazın çalışma talimatlarına uygun olarak önce toplam bakteri sayımı, takibinde somatik hücre sayımı gerçekleştirildi.

2.2.3.2.Süt Serumunun Eldesi

Derin dondurucudan (-80°C) saklanan süt örnekleri oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'na getirildi. Laboratuvara getirilen süt örnekleri ultrasantrifüj cihazında rotor soğutma işleminden sonra, ilk olarak 50ml'lik kendi tüplerinde -4°C'de 21000 rpm (41410xg)'de 15 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar 2 ml'lik tüplere ayrıldıktan sonra bir kez daha 26000 rpm (61973 xg)'de 15 dakika santrifüj edilip, ayrılan süt serumları, üzerinde hayvan bilgilerinin yazılı olduğu 1,5 ml'lik eppendorf tüplere aktarılıp biyokimyasal analizler yapılana kadar -80°C soğutmalı derin dondurucuda saklandı.

2.2.3.3.Biyokimyasal Analizler

2.2.3.3.1. Süt Serumunda GSH-Px ve SOD Aktivitesi

Glutatyon peroksidaz analizi Paglia ve Valentine'in (1967) geliştirdiği yöntemle Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır. Peroksidaz kullanılarak glutatyon, redükte form olan GSSG'ye dönüştürülüp, reaksiyonun geriye çevrilmesi glutatyon redüktaz enzimi tarafından katalizlenebilen ve NADPH⁺H⁺ kullanan reaksiyonla gerçekleştirilir ve bu reaksiyonda GSH miktarı sabit kalarak bu prensibe dayalı yöntemle ölçümler yapılmıştır.

Süperoksit dismutaz analizi Sun ve ark. (1988) geliştirdiği yöntemle Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır. Ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile oluşan süperoksit radikallerinin Nitroblue Terrazoliumu indirgemesinin örnekte bulunun SOD enzimi tarafından engellenmesi esasına dayanan yöntemle analizler yapılmıştır.

2.2.3.3.2. Kan Serumunda PON Aktivitesi

Kan serumunda paraoksonaz aktivitesi Armstrong (2008) tarafından anlatılan yöntemle Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında ölçülmüştür. Armstrong (2008) tarafından bildirilen yöntemle 1 mM CaCl_2 ve 4mM paraokson ihtiva eden 50 mM glisin; ph: 10.5 tamponu kullanılarak paraoksonazın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenolün optik dansiteleri ölçülerek paraoksonaz aktiviteleri belirlenmiştir.

2.2.3.4. Mikrobiyolojik Analizler

Süt örneklerinin mikrobiyolojik analizleri Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır. Steril numune kapları ile toplanan süt örnekleri dondurma-çözdürme yöntemi kullanılarak mikrobiyolojik yönden incelenmiştir. Numuneler toplandıktan sonra soğuk zincir kurallarına uyularak 8 saat içinde laboratuvara ulaştırılmış ve -20°C 'de dondurulmuştur. Çalışılacak olan örnekler 37°C 'de çözdürülten sonra vorteksenerek homojenize edilmiştir. Hazırlanan numunelerden 50 uL alınıp %7 koyun kanlı agara, eosin methylene blue agara ve MacConkey agara ekimler yapılmıştır. Ekimleri yapılan örneklerle ait petriyeler 37°C 'de 24-48 saat aerobik koşullar altında inkübe edilmiştir.

İnkübasyon süresi sonunda şekillenen koloniler saflaştırılıp makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirilmiştir. Saflaştırılan her koloni Gram boyama yöntemi ile boyanmış, elde edilen sonuçlara göre Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere yönelik biyokimyasal testler (Oksidasyon-fermentasyon, katalaz, oksidaz, koagulaz, hareket muayenesi, üreaz, H_2S , İndol, Sitrat, Voges Poskauer ve Metil Red testi) yapılmış ve bakterilerin tür düzeyinde tespiti yapılmıştır.

2.2.3.5.İstatistiksel Analizler

Elde edilen tüm değişkenler önemlilik testlerine geçilmeden önce normallik yönünden parametrik test varsayımlarından Shapiro Wilk ile, varyansların homojenliği yönünden ise Levene testi ile incelendi. Parametrik varsayımların sağlandığı durumda gruplar arası farklılığın istatistiksel açıdan belirlenmesi Student t test ile, varsayımların sağlanmadığı durumda ise Mann-Whitney U testinden yararlanıldı. Elde edilen parametreler arasındaki ilişkinin gücü ve yönü Spearman korelasyon katsayısı ile hesaplandı. Tüm istatistiksel analizler minimum %5 hata payı ile incelendi. SPSS 14.01 paket programından yararlanıldı.



3. BULGULAR

Sunulan çalışmada subklinik mastitisli kabul edilen Grup 1 ve sağlıklı kabul edilen Grup 2'ye ait gereç ve yöntemde anlatılan süt somatik hücre ve toplam bakteri sayısı, süt serumu SOD ve GSH-Px değerleri ile kan serumu paraoksonaz değerleri ve sütün mikrobiyolojik analizlerinin sonucu izole edilen bakteriler izelge, grafik ve metin olarak verilmiştir.



Çizelge 3.1. Enfekte (grup I) ve sağlıklı (grup II) ineklerin somatik hücre sayısı, toplam bakteri sayısı ve enzim aktiviteleri

Parametre	Grup	N	Arit. Ort.	Std. Hata	Std. Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum	p
SHS (x10 ³ hücre/ml)	Enfekte	50	1674,12	400,08	2829,02	685,00	203,00	13212,00	<0,001
	Sağlıklı	50	36,76	4,17	29,49	24,50	8,00	139,00	
TBC (kob/ml)	Enfekte	50	845,92	98,44	696,04	654,00	12,00	2495,00	<0,001
	Sağlıklı	50	63,02	8,88	62,78	46,00	4,00	349,00	
SOD (U/ml)	Enfekte	50	0,14	0,01	0,07	0,16	0,05	0,37	0,062
	Sağlıklı	50	0,13	0,01	0,07	0,12	0,03	0,32	
GSH-Px (U/ml)	Enfekte	50	1,59	0,06	0,44	1,40	1,29	2,76	<0,001
	Sağlıklı	50	1,33	0,00	0,02	1,33	1,30	1,39	
PON (U/ml)	Enfekte	48	131,74	3,93	27,23	128,83	84,08	180,77	<0,001
	Sağlıklı	49	152,87	3,51	24,56	152,75	103,70	220,01	

SHS: Somatik hücre sayısı, TBC: Toplam bakteri sayısı, SOD: Süperoksit dismutaz aktivitesi, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz aktivitesi
PON: Paraoksonaz aktivitesi

Çizelge 3.2. Grup I'de bakteriyolojik kültürde üreme olan ve olmayan sütlerin somatik hücre ve toplam bakteri sayısı ve enzim aktiviteleri

Parametre	Üreme	N	Arit. Ort.	Std. Hata	Std. Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum	p
SHS (x10 ³ hücre/ml)	Var	37	1625,84	501,01	3047,55	679,00	203,00	13212,00	0,407
	Yok	13	1811,54	607,02	2188,63	869,00	207,00	6077,00	
TBC (kob/ml)	Var	37	857,46	116,02	705,70	659,00	34,00	2495,00	0,732
	Yok	13	813,08	192,69	694,76	523,00	12,00	2167,00	
SOD (U/ml)	Var	37	0,15	0,01	0,07	0,16	0,05	0,37	0,376
	Yok	13	0,13	0,01	0,04	0,14	0,05	0,17	
GSH-Px (U/ml)	Var	37	1,62	,08	,46	1,40	1,31	2,72	0,509
	Yok	13	1,52	,11	,39	1,37	1,29	2,76	
PON (U/ml)	Var	37	129,44	4,61	28,06	126,12	84,08	180,77	0,288
	Yok	11	139,47	7,16	23,75	142,12	96,69	175,17	

SHS: Somatik hücre sayısı, TBC: Toplam bakteri sayısı, SOD: Süperoksit dismutaz aktivitesi, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz aktivitesi
PON: Paraoksonaz aktivitesi

Çizelge 3.3. Grup I'de en çok üreyen bakteriye göre SHS, TBC, SOD, GSH-Px ve PON değerleri

Parametre	Bakteri	N	Arit. Ort.	Std. Hata	Std. Sapma	Medyan	Minimum	Maksimum	p
SHS (x10 ³ hücre/ml)	<i>S. aureus</i>	21	1935,29	816,09	3739,78	747,00	203,00	13212,00	0,867
	Diğerleri	29	1485,00	368,02	1981,86	503,00	204,00	6077,00	
TBC (kob/ml)	<i>S. aureus</i>	21	904,43	160,52	735,57	527,00	34,00	2495,00	0,731
	Diğerleri	29	803,55	125,52	675,97	659,00	12,00	2476,00	
SOD (U/ml)	<i>S. aureus</i>	21	0,15	0,01	0,06	0,16	0,05	0,27	0,431
	Diğerleri	29	0,14	0,01	0,07	0,16	0,05	0,37	
GSH-Px (U/ml)	<i>S. aureus</i>	21	1,77	0,12	0,56	1,45	1,31	2,72	0,230
	Diğerleri	29	1,47	0,05	0,28	1,38	1,29	2,76	
PON (U/ml)	<i>S. aureus</i>	21	128,61	5,12	23,45	130,15	84,08	177,97	0,475
	Diğerleri	27	134,17	5,78	30,05	127,35	86,36	180,77	

SHS: Somatik hücre sayısı, TBC: Toplam bakteri sayısı, SOD: Süperoksit dismutaz aktivitesi, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz aktivitesi
PON: Paraoksonaz aktivitesi

Çizelge 3.4. Grup bağımsız parametrelerin korelasyonları

Correlations							
			SHS	TBC	GSH-Px	SOD	PON
Spearman's rho	SHS	Korelasyon Katsayısı	1,000				
		p					
		N	100				
	TBC	Korelasyon Katsayısı	0,766**	1,000			
		p	<0,001				
		N	100	100			
	GSH-Px	Korelasyon Katsayısı	0,534**	0,462**	1,000		
		p	<0,001	<0,001			
		N	100	100	100		
	SOD	Korelasyon Katsayısı	0,191	0,183	-0,060	1,000	
		p	0,058	0,069	0,556		
		N	100	100	100	100	
	PON	Korelasyon Katsayısı	-0,297**	-0,293**	-0,334**	-0,150	1,000
		p	0,003	0,004	0,001	0,142	
		N	97	97	97	97	97

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

SHS: Somatik hücre sayısı, TBC: Toplam bakteri sayısı, SOD: Süperoksit dismutaz aktivitesi, GSH-Px: Glutasyon peroksidaz aktivitesi, PON: Paraoksonaz aktivitesi

Çizelge 3.5. Gruplar içinde parametrelerin korelasyonları

Correlations								
Grup				SHS	TBC	GSH-Px	SOD	PON
Spearman's rho	Enfekte	SHS	Korelasyon Katsayısı	1,000				
			p					
			N	50				
		TBC	Korelasyon Katsayısı	0,471**	1,000			
			p	0,001				
			N	50	50			
		GSH-Px	Korelasyon Katsayısı	0,208	0,055	1,000		
			p	0,147	0,703			
			N	50	50	50		
		SOD	Korelasyon Katsayısı	0,040	0,224	0,073	1,000	
			p	0,782	0,119	0,614		
			N	50	50	50	50	
		PON	Korelasyon Katsayısı	-0,034	0,085	-0,177	-0,138	1,000
			p	0,818	0,566	0,229	0,348	
			N	47	47	47	47	47
	Sağlıklı	SHS	Korelasyon Katsayısı	1,000				
			p					
			N	50				
		TBC	Korelasyon Katsayısı	0,433**	1,000			
			p	0,002				
			N	50	50			
		GSH-Px	Korelasyon Katsayısı	-0,109	-0,284*	1,000		
			p	0,451	0,046			
			N	50	50	50		
		SOD	Korelasyon Katsayısı	0,100	0,008	-0,489**	1,000	
			p	0,492	0,954	0,000		
			N	50	50	50	50	
		PON	Korelasyon Katsayısı	0,140	-0,001	-0,121	-0,081	1,000
			p	0,337	0,995	0,407	0,579	
			N	50	50	50	50	50

