

TUĞÇE DEMİRLİK

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2018

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**İNEKLERDE İNAKTİF PARAPOXVİRUS OVİS PARAI MMUNİTE
AKTİVATÖRÜNÜN MASTİTİS PROFİLAKSİSİ VE SUBKLİNİK
MASTİTİS TEDAVİSİNDEKİ ETKİNLİĞİ**

TUĞÇE DEMİRLEK

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. AHMET SABUNCU**

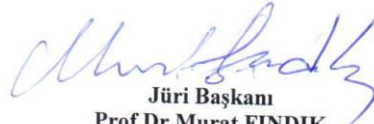
**DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi – Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında, Doğum ve Jinekoloji Programında Doktora öğrencisi Tuğçe DEMİRLEK tarafından, Doç. Dr. Ahmet SABUNCU'nun danışmanlığında hazırlanan "İneklerde İnaktif *Parapoxvirus ovis* Paraimmunite Aktivatörünün Mastitis Profleksisi Ve Sublinik Mastitis Tedavisindeki Etkinliği" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 21/09/2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



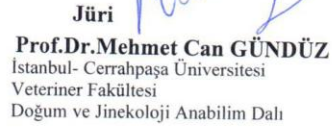
Jüri Başkanı
Prof. Dr. Murat FİNDİK
Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı



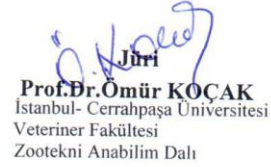
Jüri Danışman
Doç. Dr. Ahmet SABUNCU
İstanbul- Cerrahpaşa Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı



Jüri
Prof. Dr. Ali RİŞVANLI
Fırat Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı



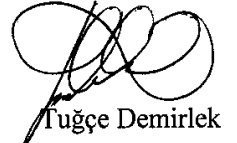
Jüri
Prof. Dr. Mehmet Can GÜNDÜZ
İstanbul- Cerrahpaşa Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı



Jüri
Prof. Dr. Ömür KOÇAK
İstanbul- Cerrahpaşa Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Zootečni Anabilim Dalı

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Tuğçe Demirlek

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Danışmanım Doç. Dr. Ahmet Sabuncu'ya, tez izleme komitesi öğretim üyeleri Prof. Dr. Ömür Koçak'a ve Doç. Dr. Mehmet Can Gündüz'e saygılarımı sunar, sağladıkları imkanlar, ilgileri ve yardımlarından ötürü teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Çağatay Tek, Doç. Dr. Sinem Özlem Enginler, Dr. Gamze Evkuran Dal olmak üzere tüm Anabilim Dalımız öğretim üye ve elemanlarına, sekreterimiz Nursel Yılmaz ve bize güzel bir çalışma ortamı sağlayan Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. M. Ragıp Kılıçarslan'a teşekkür ederim.

Doktora eğitimim boyunca, fakültede geçirdiğim günler için, idari izin veren ve eğitime, bilime sonsuz değer veren müdürüm Muhammet Nuri Coşkun'a, müdür yardımcılarım Mahmut Eker'e, Mehmet Kerim Ayan'a, Fahrettin Cerrahi'ye ve Hüner Öztürk'e teşekkürlerimi sunarım. Fikir, görüş, yardım ve her türlü desteklerini esirgemeyen birlikte çalıştığım meslektaşlarıma ve mesai arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca, desteklerini hiç esirgemeyen, varlıklarını her daim yanımda hissettiren sevgili ebeveynlerim; Aysel ve Necmi Demirlek'e, sevgili ablam Şule Demirlek'e ve canım yeğenim Necmi Yusuf'un anne ve babası; Dilek ve Cihan Demirlek'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TDK-2016-20654

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİ
ÖZET	XİV
ABSTRACT.....	XV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mastitis Tanımı	3
2.2. Mastitisin Önemi.....	3
2.3. Mastitislerde Sınıflandırma.....	4
2.3.1. Klinik Seyrine Göre Sınıflandırma	4
2.3.1.1. Klinik Mastitis.....	4
2.3.1.2. Subklinik Mastitis	5
2.3.2. Etken Türüne Göre Sınıflandırma	6
2.3.2.1. Kontagiyöz Bakteriyel Patojenler	7
2.3.2.2. Çevresel Bakteriyel Patojenler	8
2.3.2.3. Fırsatçı Mikroorganizmalar.....	10
2.3.2.4. Diğer Mikroorganizmalar.....	11
2.4. Mastitise Duyarlılık ve Direnç	11
2.4.1. Mastitise Duyarlılığı Arttıran Faktörler	11
2.4.1.1. Yaş ve Laktasyon Sayısı	11
2.4.1.2. Laktasyon Dönemi	12
2.4.1.3. Süt Verimi	14
2.4.1.4. Irk	14
2.4.1.5. Sağım.....	14
2.4.1.6. Meme Başının Anatomisi.....	14