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

SHS: Somatik hücre sayısı, TBC: Toplam bakteri sayısı, SOD: Süperoksit dismutaz aktivitesi, GSH-Px: Glutatyon peroksidaz aktivitesi, PON: Paraoksonaz aktivitesi

Çizelge 3.6. Subklinik mastitisli ineklerin mikrobiyolojik kültür sonuçları

Örnek No:	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Strep. spp</i>	<i>Bacillus spp</i>	<i>S. hyicus</i>	<i>M. spp</i>
1	x		x			
2		x				
3		x	x			
4	x		x			
5	x		x			
6		x	x			
7		x				
8				x	x	
9	x	x				
10	x	x				
11			x			
12				x		
13				x		
14		x			x	
15			x			
16			x			
17				x		
18		x				
19		x				
20		x		x		
21		x			x	
22		x				
23			x			
24	x					
25		x			x	
26		x				x
27		x	x		x	
28		x				
29		x		x		
30		x			x	
31		x				x
32			x			
33			x			
34				x	x	
35	x	x				
36	x	x				
37	x		x			

E. coli: Escherichia coli, *S. aureus*: Staphylococcus aureus, *Strep spp*: Streptococcus spp, *S. hyicus*: Staphylococcus hyicus, *M. spp*: Micrococcus

3.1.Subklinik Mastitisin Tanısı

3.1.1. Somatik Hücre Sayısı

Grupların belirlenmesinde ve subklinik mastitislerin tanısında yararlanılan somatik hücre sayıları Çizelge 3.1.'in incelenmesinden de anlaşılabacağı üzere grup I için $203,00 \times 10^3$ hücre/ml ile $13212,00 \times 10^3$ hücre/ml arasında değişim göstermektedir. Grup I'in somatik hücre sayısının aritmetik ortalaması $1674,12 \times 10^3$ hücre/ml olarak hesaplandı.

Grup II'nin somatik hücre sayılarının aritmetik ortalaması $36,76 \times 10^3$ hücre/ml olarak hesaplandı, minimum ve maksimum değerler sırasıyla $8,00 \times 10^3$ hücre/ml $139,00 \times 10^3$ hücre/ml şeklindedir (Çizelge 3.1).

Subklinik mastitislerin bir belirteci olarak kullanılan somatik hücre sayıları, çalışmada grup I'de daha yüksektir ve somatik hücre sayıları bakımından farklılık istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlı bulundu ($p < 0,001$).

3.1.2. Toplam Bakteri Sayısı

Süt kalitesinin ve subklinik mastitislerin bir belirteci olarak kabul edilen toplam bakteri sayısı çiğ sütte yöntemde belirtildiği şekilde yapıldı. Toplam bakteri sayısı koloni oluşturan birim/ml (colony forming unit/ml) olarak verilmiştir. Çizelge 3.1'den de anlaşılabacağı üzere grup I'in toplam bakteri sayısı 12,00 – 2495,00 kob/ml aralığında ortalama $845,92 \pm 98,44$ kob/ml olarak hesaplandı. Grup II'nin ortalama toplam bakteri sayısı $63,02 \pm 8,88$ kob/ml olarak bulundu. En yüksek değer 349,00 kob/ml, en düşük değer ise 4,00 kob/ml olarak belirlendi.

Süt kalitesi ve meme hijyeninin belirteçlerinden biri olarak değerlendirilen toplam bakteri sayısının subklinik enfekte kabul edilen ineklerde, sağlıklı olanlara göre daha yüksek çıktığı saptandı ve gruplar arası farklılık istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlı olarak belirlendi ($p<0,001$) (Çizelge 3.1).

3.1.3. Mikrobiyolojik Ekimler

Taze süttten yapılan mikrobiyolojik ekimler sonrasında somatik hücre sayısı 200×10^3 'den yüksek olduğu için enfekte kabul edilen grupta 37 örnekte üreme görülürken, 13 örnekte üreme görülmemiştir. Sağlıklı kabul edilen grupta kontrol amaçlı yapılan ekimlerde, 50 numuneden 3'ünde üreme şekillenirken, üç numunede de çevresel kontaminasyona bağlı bakteri üremeleri izlendi, yapılan tekrar numune alma ve ekim işlemlerinden sonra üreme görülmemiştir. Grup 1 için ekim sonuçları Çizelge 3.6.'da verilmiştir.

Yapılan ekim sonuçlarına göre grup I içinde üreme olan hayvanlarda SOD ve GSH-Px aktivitesi ve PON seviyeleri üreme görülmeyen hayvanlara göre daha yüksek seyrederken, grup içinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Çizelge 3.2).

Yapılan ekim sonucunda en çok üreme gözlenen bakteri *S. aureus* olmuştur. Üreme olan örnekler içinde *S. aureus* ile diğer üremelerin olduğu hayvanlara ait çalışma bulguları karşılaştırıldığında, *S. aureus* üreyen sütlerin SHS, toplam bakteri sayısı, SOD ve GSH-Px ve PON değerlerinin daha yüksek olduğu tespit edildi, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Çizelge 3.3).

3.2.Antioksidan Enzimler

3.2.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)

Çizelge 3.1. incelendiğinde de anlaşılabacağı gibi süt serumunda bakılan SOD aktivitesi U/ml hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır. Biyokimyasal analizler sonucunda grup I için ortalama $0,14 \pm 0,01$ U/ml, minimum ve maksimum değerleri 0,05 ve 0,37 U/ml olarak belirlendi. Grup II’de ortalama SOD değeri $0,13 \pm 0,01$ U/ml olarak ölçüldü. Grup II’de en düşük SOD değeri 0,03 U/ml iken en yüksek değer 0,32 U/ml şeklinde ölçüldü. SOD aktivitesinin grup I’de grup II’ye göre daha yüksek olduğu, ancak aradaki farkın istatistiksel olarak sınırlı anlamlılığa sahip olduğu belirlendi ($p=0,062$).

3.2.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Süt serumunda ölçümleri yapılan GSH-Px aktivitesi de aynı SOD gibi U/ biriminde verilmiş ve karşılaştırılmıştır. Grup I için ortalama GSH-Px aktivitesi $1,59 \pm 0,06$ U/ml olarak bulundu. Grup I için en düşük ve en yüksek değerler sırasıyla 1,29 U/ml ve 2,76 U/ml olarak hesaplandı. Sağlıklı ineklerin ortalama GSH-Px aktivitesi 1,30 – 1,39 U/ml aralığında ortalama $1,33 \pm 0,003$ U/ml olarak hesaplandı. GSH-Px aktivitesinin grup I de daha yüksek bulunduğu, gruplar arası farkın istatistiksel anlamda yüksek düzeyde anlamlı olduğu sonucuna varıldı ($p<0,001$). (Çizelge 3.1)

3.2.3. Paraoksonaz (PON)

Süt numuneleriyle eş zamanlı olarak toplanan kan örneklerinden elde edilen serumlardan incelenen PON düzeyleri grup I için ortalama $131,74 \pm 3,93$ U/ml ve grup II için $152,87 \pm 3,51$ U/ml olarak ölçüldü. G1 için minimum ve maksimum PON

düzeyleri 84,08 ve 180,77 U/ml; G2 için aynı değerler 103,70 ve 220,01 U/ml olarak ölçüldü. Enfekte grubundaki hayvanların PON düzeyleri sağlıklı hayvanlara göre daha düşük olarak bulundu, aradaki fark istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı bulundu ($p<0,001$) (Çizelge 3.1).

3.3.Korelasyonlar

3.3.1. Grup Bağımsız Korelasyonlar

Gruplar göz ardı edilerek süt serum SOD, GSH-Px, somatik hücre ve toplam bakteri sayıları ile kan PON değerlerinin çapraz korelasyonları Çizelge 3.4’ de gösterilmiştir.

Somatik hücre sayısının gruplar gözetilmeksizin toplam bakteri ile pozitif korelasyonunun yüksek düzeyde ilişkili ($r=0,766$), GSH-Px ile pozitif korelasyonunun orta düzeyde ilişkili ($r=0,534$) sonucuna varılmıştır (Çizelge 3.4).

Aynı şekilde gruplar gözetilmeksizin toplam bakteri sayısı yükselirken, GSH-Px yükseldiği ve aralarındaki pozitif korelasyonun orta düzeyde ilişkili olduğu hesaplanmıştır (Çizelge 3.4).

3.3.2. Grup İçi Korelasyonlar

Subklinik mastitisli olduğu kabul edilen grup I’in ve sağlıklı kabul edilen grup II’nin yöntemde bahsedilen GSH-Px, SOD, SHS, Toplam bakteri ve PON değerlerinin grup içi korelasyonları Çizelge 3.5’da belirtilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde grup I içinde somatik hücre sayısının sadece toplam bakteri sayısı ile orta düzeyde ilişkili ($r=0,471$) pozitif korelasyonunun olduğu görülmektedir. Aynı şekilde grup II içindeki karşılaştırmalarda da somatik hücre sayısının yalnızca toplam bakteri sayısı ile orta düzeyde ilişkili ($r=0,433$) pozitif korelasyonu olduğu belirlendi (Çizelge 3.5).

Yapılan analizler ve hesaplamalar sonucunda enfekte kabul edilen grupta toplam bakteri sayısının somatik hücre dışında herhangi bir anlamlı ilişkili korelasyonu bulunmamıştır. Sağlıklı kabul edilen grup içinde ise toplam bakteri sayısı ile GSH-Px (U/ml) arasında düşük düzeyde ilişkili ($r=-0,284$) ve negatif korelasyon görüldü. Çizelge incelendiğinde Grup II içinde GSH-PX ve SOD'un orta düzeyde ilişkili negatif korelasyonu olduğu belirlendi ($r=-0,489$) (Çizelge 3.5).

4. TARTIŞMA

Mastitis tanım olarak meme dokusunun yangısı (SHS'nin yükseldiği ancak patojenin identifiye edilemediği spesifik olmayan mastitisler) ve/veya meme içi enfeksiyon (patojenin tayin edildiği ve SHS'nin yükseldiği) demektir. Mastitis tanısı memenin yangısal durumunu gösteren biyobelirteçlerden yararlanılarak patojen identifikasyonu yapılmadan da konulabilir (Karyak ve ark., 2011). Özellikle subklinik mastitislerin tanısı direkt testler (bakteriyolojik kültür) veya indirekt testler (somatik hücre sayımı, CMT) ile memede meydana gelen yangısal değişimleri ölçen testler ile yapılabilir. İndirekt testlerin en yaygın ve kabul göreni somatik hücre sayısının kantitatif (flow sitometriye dayalı cihazlar ile) ölçülmesidir (Biggs, 2009). Süt somatik hücre sayısını etkileyen en önemli faktör memenin enfeksiyon durumudur (Schukken ve ark., 2003; Lievaart ve ark., 2007; Pantoja ve ark., 2009). Meme içi enfeksiyon şekillendiğinde somatik hücre sayısında ciddi bir artış görülmektedir (Pantoja ve ark., 2009) Günümüzde bakteriyolojik kültürler genellikle somatik hücre sayımı sonrası enfekte hayvanlarda etkeni belirlemek için kullanılmaktadır (Biggs, 2009). Yapılan araştırmalar özellikle *S. agalactiae* ve *S. aureus*'a bağlı şekillenen mastitislerde, enfeksiyonun fizyopatolojisinde yer alan dönem dönem sütle yayılma ve derin dokuya yerleşme eğiliminden dolayı,ütün bakteriyolojik incelemelerinde üreme görülmeyebilir (Harmon, 1994).

Sunulan çalışmada grupların belirlenmesinde dört meme lobundan eşit olacak şekilde 7-10 gün arayla alınan iki süt numunesinde yapılan somatik hücre sayımından yararlanılmıştır. Yukarıda anlatılan literatür bilgileri ışığında her iki ölçümde de 200×10^3 hücre/ml'den yüksek çıkan hayvanlar subklinik mastitisli kabul edilirken, her iki ölçümde 150×10^3 hücre/ml'den düşük çıkan hayvanlar sağlıklı kabul edilmiştir. Yapılan çalışmada somatik hücre sayısına göre gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak çok yüksek düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p < 0,001$). Gruplar arası somatik hücre sayılarının farkı, gruplar arası karşılaştırmalar için önem taşımaktadır.

Örnek alınması sırasında memenin yıkanmaması, uygun daldırma solüsyonlarının kullanılmaması süt toplam bakteri sayısını yükseltmektedir (McKinnon ve ark., 1988). Bu anlamda örnek alımı sırasında ilgili asepsi antisepsi kurallarına dikkat edilmiştir. Araştırmacılara göre subklinik mastitisli ineklerin süt toplam bakteri sayısı, sağlıklılardan daha yüksektir (Biggs, 2009; Baştan, 2013; Vural ve ark., 2016). Çalışmanın toplam bakteri sayımı bulguları literatür bilgi ile uyumlu niteliktedir. Subklinik mastitisli ineklerin süt toplam bakteri sayısı sağlıklı ineklerinkine göre daha yüksek ve aradaki fark istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı bulundu ($p<0,001$).

Farklı araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda somatik hücre sayısı ile toplam bakteri sayısı arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (Lopez Junior ve ark., 2012; Çolakoğlu ve ark., 2017). Olechnowicz ve Jaskowski (2012) yaptıkları araştırmada toplam bakteri sayısındaki artışın, somatik hücre sayısında artışa neden olduğu bildirilmiştir. Sunulan çalışma diğer çalışmalar ile benzer sonuçlar taşımaktadır. Sağlıklı ve enfekte inekler arasındaki toplam bakteri sayısındaki değişim istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlıdır ($P<0,001$), aynı zamanda somatik hücre sayısı ve toplam bakteri sayısı arasındaki pozitif korelasyon istatistiksel olarak yüksek düzeyde ilişkili bulundu ($r=0,766$).

Süt ineklerinde oksidatif stres, mastitis gibi enfeksiyöz bazı hastalıklarla ilişkilidir (Erskine ve ark., 1987). Mastitisler sütte serbest radikallerin oluşumunu hızlandırabilir ve oksidatif strese yol açabilir (Gu ve ark., 2009). Bu durum özellikle erken laktasyondaki ineklerde karşılaşılmaktadır (Castillo ve ark., 2005; Sordillo ve ark., 2007). Subklinik ve klinik mastitisler sütte artan serbest oksijen radikalleri, artan total oksidan kapasitesi ve azalan total antioksidan kapasitesi ile ilişkilidir (Atakisi ve ark. 2010). Sütteki antioksidan enzimler memenin oksidatif durumunun değerlendirilmesinde önemli belirteçlerdir (Andrei ve ark., 2011).

GSH-Px serbest radikallerin kontrolünde görev alan başlıca enzimlerdendir (Hamed ve ark., 2008). Peroksitlerin indirgenmesini glutatyon peroksidaz katalizleyerek, hücreleri oksidatif hasardan ve süt lipidlerini oksidasyondan korur (Esworthy ve ark., 1993; Abd Allah ve ark., 2007). GSH-Px nötrofillerin ve makrofajların etkinliklerini olumlu yönde etkiler. Özellikle lökositlerin fagositozu sırasında GSH-Px'ler kullanılır ve ortamdaki GSH-Px aktivitesi azalmaktadır (Serfass ve Ganther, 1976). Mastitislerde yangısal yanıt şekillendiğinde süte özgü birçok enzim aktivitesinde değişiklikler gözlenir (Baştan, 2013).

Fagositoz sırasında antibakteriyel etkinliğinden faydalanmak için süperoksit gibi reaktif oksijen türleri sentezlenir (Andrei ve ark., 2011). GSH-Px lipid hidroperoksitleri indirgeyerek antioksidan özelliği gösteren bir enzimdir. GSH-Px sütü oksidatif değişikliklerden korumaktadır (Bhattacharya ve ark., 1988). İneklerde süt GSH-Px aktivitesi ve fonksiyonu hakkındaki bilgilerimiz sınırlı olmakla birlikte (Chen ve ark., 2000), süt GSH-Px aktivitesi ırk ve beslenmeye göre farklılık gösterdiği bilinmektedir (Fox ve Kelly, 2006). GSH-Px aktivitesi sütte ROS birikmesinin bir belirteci olarak değerlendirilmektedir (Gartner., 2009).

Süt GSH-Px aktivitesinin sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerdeki değişimi günümüzde tartışmalıdır. Hogan ve ark. (1993) yaptıkları çalışmada fazla miktarlarda salınan serbest radikallerin enzim aktivitelerini inhibe etmesine bağlı olarak yüksek somatik hücre sayısının düşük GSH-Px aktivitesiyle ilişkili olduğu belirtmişlerdir. Yapılan araştırmalar incelendiğinde bazı araştırmacılar subklinik mastitislerde süt GSH-Px aktivitesinin yükseldiğini savunurken, bazı araştırmalar bunun tam tersini söylemektedir. Andrei ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada subklinik mastitisli sütlerde GSH-Px aktivitesinin sağlıklılara göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Sharma ve ark. (2016) ile Çolakoğlu ve ark. (2017)'nin çalışmaları incelendiğinde ise süt GSH-Px aktivitesinin sağlıklı hayvanlarda daha yüksek olduğu görülmektedir. Matei ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada mastitisli sütlerde GSH-Px aktivitesinin, sağlıklı süte göre yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Sharma ve ark. (2016) ineklerde ve mandalarda subklinik ve klinik mastitislerde süt glutatyon peroksidaz aktivitesini araştırmışlar, subklinik mastitisli hayvanlarda süt GSH-Px aktivitesinin sağlıklılara göre daha düşük

seyrettiğini bildirmişlerdir. Yang ve ark. (2011) ise normal sütteki, GSH-Px aktivitesinin, subklinik mastitisli süttekinden daha yüksek olduğunu, bunun nedeninin lipid peroksidaz aktivitesindeki değişimle alakalı olabileceğini bildirmişlerdir. Erişir ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada subklinik mastitisli ineklerin süt GSH-Px aktivitesinin sağlıklılara göre daha düşük olduğunu, ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirtmişlerdir. Bu azalmanın nedeninin mastitisin derecesine göre süt glutatyon değerinin azalmasına ve yangıya bağlı olarak şekillenen serbest radikallere bağlı olarak antioksidan kullanımının artmasına bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. İncelenen araştırmalar ışığında subklinik mastitisli ineklerin süt GSH-Px aktivite seviyelerinin sağlıklı ineklere göre değişimi hakkında ortak bir kanı olmadığı, konunun bilimsel anlamda tartışmaya açık olduğu görülmüştür.

Sunulan tez çalışmasında subklinik enfekte ineklerin sütündeki GSH-Px aktivitesi (U/ml), sağlıklı grubuna göre daha yüksek bulundu, fark istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı olarak belirlendi ($p<0,001$). GSH-Px in toplam bakteri ve somatik hücre sayısı ile anlamlı pozitif korelasyonu ($r=0,534$ ve $0,462$) bulundu. Tank sütü somatik hücre sayısı ve GSH-Px aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada araştırmacılar somatik hücre sayısı ve GSH-Px aktivitesi arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Somatik hücre sayısı yükseldikçe artan GSH-Px aktivitesinin sütte artan serbest radikallere ve çoklu doymamış yağ asitleriyle ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir (Hamed ve ark., 2008). Sunulan çalışmadaki sonuçlar benzer niteliktedir. Subklinik mastitisli sütlerdeki GSH-Px yükselmenin birden fazla nedeni olabileceği düşünüldü. Sütte bulunan glutatyon peroksidaz enziminin dolaşım yoluyla memeye gelip süte geçtiği düşünülmektedir. Yapılan araştırmalar mastitisli ineklerin kanındaki GSH-Px ve SOD değerlerinin azaldığını göstermektedir (Atroshi ve ark., 1986; Erskine ve ark., 1987; Şimşek ve Aksakal, 2005, Karyak ve ark., 2011). Mir ve ark. (2017)'nin yaptığı çalışmada kan serumu GSH-Px seviyesi subklinik mastitisli ineklerde sağlıklılara göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Bu literatür bilgileri eşliğinde, süt GSH-Px enzim seviyesindeki yükselmenin bir nedeninin de kandan süte artan geçiş olabileceği düşünüldü, ancak çalışmada kan serumu GSH-Px seviyeleri araştırılmadığı için kesin sonuca varılamadı.

Subklinik mastitislerde, kazeinin hidrolizi sonucu enzim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Andrei ve ark., 2012). Bazı mastitis etkenleri oksidatif strese adaptasyon sırasında glutatyon peroksidaz seviyesini yükseltebilmektedir. Fagositoz sırasında antibakteriyal aktivitesinden yararlanmak için hücreler süperoksit sentezlerler. Enfeksiyondan sorumlu bakteriler de bu mekanizmadan korunmak için SOD, GSH-Px ve katalaz gibi enzimlerini sentezledikleri bildirilmiştir (Matei ve ark., 2011). Yapılan çalışmalarda başta *Strep. agalactiae* olmak üzere bazı bakterilerin glutatyon peroksidaz da sentezlediği bildirilmiştir (Andrei ve ark., 2011; Matei ve ark., 2011). Süt GSH-Px seviyesindeki artışın bir nedeninin de kazeinin hidrolizine ve/veya mastitis şekillendiren patojenin savunma mekanizmasına bağlı olabileceği düşünüldü.

Süt somatik hücre sayısı memede meydana gelen yangısal değişimi izlemek için kullanılmaktadır (Babaei ve ark., 2007). Yapılan araştırmalarda sütün oksidatif dengesinde süperoksit dismutaz (SOD)'ın önemli bir rolü olabileceği bildirilmiştir (Holbrook ve Hicks, 1978). Sütte SOD varlığı ilk defa Hicks ve ark. (1975) tarafından bildirilmiştir. Süt SOD aktivitesi inek ırklarında farklılık göstermekle birlikte (Holbrook ve Hicks, 1978; Lindmark-Mansson ve Akesson, 2000), ineğin yaşı, laktasyon dönemi ve somatik hücre sayısından etkilenmediği düşünülmektedir (Przybylska ve ark., 2007).

Artan reaktif oksijen türleri ve azalan antioksidan seviyesine bağlı olarak oksidatif denge bozulur ve oksidatif stres şekillenir (Andrei ve ark., 2010; Sordillo, 2018; Mavangira ve Sordillo, 2018). Artan bu ROS'lar DNA, doku ve hücre hasarına neden olur (Lykkesfeldt ve Svendsen, 2007). ROS'ların bu etkileri enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar tarafından hücresel savunma mekanizmalarıyla nötralize edilir (Polawska ve ark., 2012). Kanda veya sütte enzim aktivitesindeki değişim hücresel hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkar (Bogin ve ark., 1977). ROS'lar aynı zamanda nötrofillerin antibakteriyel fonksiyonlarını arttırıcı özelliktedir (Rinaldi ve ark., 2007). Oksidatif stres mastitis, metritis gibi enfeksiyonal hastalıklarla ilişkilidir (Castillo ve ark., 2005).