2.4.1.7. Barınak	15
2.4.1.8. Sağım Özellikleri	16
2.4.1.9. Beslenme	19
2.4.1.10. Mevsim ve İklim Değişimleri	20
2.4.2. Mastitise Karşı Fiziksel Savunma Mekanizmaları.....	20
2.4.3. Mastitise Karşı İmmunolojik Savunma Mekanizmaları	21
2.4.3.1. Nonspesifik İmmunolojik Savunma.....	21
2.4.3.2. Spesifik İmmunolojik Savunma.....	22
2.4.3.3. Bağışıklıkta Etkin Nonspesifik Kimyasal Faktörler	23
2.5. Mastitis Tanı Yöntemleri	25
2.5.1. Genel Muayene	25
2.5.2. Meme Muayenesi.....	25
2.5.3. Süt Muayenesi.....	26
2.5.4. Klinik Mastitislerin Tanısı	27
2.5.5. Subklinik Mastitislerin Tanısı.....	27
2.5.5.1. Sütte Somatik Hücre Sayısı.....	28
2.5.5.2. California Mastitis Test.....	29
2.5.5.3. Sütün Elektriksel İletkenliği.....	31
2.5.5.4. Sütün pH Değeri.....	32
2.5.5.5. Sütün Bakteriyolojik Muayenesi.....	32
2.6. Mastitis Sağaltımı	34
2.6.1. Laktasyon Döneminde Mastitis Tedavisi.....	38
2.6.2. Kuru Dönemde Mastitis Tedavisi	39
2.6.3. Mastitis Sağaltımında Alternatif Yöntemler	43
2.7. Mastitisle Mücadele Yaklaşımları	44
2.8. İnaktif <i>Parapoxvirus ovis</i> D1701 Suşu ve Mastitis Arasındaki İlişki.....	48
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	50
3.1. Gereç	50
3.1.1. Hayvan Materyali.....	50
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Alet, Ekipman, Cihaz ve İlaçlar	50
3.1.2.1. California Mastitis Test.....	51
3.1.2.2. Süt Analiz Cihazı	51
3.1.2.3. Süt Numune Tüpleri.....	51

3.1.2.4. Somatik Hücre Sayım Cihazı	51
3.1.2.5. Mikrobiyolojik Besi Yerleri, Analiz Cihazı ve Kitler.....	51
3.1.2.6. İnaktif <i>Parapoxvirus ovis</i> D1701 Suşu	52
3.1.2.7. Sefalekssin 200 mg- Kanamisin Monosülfat 100.000 IU Meme İçi Süspansiyon.....	52
3.1.2.8. Sefaperazon dihidrat 100 mg Meme İçi Süspansiyon.....	52
3.1.2.9. Antiseptikler	52
3.2. Yöntem.....	53
3.2.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması ve Uygulanan İşlemler.....	53
3.2.1.1. Subklinik Mastitis Olmayan CMT (-) İneklerden Deney ve Kontrol Grupları Oluşturulması (A1 ve A2 Grupları)	53
3.2.1.2. Subklinik Mastitis Olan CMT (+) İneklerden Grupların Oluşturulması (B1, B2 ve B3 Grupları).....	54
3.2.2. Muayeneler.....	55
3.2.2.1. Sistemik Genel Muayene	55
3.2.2.2. Özel Meme Muayenesi	55
3.2.2.3. Sütün Fiziksel Muayenesi	56
3.2.2.4. California Mastitis Test.....	56
3.2.2.5. Somatik Hücre Sayısı	57
3.2.2.6. Sütün Mikrobiyolojik Muayenesi	57
3.2.2.7. Sütlerde Elektriksel İletkenliğin Ölçülmesi	58
3.2.2.8. İstatistiksel Yöntemler	58
3.2.3. Etik Kurul Onayı.....	58
4. BULGULAR.....	59
4.1. California Mastitis Testi Skoru Bulguları.....	59
4.1.1. CMT (-) A Grubu İneklerde CMT Skoru Bulguları	59
4.1.2. CMT (+) B Grubu İneklerde California Mastitis Test Skoru Bulguları	61
4.2. Somatik Hücre Sayısı Bulguları.....	63
4.2.1. CMT (-) A Grubu İneklerde Somatik Hücre Sayısı Bulguları.....	63
4.2.2. CMT (+) B Grubu İneklerde Somatik Hücre Sayısı Bulguları	64
4.3. Elektriksel İletkenlik Bulguları.....	64
4.3.1. CMT (-) A Grubu İneklerde Elektrik İletkenliği Bulguları	64
4.3.2. CMT (+) B Grubu İneklerde Elektrik İletkenliği Bulguları.....	65