Sütteki antioksidan enzimler kan plazmasından, sekretorik hücre zarlarından, süt yağ globüllerinin zarlarından ve somatik hücrelerden köken alır (Fox ve Kelly, 2005), ancak süte geçişleri ve sütteki seviyeleri ırk ve türler arasında değişim göstermektedir (Fox, 2003). Antioksidan enzimlerin salınımı lökositlere bağlı olduğu için SHS'deki yükselmeyle birlikte antioksidan enzimlerin seviyesinin de yükselmesi beklenir (De ve Mukherjee, 2011). Sunulan çalışmada SOD ve GSH-Px seviyelerinin literatür bilgiyle uyumlu şekilde subklinik enfekte ineklerde daha yüksek olduğu belirlendi. GSH-Px ve SOD antioksidan defans mekanizmasının ana enzimleridir (Celi, 2013). Superoksit dismutaz polimorfo nükleer nötrofillerin oksidatif fonksiyonlarıyla ilgili bir enzimdir (Kelly ve Fox, 2006). Superoksit anyonunu (serbest radikal) hidrojen peroksit'e çevirir (Pruchniak ve ark., 2015). SOD prooksidanlara karşı savunma sisteminin ilk basamağının bir parçasıdır (Halliwell ve Chirico, 1993). Genel olarak kanda aktivitesi artan antioksidan enzimlerin vücut sıvılarında da artması beklenir (Andrei ve ark., 2011). Süt SOD aktivitesi farklı hayvan türlerinde çalışılmıştır. Darbaz ve ark. (2019) keçilerde yaptıkları çalışmada subklinik mastitisli sütlerin SOD aktivitesinin azaldığını ve SCC ile korelasyonu olduğunu bildirmiştir. Mandalarda yapılan bir çalışmada subklinik mastitislerde süt SOD aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir (Dimri ve ark., 2013).

Sunulan çalışmada süt serumu SOD aktivitesi sağlıklı ineklerde $0,13 \pm 0,01$ U/ml, subklinik mastitisli ineklerde $0,14 \pm 0,01$ U/ml olarak bulundu. Enfekte ineklerdeki süt SOD aktivitesinin daha yüksek oluşu istatistiksel olarak sınırda anlamlı olarak değerlendirildi ($p=0,062$). Yang ve ar. (2011) yaptığı çalışmada subklinik mastitisli sütteki SOD aktivitesinin daha düşük olduğunu ancak farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını bildirmiştir. Andrei ve ark. (2010) ise yaptıkları çalışmada subklinik enfekte sütlerde SOD aktivitesinin daha yüksek olduğunu, ancak bu yüksekliğin somatik hücre sayısı ile ilişkisi olmadığını, korelasyon bulamadıklarını bildirmiştir. Sunulan çalışma literatürler ile benzer sonuçlar içermektedir, süt SOD aktivitesi subklinik enfekte ineklerde daha yüksek bulunmuş ancak istatistiksel olarak sınırlı anlamlılıktadır, ayrıca somatik hücre sayısı ile korelasyon belirlenmemiştir. Süt SOD aktivitesinin süttün yalnızca serum fazında olduğunu, yağ fraksiyonunda herhangi bir enzim aktivitesi olmadığı, bakteri ve somatik hücre kökenli SOD enziminin

elektroforetik özelliklerine göre aynı olduğu bildirilmiştir (Rizzo ve ark., 2012). Holbrook ve Hicks (1978) çalışmalarında süt SOD aktivitesinin bakteri mi somatik hücre mi kökenli olduğunu belirleyememişlerdir. Yapılan analizlerdeki süt SOD aktivitesinin bakteri ve somatik hücre kökenli toplam aktiviteyi yansıttığı için SHS ile arasında bir korelasyon belirlenemediği düşünüldü. Bu literatür bilgileri ışığında her ne kadar SOD aktivitesinin gruplar arası farkı sınırlı anlamlılıkta çıksa da süt SOD aktivitesinin subklinik mastitislerdeki değişiminin belirsizlik gösterdiği kanısına varıldı.

Yapılan çalışmada süt SOD aktivitesinin SHS ile ilişkisinin olmayışı, PMN'lerin düşük süperoksit anyon salınımıyla ilişkili olduğunu düşündürmüştür. Yüksek somatik hücre sayısına bağlı şekillenen oksidatif stres, antioksidan savunma sisteminin ilk kısmını es geçerek ve şekillenen serbest radikallerin SOD ile etkileşimi gerekmez (Dimri ve ark., 2013). *E. coli* tarafından aktive edilen PMN'lerin oksijen radikalleriyle meme epiteline zarar verdiğini, SOD'un bu radikallerin sitotoksik etkilerini engelleyemediği yapılan in vitro çalışmada bildirilmiştir (Boulanger ve ark., 2002).

Son 20 yılda paraoksonaz aktivitesiyle ilgili farklı konularda çalışmalar yapılmıştır. Turk ve ark., (2004, 2005a) gebeliğin ve laktasyonun farklı dönemlerinde PON aktivitesinin değişimi araştırmışlardır. Metritis, erken postpartum dönem, uterus enfeksiyonları gibi çeşitli reproduktif hastalıklar ve dönemlerde PON aktivitesi incelenmiştir (Bionaz ve ark., 2007; Schneider ve ark., 2013). İneklerde yağlı karaciğerin tanısında PON-1'in biyomarker olarak kullanımı incelenmiştir (Farid ve ark., 2013). Castro ve ark. (2018) PON1 aktivitesinin foliküler gelişime ve gebelik oranlarına etkisini araştırmıştır. Özetle PON aktivitesi ve mekanizması özellikle süt ineklerinde hala tam olarak anlaşılmamış ve popülerliğini koruyan bir konudur.

Sunulan tez çalışmasında enfekte grubunda yapılan mikrobiyolojik incelemelerde 37 sütte bakteriyel üreme tespit edildi. İdentifikasyondan sonra en çok üreyen bakterinin *S. aureus* olduğu görüldü. İstatistiksel olarak anlamlı sayıyı

yakalamak için tür bazında karşılaştırma yapılmadı, yöntemde anlatılan parametreler üreme var-yok ve *S. aureus* üreyenler ve diğerleri şeklinde karşılaştırmaya gidildi. Sonuçlar incelendiğinde SOD, GSH-Px ve PON aktivitelerinin genel sonuçlar ile benzer seyrettiği ancak istatistiksel olarak anlamlı değişimin olmadığı görüldü. Numune sayısının bakteri ve üreme bazında az oluşu istatistiksel anlamlılığını etkilediği için farkın istatistiksel anlamlılık teşkil etmediği kanısına varıldı.

Paraoksonaz karaciğerde sentezlenip kana salınan antioksidatif ve antienflamatuvar özellikte bir enzimdir (Mackness ve ark., 1996; Silveira ve ark., 2019). PON antioksidan ve antienflamatuvar özelliği olan ve oksidatif stres şekillendiğinde serum aktivitesi azalan bir enzimdir (Turk ve ark., 2013). Bazı araştırmacılara göre enfeksiyon durumunda kan serumu PON seviyesinde azalma gözlemlendiği için negatif akut faz proteini olarak değerlendirilmektedir (Cabana ve ark., 2003; Bionaz ve ark., 2007; Campos ve ark., 2017). PON aynı zamanda lipid metabolizmasında da görev almaktadır. Lipid hidroperoksitlerin formasyonunda görev alarak oksidatif stresin şekillenmesine karşı savunma görevindedir (Mackness ve ark., 2000).

Meme dokusunun bakteriyel enfeksiyonu sırasında, etken mikroorganizmanın salgıladığı toksinler epitel hücrelerini ve lökositleri aktive ederek yangı mediyatörleri salınır ve etkilenen bölgeye fagositoz için polimorfo nükleer lökosit (PMN) ve makrofaj göçü başlar (Paape ve ark., 2003). Yangısal yanıt sırasında özellikle lökositler ve makrofajlar ROS üreterek bakteriyel eliminasyona katkıda bulunurlar, ortamda biriken ROS çevre hücrelere zarar verir (Pham, 2006). Ortamda biriken ROS'a bağlı olarak oksidatif stres şekillenir ve lipid hidroperoksit gibi diğer oksidatif stres ürünleri de hücre ve doku hasarına neden olur (Ryman ve ark., 2015).

Mastitislerin patogenizinde enfeksiyon bölgesinde yangısal yanıtla bağlı olarak salgılanan sitokinler de yer almaktadır (Eckersall ve ark., 2006). Bakterilerin toksinleri süt üreten hücrelere çeşitli derecelerde hasar verir. İmmun yanıt bu noktada gereklidir

ve pro-inflamatuar sitokinlerde hızlı bir yükselmeye birlikte oksidatif stres görülür (Turk ve ark., 2012a).

Proinflamatuar sitokinler başlıca karaciğer olmak üzere meme dokusu da dahil birçok farklı dokuda üretilen akut faz proteinlerin sentezini uyarır (Eckersall ve ark., 2006). Serum amiloid-A (SAA) ruminantların başlıca akut faz proteinlerinden biridir. Akut faz yanıt sırasında, SAA hızlı bir şekilde HDL ile etkileşime girerek, HDL'lerdeki apo A-1 lerle yer değiştirerek ortamdaki baskın apolipoprotein (apo SAA) olur. Normal şartlarda HDL antioksidan ve anti-inflamatuvar özellikte paraoksonaz 1 (PON1) ihtiva eder. HDL'lerdeki SAA seviyesindeki yükselmeye beraber PON1 seviyesi azalır. Böylece anti-inflamatuar rolündeki HDL akut faz HDL (AP-HDL) dönüşerek pro-inflamatuar parçacığına dönüşür (Van Lenten ve ark., 1995). Apolipoprotein A-II HDL'nin ikinci majör proteinidir. HDL'deki apolipoprotein A-II artışı, lipoprotein antioksidan özelliğinin azalmasına ve PON1 in yer değiştirmesine neden olduğu bildirilmiştir (Ribas ve ark., 2004).

Yapılan çalışmada subklinik mastitisli ineklerde serum PON düzeyi $131,74 \pm 3,93$ U/ml, sağlıklı ineklerde $152,87 \pm 3,51$ bulundu. Biyokimyasal analizler ve istatistik sonuçlarına göre PON aktivitesi subklinik mastitislerde düşüş göstermekte ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirildi. Bu sonuçlar güncel literatürler ile uyumludur (Turk ve ark., 2012a; Kovacic ve ark., 2019; Nedic ve ark., 2019) Nedic ve ark. (2019) yaptıkları çalışmalarda subklinik mastitislerde serum PON aktivitesinin enfeksiyona bağlı azaldığını bildirmişler, sunulan çalışma bu literatürler ile benzer sonuçlar içermektedir. Aynı zamanda PON aktivitesi ile somatik hücre sayısı ($r=-0,297$) ve toplam bakteri sayısı ($r=-0,293$) arasında negatif korelasyon belirlendi. Bu korelasyonlar PON aktivitesinin subklinik mastitislerde negatif akut faz proteini olarak değerlendirilebileceğini ve PON aktivitesinin memenin yangısını gösteren bir belirteç olarak ve meme sağlığının izlenmesinde kullanılabileceğini düşündürdü. Ayrıca, serum PON aktivitesi ile süt GSH-Px aktivitesi arasında negatif korelasyon ($r=-0,334$) saptandı. Bu ilişki göz önünde bulundurularak memenin antioksidan sisteminin subklinik mastitislerde sistemik olarak etkilendiğinin bir

göstergesi ve PON aktivitesinin memenin oksidatif durumunun değerlendirilmesinde bir belirteç olabileceği kanısına varıldı.

Elde edilen sonuçlara göre PON aktivitesindeki azalmanın birkaç farklı nedeni olabileceği düşünüldü. Bu nedenler:

- 1) Meme dokusunda artan serbest radikallerin üretimi ve şekillenen oksidatif stres
- 2) Memede yangısal yanıtla bağlı görülen lipid peroksidasyonundaki artış

Özellikle erken laktasyon döneminde meme dokusundaki epitel hücrelerin metabolik aktivitesinin yüksekliğiyle birlikte enfeksiyon şekillendiğinde, serbest radikallerin üretiminde hızlı bir artış görülür (Jin ve ark., 2014). Farklı alanlarda yapılan araştırmalarda PON seviyesinin serbest radikal seviyesiyle olan ilişkisi ortaya konmuştur. İnsanlarda gebelikte ve preeklampsiyada PON aktivitesini çeşitli araştırmalarda incelenmiştir. Preeklampsiyada PON aktivitesinin düştüğü ve bunun nedeninin serbest radikallerin fazla üretimine bağlı olduğu bildirilmiştir (Kumru ve ark., 2004, Uzun ve ark., 2005). Ayrıca Badekıran ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada gebeliğin farklı dönemlerinde ve güç doğumlarda PON aktivitesini araştırmışlar, serbest radikal üretimine bağlı olarak PON1 aktivitesinde azalma olabileceğini bildirmişlerdir. Bir çalışmada geçiş dönemindeki ineklerde oksidatif stresin PON1 aktivitesi üzerine etkileri araştırılmış, azalan PON-1 aktivitesinin total antioksidan kapasitesinde düşüşe yol açabileceğini bildirilmiştir (Turk ve ark., 2008). Sunulan çalışmada subklinik mastitislerdeki serum PON düzeyindeki azalmanın bir nedeninin de şekillenen oksidatif stres ve artan serbest radikallerin üretimi olabileceği düşünüldü.

Bionaz ve ark. (2007) yangısal yanıtın PON1 aktivitesinde azalmaya yol açabileceğini bildirmiştir. HDL ve LDL'de oksidatif strese bağlı olarak lipid peroksidasyonu görülmektedir. PON1'in LDL ve HDL'yi oksidasyondan koruduğu bildirilmiştir. PON1'in antioksidan etkisini HDL aracılığıyla gerçekleştirdiği düşünülmektedir (La Du, 1996). Yapılan bir araştırmada PON-1, lipoproteinlerdeki

(LDL ve HDL) lipid peroksitleri hidrolize ettiği için, lipid peroksidasyonundaki artış, serum PON1 aktivitesinde azalmaya yol açabileceği bildirilmiştir (Aviram ve ark., 1999). Chipilev ve ark. (2017) yaptıkları çalışmada subklinik mastitisli ineklerin sütünde lipid peroksitlerin ve lipid peroksidasyon belirteçlerinden biri olan malondialdehit (MDA) miktarında artış görüldüğünü bildirmiştir. Bu literatür bilgiler ışığında subklinik mastitislerde serum PON seviyesindeki azalmanın bir nedeninin de yangısal yanıt sonucu artan lipid peroksidasyonu olabileceği kanısına varıldı.

PON antioksidan enzimlerden biri olduğu için subklinik mastitisler sırasındaki düşük aktivite seviyesi, mastitislerin patogenizinde oksidatif stresin yer aldığının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Araştırmacılar yaptıkları bir çalışmada paraoksonazın klinik mastitislerin patogenizinde yer alan oksidatif stresin bir göstergesi ve negatif akut faz proteini olarak değerlendirilebileceğini bildirmişlerdir (Turk ve ark., 2012b). Mastitislerde düşük antioksidan seviyeleri ve artan oksidatif stres daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Ranjan ve ark., 2005; Atakisi ve ark., 2010). İneklerde düşük PON seviyelerinin periparturient dönemde karaciğer hipertrofisinde (Turk ve ark., 2004; Turk ve ark., 2005b) oksidatif stres ve akut faz yanıtı gösterdiği bildirilmiştir.

Subklinik mastitisli ineklerde kan serumu PON seviyesindeki azalma, subklinik meme içi enfeksiyon sırasında sistemik olarak yangısal yanıtın ve oksidatif stresin etkilerinin görüldüğünün bir göstergesi olabileceği kanısına varıldı. Turk ve ark. (2012a) yaptıkları çalışmada klinik ve subklinik mastitisler ile sistemik akut faz yanıt ilişkisi araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre subklinik ve klinik mastitislerde serum PON aktivitesinin azaldığı, akut faz yanıtın HDL'den PON1 ve platelet aktive edici faktör – ah eksilmesine bağlı şekillendiğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda PON1 aktivitesinin serum amiloid A'ya göre daha hassas bir mastitis belirteci olabileceğini belirtmişlerdir (Turk ve ark., 2012a). Bazı araştırmacılar PON1 aktivitesinin memenin yangısıyla ilişkili antioksidan etkili bir mediyatör olabileceği, erken laktasyon döneminde klinik mastitislerin tanısında PON aktivitesinin tanıya yardımcı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Deveci ve ark., 2017) Sunulan çalışma bulguları ve desteklenen literatür bilgileriyle birlikte kan serum PON aktivitesinin süt

ineği işletmelerinde subklinik mastitislerin tanısında biyokimyasal belirteç olarak potansiyeli olduğu kanısına varıldı.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışmasında laktasyonun ilk 100 günündeki Holstein ineklerde subklinik mastitiste süt SOD ve GSH-Px aktivitesi, serum PON aktivitesinin değişimi ve diğer bulgular değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir.

Sonuçlar:

1. Subklinik mastitisli ineklerde serum PON aktivitesinin sağlıklı ineklere göre daha düşük, süt GSH-Px aktivitesinin daha yüksek seyrettiği,
2. Süt SOD ve GSH-Px aktivitelerindeki değişim subklinik mastitiste memenin antioksidan sisteminin etkilendiğinin ve oksidatif stresin şekillendiğinin bir göstergesi olduğu
3. Memede şekillenen oksidatif strese bağlı olarak PON aktivitesi ile süt somatik hücre ve toplam bakteri sayısı ile GSH-Px aktivitesi arasında negatif korelasyonun olduğu sonucuna varıldı.

Öneriler:

1. Subklinik mastitislerin patogenezinin ve meme immunitésinin daha iyi anlaşılması için PON aktivitesi hakkında daha detaylı çalışmalar yapılmalıdır.
2. Özellikle laktasyonun ilk 100 gününde şekillenen subklinik mastitislerde antioksidan sistemin etkilendiği için, meme immunitésini destekleyecek yaklaşımların bu dönemdeki subklinik mastitislerin görülme oranını düşürecektir.
3. Laktasyonun ilk 100 gününde şekillenen subklinik mastitislerin patogenizin daha iyi anlaşılması için oksidatif stresin ve memenin antioksidan mekanizmalarının daha detaylı araştırılması önerilmektedir.

ÖZET

Süt İneklerinde Laktasyonun İlk 100 Gününde Şekillenen Subklinik Mastitislerde Somati Hücre ve Toplam Bakteri Sayısı ile Bazı Antioksidan Maddelerin Araştırılması

Sunulan bu doktora tez çalışmasının amacı; süt somatik hücre sayısı, toplam bakteri sayısı ile serum paraoksonaz, süt glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz düzeyleri arasındaki ilişkiyi, bu parametrelerin rolünü laktasyonun ilk 100 günündeki subklinik mastitisli ineklerde araştırmaktır.

Çalışmanın hayvan materyalini; Ankara ilinde üretim yapan bir sütçü çiftlikte yetiştirilen inekler oluşturdu. Çiftlik kayıtlarına göre geçmişinde klinik olarak herhangi bir sağlık problemi olmayan, yaş ve vücut kondisyonları benzer olan en az bir doğum yapmış, laktasyonunun ilk 100 gününde olan, aynı şartlarda barındırılan ve dönemine uygun beslenme programı takip edilen, aynı kuru dönem süresi ve tedavisi görmüş 100 adet Holstein sütçü inek çalışmada kullanılmıştır. Süt somatik hücre sayısı 7-10 gün arayla yapılan iki ölçümde de 150×10^3 'ün altında olan inekler sağlıklı ($n=50$) kabul edilirken, 200×10^3 'ün üstünde olan inekler subklinik enfekte ($n=50$) kabul edildi.

Subklinik mastitisli ineklerde serum PON aktivitesin sağlıklı ineklere göre daha düşük seyrettiği ($p<0,001$), süt GSH-Px aktivitesinin ise enfekte ineklerde daha yüksek olduğu ($p<0,001$) belirlendi. Süt SOD ve GSH-Px aktivitelerindeki değişim subklinik mastitiste memenin antioksidan sistemin etkilendiğini ve oksidatif stresin şekillendiği, memede şekillenen oksidatif strese bağlı olarak kan PON aktivitesi ile süt somatik hücre ve toplam bakteri sayısı ve GSH-Px aktivitesi arasında negatif korelasyonun olduğu sonucuna varıldı.

Sonuç olarak subklinik mastitislerin tanısında bir belirteç ve memenin antioksidan durumunun değerlendirilmesinde serum PON aktivitesinden yararlanılabileceğine ve özellikle laktasyonun ilk 100 gününde şekillenen subklinik mastitislerin patogenezinin daha iyi anlaşılması için oksidatif stresin ve memenin antioksidan mekanizmalarının önemine dikkat çekildi.

Anahtar Sözcükler: Glutatyon peroksidaz, inek, paraoksonaz, subklinik mastitis, süperoksit dismutaz

SUMMARY

Investigation of Milk Somatic Cell Count, Total Bacteria Count and Some of Antioxidant Enzyme Levels in Subclinical Mastitis in Dairy cows at First 100 days of Lactation

The purpose of this study is; to investigate relationship between milk somatic cell count, total bacteria count, milk glutathione peroxidase and superoxide dismutase levels, to identify the role of these parameters in subclinical mastitis at cows in the first 100 days of lactation.

Animal material of this study consists of 100 Holstein dairy cows which are raised in a farm in Ankara province. According to farm records, cows which had no clinical signs of any illness, had no clinical and chronic health problems in the past, had at least given birth once, had similar body condition score and dry of therapy. Selected animals were hosted under same conditions and had suitable feeding regimen for appropriate period and were in the first 100 days of lactation. Cows which have less than 150×10^3 somatic cell counts in two different analysis which performed 7-10 days apart considered as healthy ($n=50$), and which have 200×10^3 somatic cell counts in two different counts performed 7-10 days apart considered as subclinical mastitis ($n=50$).

Serum PON activity was lower in cows with subclinical mastitis than healthy ones ($p<0,001$), and milk GSH-Px activity was higher in subclinical mastitis ($p<0,001$). It was concluded that the changes in milk SOD and GSH-Px levels are affected by the antioxidant system of the udder in subclinical mastitis, that formed oxidative stress and because of that serum PON and milk somatic cell and total bacteria have negative correlation.

In conclusion, it was pointed out that serum PON activity can be used as a marker in the diagnosis of subclinical mastitis and evaluation of the antioxidant status of the udder. Also, it was stood out to importance of udder antioxidant mechanisms to understand pathogenesis of subclinical mastitis especially occurs in first 100 days of lactation.

Keywords: Cow, glutathione peroxidase, paraoxonase, subclinical mastitis, superoxide dismutase

KAYNAKLAR

- ABD ELLAH MR (2013). Role of free radicals and antioxidants in mastitis. *Journal of Advanced Veterinary Research*, **3**: 1-7.
- ABD ELLAH MR, OKADA K, YASUDA J (2007). Oxidative stress and bovine liver diseases: Role of glutathione peroxidase and glucose6-phosphate dehydrogenase. *Japanese Journal of Veterinary Research*, **54(4)**: 163-173.
- ANDREI S, MATEI S, ZINVELIU D, PINTEA A, BUNEA A, CIUPE S, GROZA I (2010). Correlations between antioxidant enzymes activity and lipids peroxidation level in blood and milk from cows with subclinical mastitis. *Bulletin of UASVM*, **67(1)**: 6-10.
- ANDREI S, MATEI S, FIT N, CERNEA C, CIUPE S, BOGDAN S, GROZA IS (2011). Glutathione peroxidase activity and its relationship with somatic cell count, number of colony forming units and protein content in subclinical mastitis cows milk. *Romanian Biotechnological Letters*, **16(3)**: 6209-6217.
- ANONİM 1 (2020). Patho-Biology of Mastitis. Erişim Adresi: [https://www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/programs/nyschap/modules-documents/patho-biology-mastitis]. Erişim Tarihi: 29/9/2020.
- ARMSTRONG D (2008). Advanced protocols in oxidative stress I. Human Press, Herts, UK.
- ASLANKOC R, DEMIRCI D, INAN U, YILDIZ M, OZTURK A, CETIN M, SAVRAN ES, YILMAZ B (2019). Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü – süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx). *Med J SDU*, **26(3)**: 362-369.
- ATAKİŞİ O, ORAL H, ATAKİŞİ E, MERHAN O, PANCARCI SM, ÖZCAN A, MARAŞLI S, POLAT B, ÇOLAK A, KAYA S (2010). *Research in Veterinary Science*, **89(1)**: 10-13.
- ATROSHI F, PARANTAINEN J, SANKARI S, OSTERMAN T (1986). Prostaglandins and glutathione peroxidase in bovine mastitis. *Research in veterinary science*, **40(3)**: 361-366.
- AVIRAM M, ROSENBLAT M, BILLECKE S, EROGUL J, SORENSON R, BISGAIER C, NEWTON R, LA DU B (1999). Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med*, **26**: 892-904.
- BABAEI Hİ MANSOURI-NAJAND L, MOLAEI MM, KHERADMAND A, SHARIFAN M (2007). Assesment of lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase activities in cow's milk as an indicator of subclinical mastitis. *Vet Res Commun*, **31**: 419-425.

- BADEMKIRAN S, YOKUS B, ÇAKIR DU, DURAK MH, KURT D (2008). Serum paraoxonase-1 activity in dairy cattle and its association with dystocia. *J Anim Vet Adv* **10**: 1184-1189.
- BAGNICKA E, JOZWIK A, STRZALKOWSKA N, SLIWA-JOZWIK A, KRZYZEWSKI J, KOLATAJ A (2008). N-acetylcysteine supplementation may affect somatic cell count in goat milk. *Archives of Animal Breeding*, **51(6)**: 582-587.
- BAGNICKA E, WINNICKA A, JOZWIK A, RZEWUSKA M, STRZALKOWSKA N, KOSCIUCZUK E, PRUSAK B, KABA J, HORBANCZUK J, KRZYZEWSKI J (2011). Relationship between somatic cell count and bacterial pathogens in goat milk. *Small Ruminant Research*, **100**: 72-77.
- BAŞTAN A (2013). İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunları. 2. Baskı. Ankara.
- BHATTACHARYA ID, PICCIANO MF, MILNER JA (1988). Characteristics of human milk glutathione peroxidase. *Biological Trace Element Research*, **18(1)**: 59-70.
- BIGGS A (2009). What Is Mastitis and Why Does It Matter? In: *Mastitis in Cattle*, Marlborough. 8-20.
- BIONAZ M, TREVISI E, CALAMARI L, LIBRANDI F, FERRARI A, BERTONI G (2007). Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions and liver function in transition dairy cows. *J Dairy Sci*, **90(4)**: 1740-1750.
- BLOWEY RW, EDMONDSON P (2010). Mastitis control in dairy herds, 2nd Ed., CABI.
- BOGIN E, ZIV G, AVIDAR J, RIVETZ B, GORDIN S, SARAN A (1977). Distribution of lactate dehydrogenase isoenzymes in normal and inflamed bovine udders and milk. *Res Vet Sci*, **22**: 198-200.
- BOULAGNER V, ZHAO X, LACASSE P (2002). Protective effect of melatonin and catalase in bovine neutrophil-induced model of mammary cell damage. *J Dairy Sci*, **85**: 562-569.
- BOYSO J, VALDEZ-ALORCON JJ, CAJERO-JUARES M, OCHOA-ZARZOSA A, LOPEZ-MEZA JE, BRAVO-PATINO A, BAIZABAL-AGUIRRE VM (2007). Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*, **54(4)**: 399-409.
- BRADLEY AJ (2002). Bovine Mastitis: An evolving disease. *The Veterinary Journal*, **164(2)**: 116-128.
- CABANA VG, REARDON CA, FENG N, NEATH S, LUKENS J, GETZ GS (2003). Serum paraoxonase effect of the apolipoprotein composition of HDL and the acute phase response. *Journal of Lipid Research*, **44(4)**: 780-792.
- CAMPOS FT, RINCON JAA, ACOSTA DAV, SILVEIRA PAS, PRADIEE J, CORREA MN, GASPERIN BG, PFEIFER LFM, BARROS CC, PEGORARO LMC, SCHNEIFER A (2017). The acute effect of intravenous lipopolysaccharide injection on serum and

- intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle. *Theriogenology*, **89**: 244-249.
- CASTILLO C, HERNANDEZ J, BRAVO A, LOPEZ-ALONSO M, PEREIRA V, BENEDITO JL (2005). Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. *The Veterinary Journal*, **169**(2): 286-292.
- CASTILLO C, HERNANDEZ J, BENEDITO JL (2006). Plasma malondialdehyde (MDA) and total antioxidant status (TAS) during lactation in dairy cows. *Research in Veterinary Science*, **80**: 133-139.
- CASTRO NA, PFEIFER LF, ANDRADE JS, RINCON JA, PEGORARO LMC, SCHNEIDER A (2018). Effect of serum paraoxonase-1 (PON1) activity on follicular development and pregnancy rate in cattle. *Animal Reproduction Science*, **188**: 130-136.
- CELI P, CHAUHAN S (2013). Oxidative stress management in farm animals: opportunities and challenges, In: *Proceedings of the 4th International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries*, 95-109.
- CHEN J, LINDMARK-MANSSON H, AKESSON B (2000). Optimisation of a coupled enzymatic assay of glutathione peroxidase activity in bovine milk and whey. *International Dairy Journal*, **10**(5-6): 347-351.
- CHIPILEV N, KALINOVA G, DASKALOV H, SLAVOVA A (2017). Study on the oxidative changes in milk lipids, induced by subclinical mastitis and different milking regimes in cows. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, **20**(2): 161-168.
- CONTRERAS GA, RODRIGUEZ JM (2011). Mastitis: comparative etiology and epidemiology. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, **16**: 339-356.
- CRUJEIRAS AB, PARRA D, MILAGRO FI, GOYENECHEA E, LARRARTE E, MARGARETO J, MARTINEZ JA (2008). Differential expression of oxidative stress and inflammation related genes in peripheral blood mononuclear cells in response to a low-calorie diet: a nutrigenomics study. *Journal of Integrative Biology*, **12**: 251-261.
- ÇOLAKOĞLU HE, KÜPLÜLÜ Ö, VURAL MR, KÜPLÜLÜ S, YAZLIK MO, POLAT İM, ÖZ B, KAYA U, BAYRAMOĞLU R (2017). Evaluation of the relationship between milk glutathione peroxidase activity, milk composition and various parameters of subclinical mastitis under seasonal variations. *Verinarski arhiv*, **87**(5): 557-570.
- DARBAZ İ, SALAR S, SAYINER S, BAŞTAN İ, ERGENE O, BAŞTAN A (2019). Evaluation of milk glutathione peroxidase and superoxide dismutase levels in subclinical mastitis in Damascus goats. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **43**(2): 259-263.
- DE U, MUKHERJEE R (2011). Potential of indigenous enzymatic activities, nitric oxide and ceruplasmin in bovine milk to diagnose subclinical mastitis. *Journal of Veterinary Science & Technology*, **2**(3): 109.

- DEVECI HA, KURU M, KUKURT A, MAKAV M, KARAPEHLIVEN M (2017). Determination of serum paraoxonase activity, total sialic acid concentration, and oxidative status in cattle with clinical mastitis. *International Journal of Veterinary Science*, **6(3)**: 136-140.
- DIMRI U, SHARMA MC, SINGH SK, KUMAR P, JHAMBH R, SINGH B, BANDHYOPADHYAY S, VERMA MR (2013). Amelioration of altered oxidant/antioxidant balance of Indian water buffaloes with subclinical mastitis by vitamins A, D3, E, and H supplementation. *Tropical Animal Health and Production*, **45(4)**: 971-978.
- ECKERSALL PD, YOUNG FJ, NOLAN AM, KNIGHT CH, MCCOMB C, WATERSTON MM, HOGARTH CJ, SCOTT EM, FITZPATRICK JL (2006). Acute phase proteins in bovine milk in an experimental model of *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *J Dairy Sci*, **89(5)**: 1488-1501.
- ERISIR M, KANDEMİR FM, YUKSEL M (2011). İneklerin sütündeki MDA, GSH düzeyleri ile GSH-Px, CAT aktiviteleri üzerine subklinik mastitis etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, **25**: 67-70.
- ERSKINE RJ, EBERHART RJ, HUTCHINSON LJ, SCHOLZ RW (1987). Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in dairy herds with high and low somatic cell counts. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **190(11)**: 1417-1421.
- ESWORTHY RS, CHU FF, GEIGER P, GIROTTI AW, DOROSHOW JH (1993). Reactivity of plasma glutathione peroxidase with hydroperoxidase substrates and glutathione. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **307(1)**: 29-34.
- FARID AS, HONKAWA K, FATH EM, NONAKA N, HORUL Y (2013). Serum paraoxonase-1 as biomarker for improved diagnosis of fatty liver in dairy cows. *BMC Veterinary Research*, **9(1)**: 73.
- FOX P (2003). Indigenous enzymes in milk. *Advanced Dairy Chemistry-1 Proteins*, Springer, Germany, 467-471
- FOX P, KELLY A (2006). Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects-part 1. *International Dairy Journal*, **16(6)**: 500-516.
- GARTNER R (2009). Selenium and thyroid hormone axis in critical ill states: an overview of conflicting view points. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **23(2)**: 71-74.
- GROHN YT, HERTL JA, HARMAN JL (1994). Effect of early lactation milk yield on reproductive disorders in dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* **55**: 1521-1528.
- GU B, ZHU Y, ZHU W, MIAO J, YU'E D, ZOU S (2009). Retinoid protects rats against neutrophil-induced oxidative stress in acute experimental mastitis. *International Immunopharmacology*, **9(2)**: 223-229.

- HALLIWELL B, CHIRICO S (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *American Journal of Clinical Nutrition*, **57(5)**: 715-724.
- HAMANN J (2005). Diagnosis of mastitis and indicators of milk quality. In :*Mastitis in dairy production: current knowledge and future solutions*, Ed.: Hogeveen, H., The Netherlands. 82-90.
- HAMED H, EL FEKI A, GARGOURI A (2008). Total and differential bulk cow milk somatic cell counts and their relation with antioxidant factors, *Comptes rendus biologies*, **331(2)**: 144-151.
- HARMON RJ (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci*, **77**: 2103-2112.
- HICKS CL, KORYCKA-DAHL M, RICHARDSON T (1975). Superoxide dismutase in bovine milk. *J Dairy Sci*, **58**: 796.
- HOGAN JS, WEISS WP, SMITH KL (1993). Role of vitamin E and selenium in host defence against mastitis. *J Dairy Sci*, **76**: 2795-2803.
- HOGVEEN H, OSTERAS O (2005). Mastitis management in an economic framework. *Mastitis in Dairy Productionç Proceedings of the 4th IDF International Conference*, Ed.: Hogeveen, H. 41-52.
- HOLBROOK J, HICKS CL (1978). Variation of superoxide dismutase in bovine milk. *J Dairy Sci*, **61**: 1072-1107.
- IGHODARO OM, AKINLOYE OA (2018). First line defence antioxidants superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundemantal role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, **54**: 287-293.
- JIN L, YAN SM, SHI BL, BAO HY, GONG J, GUO XY, LI JL (2014). Effects of vitamin A on the milk performance, antioxidant functions and immune functions of dairy cows. *Anim Feed Sci Technol*, **192**: 15-23.
- JONES GM, BAILEY TI (2009). Understanding the basics of mastitis. *Virginia Cooperative Extension*, **404-233**: 1-5.
- JOZWIK A, KRZYZEWSKI J, STRAZALKOWSKA N, POLAWSKA E, BAGNICKA E, WIERZBICKA A, NIEMCZUK K, LIPINSKA P, HORBANCZUK J (2012). Relations between the oxidative status, mastitis, milk quality and disorders of reproductive functions in dairy cows-a review. *Animal Science Papers and Reports*, **30(4)**: 297-307.
- KARABULUT H, GULAY MS (2016). Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **1(1)**: 65-76.
- KARKAYK GO, SAFI S, RAHIMI FA, BOLOURCHI M (2011). Study of the relationship between oxidative stress and subclinical mastitis in dairy cattle. *Iranian Journal of Veterinary Research*, **12(4)**: 350-353.

- KELLY A, FOX P (2006). Indigenous enzymes in milk: a synopsis of future research requirements. *International Dairy Journal*, **16(6)**: 707-715.
- KNNAPEN AM, NEHLS P, BORM JA (1999). Neutrophils cause oxidative DNA damage in alveolar epithelial cells. *Free Radical Biology & Medicine*, **27**: 234-240.
- KOHEN R, NYSKA A (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification, *Toxicol Pathol*, **30(6)**: 620-650.
- KOSSAIBATI MA, ESSLEMONT RJ (1997). The costs of production diseases in dairy herds in England. *The Veterinary Journal*, **154**: 41-51.
- KOVACIC M, SAMARDZIJA M, DURICIC D, VINCE S, FLEGAR-MESTRIC Z, PERKOV S, GRACNER D, TURK R (2019). Paraoxonase-1 activity and lipid profile in dairy cows with subclinical and clinical mastitis, *Journal of Applied Animal Research*, **47(1)**: 1-4.
- KULKA M (2016). A review of paraoxonase 1 properties and diagnostic applications. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, **19(1)**: 225-232.
- KUMRU S, AYDIN S, GURSU MF, OZCAN Z (2004). Changes of serum paraoxonase (an HDL-cholesterol-associated lipophilic antioxidant) and arylesterase activities in severe preeclamptic women. *Europ J Obst Gynecol Reprod Biol*, **114**: 177-181.
- LA DU BN (1996). Structural and functional diversity of paraoxonases. *Nat Med*, **2**: 1186-1187.
- LI YANG F, SHAN LI X (2015). Role of antioxidant vitamins and trace elements in mastitis in dairy cows. *J Adv Vet Anim Res*, **2(1)**: 1-9.
- LIEVAART JJ, KREMER WDJ, BARKEMA HW (2007). Short communication: comparison of bulk milk, yield-corrected, and average somatic cell counts as parameters to summarize the subclinical mastitis situation in dairy herd. *J Dairy Sci*, **90(9)**: 4145-4148.
- LINDMARK-MANSSON H, AKESSON B (2000). Antioxidative factors in milk. *Br J Nutr*, **84(1)**: 103-110.
- LITVINOV D, MAHINI H, GARELNABI M (2012). Antioxidant and anti-inflammatory role of paraoxonase-1: implication in arteriosclerosis diseases. *N Am J Med Sci*, **4(11)**: 523-532.
- LITWINCZUK Z, KROL J, BRODZIAK A, BARLOWSKA J (2011). Changes of protein content and its fractions in bovine milk from different breeds subject to somatic cell count. *J Dairy Sci*, **94(2)**: 6844(8)-691.
- LOBO V, PATIL A, PHATAK A, CHANDRA N (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*, **4(8)**: 118-126.

- LOPEZ-ALARCONA C, DENICOLA A (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. *Annal Chim Acta*, **763**: 1-10.
- LOPEZ JUNIOR JEF, LANGE CC, BRITO MAVP, SANTOS FR, SILVA MAS, MORAES LCDD, SOUZA GND (2012). Relationship between total bacteria counts and somatic cell counts from mammary quarters infected by mastitis pathogens. *Ciencia Rural*, **42(4)**: 691-696.
- LUSHCHAK V (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interactions*, **224**: 164-175.
- LYKKESFELDT J, SVENDSEN O (2007). Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. *Veterinary Journal*, **173(3)**: 502-511.
- MACKNESS MI, MACKNESS B, DURRINGTON PN, CONNELLY PW, HEGELE RA (1996). Paraoxonase; biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Current Opinion in Lipidology*, **7(2)**: 69-76.
- MACKNESS MI, DURRINGTON PN, MACKNESS B (2000). How high-density lipoprotein protects against the effects of lipid peroxidation. *Current Opinion in Lipidology*, **11(4)**: 383-388.
- MATEI ST, GROZA I, BOGDAN L, CIUPE S, FIT N, ANDREI S (2011). Correlation between mastitis pathogenic bacteria and glutathione peroxidase activity in cows milk. *Bulletin UASVM*, **68(1)**: 221-225.
- MAVANGIRA V, SORDILLO LM (2018). Role of lipid mediators in the regulation of oxidative stress and inflammatory responses in dairy cattle. *Research in Veterinary Science*, **116**: 4-14.
- MCDUGAL S, ARTHUR DG, BRYAN MA, VERMUNT JJ, WEIR AM (2007). Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. *New Zealand Veterinary Journal*, **55(4)**: 161-170.
- MCKINNON CH, BRAMLEY AJ (1988). An in-line sampling technique to measure the bacterial contamination of milk during milking. *J Dairy Res*, **55**: 33-40.
- MIR BA, RAZAK R, ALI A, MUZAMIL S, MIR MUR, KHALIQ T, BABA OK, REHMAN M, BILAL S, HUSSAIN I, RASHID SM (2017). Assessment of antioxidant profile in subclinical and clinical mastitis in dairy cattle. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **5(6)**: 1022-1025.
- MOOLCHANDANI A, SAREEN M (2018). A review: Oxidative stress during lactation in dairy cattle. *Journal of Dairy & Veterinary Sciences*, **5(4)**: 1-3.
- MUSHTAQ S, SHAH AM, SHAH A, LONE SA, HUSSAIN A, HASSAN QP, ALI MN (2018). Bovine mastitis: an appraisal of its alternative herbal cure. *Microbial Pathogenesis*, **114**: 357-361.

- NEDIC S, VAKANJAC S, SAMARDZIJA M, BOROZAN S (2019). Paraoxonase 1 in bovine milk and blood as marker of subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Research in Veterinary Science*, **125**: 323-332.
- NOTEBAERTA S, DEMON D, BERGHE TV, VENDENABEELE P, MEYER E (2008). Inflammatory mediators in *E.coli* induced mastitis in mice. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, **31**: 551-565.
- OLECHNOWICZ J, JASKOWSKI JM (2012). Somatic cells count in cow's bulk tank milk. *J Vet Med Sci*, **74(6)**: 681-686.
- PAAPE MJ, BANNERMAN DD, ZHAO X, LEE JW (2003). The bovine neutrophil: structure and function in blood and milk. *Vet Res*, **34**: 597-627.
- PAGLIA DE, VALENTINE WN (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Cm Med*, **70**: 158-169.
- PANTOJA JCF, HULLAND C, RUEGG PL (2009). Dynamics of somatic cell counts and intramammary infections across the dry period. *Prev Vet Med*, **90**: 43-54.
- PHAM CTN (2006). Neutrophil serine proteases: spesific regulators of inflammation. *Nature Rev Immunol*, **6**: 541-550.
- PHILPOT WN, NICKERSON SC (1991). Mastitis counter-attack. *Agris Fao*.
- PHILPOT WN, NICKERSON SC (2000). Winning the fight against mastitis. *Agris Fao*.
- POLAWSKA E, BAGNICKA AW, NIEMCZUK K, LIPINSKA JO (2012). Relations between the oxidative status, mastitis, milk quality and disorders of reproductive functions in dairu cows-a review. *Animal Science Papers and Reports*, **30(4)**: 297-307.
- POLJSAK B, JAMNIK P, RASPOR P, PESTI M (2011). Oxidation-antioxidation-reduction processes in the cell: impacts of environmental pollution, *Encyclopedia of Environmental Health*, 300-306.
- POULSEN HE (2005). Oxidative DNA modifications. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **57**: 161-169.
- PRUSCHNIAK MP, ARAZNA M, DEMKOW U (2015). Biochemistry of oxidative stress. *Advances in Clinical Science*, **878**: 9-19.
- PRZYBYLSKA J, ALBERA E, KANKOFER M (2007). Antioxidants in bovine colostrum. *Reprod Domest Anim*, **42**: 402-409.
- PYORALA S (2008). Mastitis in post-partum dairy cows. *Reprod Dom Anim*, **43(2)**: 252-259.
- RANJAN R, SWARUP D, NARESH R, PATRO RC (2005). Enhanced erythrocytic lipid peroxides and reduced plasma ascorbic acid, and alteration in blood trace elements level in dairy cows with mastitis. *Vet Res Commun*, **29**: 27-34.

- RIBAS V, SANCHES-QUESADA JL, ANTON R, CAMACHO M, JULVE J, ESCOLA-GIL JC, VILA L, ORDONEZ-LLANOS J, BLANCO-VACO F (2004). Human apolipoprotein a-II enrichment displaces paraoxonase from HDL and impairs its antioxidant properties. *Circ Res*, **95**: 789-797.
- RINALDI M, MORONI P, PAAPE MJ, BANNERMAN DD (2007). Evaluation of assays for the measurement of bovine neutrophil reactive oxygen species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **115(1-2)**: 107-125.
- RIZZO A, CECI E, PANTALEO M, MUTINATI M, SPEDICATO M, MINOIA G, SCIORSCI RL (2012). Evaluation of blood and milk oxidative status during early postpartum of dairy cows. *Animal*, **8**: 1-6.
- RUEGG PL (2001). Milk secretion and quality standards. *University of Wisconsin, Madison, USA*, 1-9.
- RYMAN VE, PACKIRISWAMY N, SORDILLO LM (2015). Role of endothelial cells in bovine mammary gland health and disease. *Anim Health Res Rev*, **16**: 135-149.
- SAWA A, NEJA W, BOGUICKI M (2008). Relationships between cytological quality and composition of milk and the effect of some environmental factors on the frequency of recurrent mastitis in cows. *Journal of Central European Agriculture*, **8**: 295-300.
- SCHNEIDER A, CORREA MN, BUTLER WR (2013). Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. *Research in Veterinary Science*, **95(1)**: 269-271.
- SCHRICK FN, HOCKETT ME, SAXTON AM, LEWIS MJ, DOWLEN HH, OLIVER SP (2001). Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J Dairy Sci*, **84(6)**: 1407-1412.
- SERFASS RE, GANTHER HE (1976). Effects of dietary selenium and tocopherol on glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in rat phagocytes. *Life sciences*, **19(8)**: 1139-1144.
- SHARMA N (2007). Alternative approach to control intramammary infection in dairy cows-a review. *Asian J Anim Vet Adv*, **2(2)**: 50-62.
- SHARMA N, GAUTAM A, UPADHYAY R, HUSSAIN K, SOODAN JS, GUPTA SK (2006). Role of antioxidants in udder health: a review. *Indian J Field Vet*, **2(1)**: 73-76.
- SHARMA N, SINGH NK, BHADWAL MS (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: an overview. *Asian-Aust J Anim Sci*, **24(3)**: 429-438.
- SHARMA L, VERMA AK, RAHAL A, KUMAR A, NIGAM R (2016). Relationship between serum biomarkers and oxidative stress in dairy cattle and buffaloes with clinical and sub-clinical mastitis. *Biotechnology*, **15(3)**: 96.
- SHROEDER JW (2012). Bovine mastitis and milking management. *NDSU Extension Serv*, **1129**: 1-16.

- SCHUKKEN YH, WILSON DJ, WELCOME F, GARRISON-TIKOFSKY L, GONZALES RN (2003). Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*, **34**(5): 579-596.
- SIES H, CADENAS E (1985). Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans R Soc*, **311**: 617-631.
- SILVEIRA PAS, BUTLER WR, LACOUNT SE, OVERTON TR, BARROS CC, SCHNEIDER A (2019). Polymorphisms in the anti-oxidant paraoxonase-1 (PON1) gene associated with fertility of postpartum dairy cows, *Theriogenology*, **125**: 302-309.
- SILVESTRE AM, MARTINS AM, SANTOS VA, GINJA MM, COLACO JA (2009). Lactation curves for milk, fat, and protein in dairy cows: A full approach. *Livestock Sciences*, **122**: 308-313.
- SORDILLO LM (2009). Current concepts on immunity and mastitis. *WCDS Advances in Dairy Technology*, **21**: 111-119.
- SORDILLO LM (2018). Symposium review: oxylipids and the regulation of bovine mammary inflammatory responses. *J Dairy Sci*, **101**(6): 5629-5641.
- SORDILLO LM, SHAFER-WEAVER K, DEROSA D (1997). Immunobiology of the Mammary Gland. *J Dairy Sci*, **80**(8): 1851-1865.
- SORDILLO LM, O'BOYLE N, GANDY JC, CORL CM, HAMILTON E (2007). Shifts in thioredoxin reductase activity and oxidant status in mononuclear cells obtained from transition dairy cattle. *J Dairy Sci*, **90**(3): 1186-1192.
- SPAIN JN, SCHEER WA (2006). Transition cow nutrition and mastitis-balancing all the factors. *NMC Annual Meeting, Tampa, FL, USA*, 172-174.
- STEFANON B, COLITTI M, GABAI G, KNIGHT CH, WILDE CJ (2002). Mammary apoptosis and lactation persistency in dairy animals. *Journal of Dairy Research*, **69**: 37-52.
- STRZALKOWSKA N, JOZWIK A, BAGNICKA E, KRZYZEWSKI J, HORBANCZUK K, PYZEL B, SLONIEWSKA D, HORBANCZUK JO (2010). The concentration of free fatty acids in goat milk as related to the stage of lactation, age and somatic cell count. *Animal Science Papers and Reports*, **28**(4): 389-395.
- SUN YL, OBERLEY LW, LI YA (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, **34**: 497-500.
- SURIYASATHAPORN W, VINITKETKUMNUEN U, CHEWONARIN T, BOONYAYATRA S, KREASUKON K, SCHUKKEN YH (2006). Higher somatic cell counts resulted in higher malondialdehyde concentrations in raw cow's milk. *International Dairy Journal*, **16**: 1088-1091.
- SIMSEK H, AKSAKAL M (2005). Subklinik mastitisli ineklerde bazı biyokimyasal değerlere vitamin E vitamininin etkisi. *YYU Vet Fak Derg*, **16**(1): 37-40.

- TURK R, JURETIC D, GERES D, TURK N, REKIC B, SIMEON-RUDOLF V, SVETINA A (2004). Serum paraoxonase activity and lipid parameters in the early postpartum period of dairy cows. *Res Vet Sci*, **76**: 57-61.
- TURK R, JURETIC D, GERES D, TURK N, REKIC B, SIMEON-RUDOLF V, ROBIC M, SVETINA A (2005a). Serum paraoxonase activity in dairy cows during pregnancy. *Res Vet Sci*, **79**: 15-18.
- TURK R, JURETIC D, GERES D, TURK N, SIMEON-RUDOLF V, REKIC B, SVETINA A (2005b). Oxidative stress in dairy cows- serum paraoxonase activity related to hepatomegaly. *Croatia Chemica ACTA*, **78(3)**: 375-378.
- TURK R, JURETIC D, GERES D, SVETINA A, TURK N, FLEGAR-MESTRIC Z (2008). Influence of oxidative stress and metabolic adaptation on PON1 activity and MDA level in transition dairy cows. *Anim Reprod Sci*, **108(1-2)**: 98-106.
- TURK R, PIRAS C, KOVACIC M, SAMARDZIJA M, AHMED H, DE CANIO M, URBANI A, MESTRIC ZF, SOGGIU A, BONIZZU L, RONCADA P (2012a). Proteomics of inflammatory and oxidative stress response in cows with subclinical and clinical mastitis. *Journal of proteomics*, **75(14)**: 4412-4428.
- TURK R, KOVACIC M, MESTRIC ZF, RONCADA P, PIRAS C, SVETINA A, DOBRANIC V, PLEADIN J, SAMARDZIJA M (2012b). Relevance of paraoxonase-1, platelet-activating factor acetylhydrolase and serum amyloid A in bovine mastitis. *Farm Animal Proteomics, Wageningen Academic Publishers*, 102-105.
- TURK R, POPDECAN O, MRKUN J, KOSEC M, FLEGAR-MESTRIC Z, PERKOV S, STARIC J, ROBIC M, BELIC M, ZRIMSEK P (2013). Lipid mobilisation and oxidative stress as metabolic adaptation processes in dairy heifers during transition period. *Anim Reprod Sci*, **141**: 109-115.
- UZUN H, BENIAN A, MADAZLI R, TOPCUOGLU MA, AYDIN S, ALBAYRAK M (2005). Circulating oxidized low-density lipoprotein and paraoxonase activity in preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest*, **60**: 195-200.
- VALKO M, RHODES CJ, MONCOL J, IZAKOVIC M, MAZUR M, TELSER J (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **39**: 44-84.
- VAN LENTEN BJ, HAMA SY, de BEER FC, STAFFORINI DM, MCINTYRE TM, PRESCOTT SM, LA DU BN, FOGELMAN AM, NAVAB M (1995). Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic Wall cell cocultures. *The Journal of Clinical Investigation*, **96(6)**: 2758-2767.
- VURAL MR, OZENC E, KUPLULU S, ERGUN Y (2016). Büyük ruminantlarda mastitis, meme sağlığı ve kontrol programları. Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları, Ed.: Mustafa Kaymaz, Murat Fındık, Ali Rişvanlı, Afşin Köker, Medipress.s

- WEISS WP (2005). Antioxidant nutrients, cow health, and milk quality. *Pennsylvania State Dairy Cattle Nutrition Workshop*, 11-18.
- WILDE D (2006). Influence of macro and micro minerals in the periparturient period on fertility in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, **96**: 240-249.
- YANG FL, LI XS, HE BX, YANG ZL, LI GH, LIU P, HUANG QH, PAN XM, LI J (2011). Malondialdehyde level and some enzymatic activities in subclinical mastitis milk. *African Journal of Biotechnology*, **10(28)**: 5534-5538.
- ZELKO IN, MARIANI TJ, FOLZ RJ (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology & Medicine*, **33(3)**: 337-349.
- ZERBE H, SCHNEIDER N, LEIBOLD W, WENSING T, KRUIP TA, SCHUBERTH HJ (2000). Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. *Theriogenology*, **54**: 771-786.f

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

TOPLANTI TARİHİ : 06/02/2019
TOPLANTI NO : 2019-4
DOSYA NO : 2018-108
KARAR NO : 2019-4-32

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Ayhan BAŞTAN'ın yaptığı; araştırmacı olarak Araş. Gör. Taha Burak ELİFOĞLU'nun katıldığı "Süt İneklerinde Laktasyonun İlk 100 Gününde Şekillenen Subklinik Mastitislerde Somatik Hücre Sayısı, Paraoksanaz I ve Glutasyon Peroksidaz Seviyelerinin Araştırılması" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzun 31/10/2018 tarihli toplantısında alınan 2018-21-133 sayılı karar ile Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'nin 7-h maddesi kapsamında değerlendirilerek onaylanmıştır.

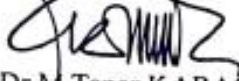
Proje yürütücüsü tarafından Kurulumuza verilen 16.01.2019 tarih ve 1444 sayılı dilekçede, araştırmada sütte bakılması planlanan Paraoksanaz enziminin kanda bakılacak şekilde değiştirilmesi, Süperoksit Dismutaz (SOD) enziminin araştırılmasının da projeye dâhil edilmesi ve proje başlığının "Süt İneklerinde Laktasyonun İlk 100 Gününde Şekillenen Subklinik Mastitislerde Somatik Hücre ve Toplam Bakteri Sayısı ile Bazı Antioksidan Maddelerin Araştırılması" olarak değiştirilmesi talep edilmektedir.

Söz konusu dilekçe Üniversite senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi"nin 11 (5) maddesi kapsamında değerlendirilmiş olup; sütte bakılması planlanan Paraoksanaz enziminin kanda araştırılmasının, Süperoksit Dismutaz (SOD) enziminin araştırılmasının da projeye dâhil edilmesinin ve proje başlığının "Süt İneklerinde Laktasyonun İlk 100 Gününde Şekillenen Subklinik Mastitislerde Somatik Hücre ve Toplam Bakteri Sayısı ile Bazı Antioksidan Maddelerin Araştırılması" şeklinde değiştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

Geçerlilik Süresi: 01/01/2019-01/04/2020

ASLININ AYNIDIR

06/02/2019



Prof.Dr.M.Taner KARAOĞLU
A.Ü. HADYЕК Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Taha Burak
Soyadı: Elifoğlu
Doğum yeri ve tarihi: Kütahya / 01.06.1991
Uyruğu: TC
Medeni durumu: Evli
İletişim adresi ve telefonu: Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Doğum ve Jinekoloji ABD, Yahşihan/KIRIKKALE
0 318 357 42 42

II- Eğitimi

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora öğrencisi, 2015- Halen
Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Lisans Eğitimi, 2009-2014
Yabancı Dil: İngilizce (Puanı: YDS 2014 Bahar, 76,25)

III- Ünvanları (tarih sırasına göre eskiden-yeniye doğru)

Araştırma Görevlisi - 2015
Veteriner Hekim - 2014

IV- Bilimsel İlgi Alanları

1. Yayınlar

Durmaz Serhan,POLAT İBRAHİM MERT,KORKMAZ ÖMER,PIR YAGCI ILKNUR, **ELIFOGLU TAHA BURAK**,AKAL ESER,ÇELEBİ MUZAFFER (2020). The Effects of Lactation and Body Condition Score Changes on Embryonic Death Rates in KWPN Mares. International Journal of Veterinary and Animal Research (IJVAR), 3(1), 21-24.

POLAT İBRAHİM MERT, KORKMAZ ÖMER, **ELIFOGLU TAHA BURAK**,PIR YAGCI ILKNUR,ÇOLAKOĞLU HATICE ESRA,PEKCAN MERT (2020). The Investigation of Serum Estrogen, Progesterone, AMH and IGF-1 Profiles in Lactating and Non Lactating Mares after Altrenogest Administrations. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17(1), 63-67.

ELIFOGLU TAHA BURAK, BASTAN AYHAN (2018). Ineklerde Mikoplazmalara Bağlı Mastitisler: Risk Faktörleri, Kontrol ve Korunma Stratejileri. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 13(2), 251-256.

Elifoğlu TB, Polat İM: İneklerde Kuru Dönem ve Mastitis İlişkisi. Damızlık Sığır Yetiştiricileri Dergisi. Aralık 2018.

Elifoğlu TB, Polat İM: Yatalak İnek Sendromu (Downer Cow Sendrom). Damızlık Sığır Yetiştiricileri Dergisi. 2019.

Elifoğlu TB, Polat İM: Damızlık Seçimi – Buzağılıktan Düvelige. Damızlık Sığır Yetiştiricileri Dergisi. 2019.

2. Bildiriler

KABAKÇI RUHI, MACUN HASAN CEYHUN, POLAT İBRAHİM MERT,YILDIRIM EBRU,**ELİFOĞLU TAHA BURAK (2019)**. Alterations in the contractile activity of cat uterus exposed to Di (2-ethylhexyle) phthalat (DEHP). 1. Uluslararası 6. Ulusal Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi, 357-358. (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:6134824)

KARAKAS KÜBRA, **ELİFOĞLU TAHA BURAK**,Özkan Metehan,Ekim Hayrettin (2017). Bir Köpekte Meme Dokusunda Transmissible Venereal Tümör Olgusu.. Türk Veteriner Jinekoloji Dernegi VII.

V- Bilimsel Etkinlikleri

Projeleri

Süt İneklerinde Laktasyonun İlk 100 gününde Şekillenen Subklinik Mastitislerde Somatik Hücre ve Toplam Bakteri Sayısı ile Bazı Antioksidan Maddelerin Araştırılması
Yürütücü: Prof. Dr Ayhan BAŞTAN. Araştırmacı: Araş. Gör. Taha Burak ELİFOĞLU
Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi – Devam ediyor

Orta Anadolu Bölgesindeki Köpeklerde Canine Herpesvirus-1 Seroprevalansının Araştırılması
Yürütücü: Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Mert POLAT. Araştırmacı: Araş. Gör. Taha Burak ELİFOĞLU
Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi – Devam ediyor

Dişi Kedilerde Seksüel Siklusun Farklı Dönemlerinde Serum Anti Müllerian Hormon Seviyelerinin Araştırılması
Yürütücü: Doç. Dr. İlknur PİR YAĞCI Araştırmacı: Araş. Gör. Taha Burak ELİFOĞLU
Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi – Devam ediyor

Seminerler:

1: Güç Doğumların Yönetimi ve Önleme Stratejileri

2: İneklerde Mikoplazmalara Bağlı Mastitisler