4.4. Mikrobiyolojik Analiz Bulguları	66
5. TARTIŞMA	70
KAYNAKLAR	75
ETİK KURUL KARARI	87
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	88
ÖZGEÇMİŞ	89



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Meme Başı Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Avantaj ve Dezavantajları	19
Tablo 2-2: California Matitis Test Skoru.....	30
Tablo 2-3: Sadeleştirilmiş California Matitis Test Skoru	30
Tablo 2-4: California Matitis Test Skoru ve Somatik Hücre Sayısı Arasındaki İlişki ...	31
Tablo 2-5: Mikrobiyoloji ile Somatik Hücre Sayısı Sonuçlarının Değerlendirilmesi	33
Tablo 2-6: Mikrobiyoloji ile Somatik Hücre Sayısı Sonuçlarının Subklinik Mastitis Yönünden Değerlendirilmesi	33
Tablo 2-7: Antibiyotiklerin Memede Dağılım Özelliklerine Göre Sınıflandırılması	36
Tablo 2-8: Kuru Dönem Periyodunda Meme İçi Kullanılan İlaçlar	42
Tablo 3-1: Çalışma Gruplarının Oluşturulması	53
Tablo 3-2: A Gruplarına Uygulanan İşlemler	54
Tablo 3-3: B Gruplarına Uygulanan İşlemler	55
Tablo 4-1: A Grupları California Mastitis Test Skoru Oranları	59
Tablo 4-2: A Grupları California Mastitis Test Skorları Sayısal Dağılımları	60
Tablo 4-3: B Grupları CMT Skoru Oranları	61
Tablo 4-4: B Grupları California Mastitis Test Skorları Sayısal Dağılımları.....	62
Tablo 4-5: A Grupları Somatik Hücre Sayısı Ortalamaları	63
Tablo 4-6: B Grupları Somatik Hücre Sayısı Ortalamaları	64
Tablo 4-7: A Gruplarının Elektrik İletkenliği Bulguları.....	65
Tablo 4-8: B Gruplarının Elektrik İletkenliği Bulguları	65
Tablo 4-9: Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları.....	66
Tablo 4-10: İzole Edilen Bakterilerin Oranları.....	67

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ADNC	Antikor Bağımlı Nötrofil Sitotoksitesitesi (<i>Antibody-Dependent Neutrophil Cytotoxicity</i>)
ADT	Antibiyotik Duyarlılık Testi
AgNO ₃	Gümüş Nitrat
BHV1	<i>Bovine Herpes Virus-1</i>
BHV4	<i>Bovine Herpes Virus-4</i>
BLV	<i>Bovine Leukaemia Virus</i>
Cl	Klor
cm	Santimetre
cm/Hg	Santimetre/Civa (basınç birimi)
CMT	California Mastitis Testi
CSF	<i>Colony Stimulating Factor</i>
CuSO ₄	Bakır Sülfat
dk	Dakika
DMHSY	Direkt Mikroskopik Hücre Sayım Yöntemi
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DTM	Dermatofit Test Medium
Eİ	Elektrik İletkenliği
FMDV	<i>Şap Virüsü</i>
gr/lt	Litredeki Gram Cinsinden Madde Miktarı
gr	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H ₂ SO ₄	Sülfirik Asit
IBR	<i>Infectious Bovine Rhinotracheitis</i>
IFN	İnterferon
Ig	İmmunoglobulin
IL-2	İnterlökin-2
İM	İntramuskuler
İPPVO	İnaktif <i>Parapoxvirus ovis</i>

İS	İntrasisternal
İV	İntravenöz
K ⁺	Potasyum
KNS	Koagulaz-Negatif Stafilokok
lt	Litre
MHC	Major Histokompatibilite Kompleks
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
ml	Mililitre
mS / cm	Milisiemens/cm (Elektrik İletkenliği Birimi)
Na ⁺	Sodyum
NaOH	Sodyum Hidroksit
NK	Natural Killer
ÖD	Önemli Değil
P	İstatistiki Önemlilik
pH	<i>Power of Hydrogen</i> (Asit-Baz Denge Ölçümü)
PI3	<i>Parainfluenza-3 Virus</i>
PNL	Polimorf Nükleer Lökosit
R	Dirençli
R	Yarıçap
RNA	Ribonükleik Asit
S	Duyarlı
sc	Subkutan
SCT	<i>Strip Cup Testi</i>
SDA	Saboroult Dekstrozu Agar
SHS	Somatik Hücre Sayısı
Std	Standart Hata
Ş	Şüpheli
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
vb	Ve Benzeri
α/β	Alfa/Beta
γ/δ	Gama/Delta
µm	Mikron
\$	Dolar

%	Yüzde
€	Euro
<	Küçük
>	Büyük
°C	Santigrat Derece



ÖZET

Demirlek, T. (2018). İneklerde inaktif *Parapoxvirus ovis* paraimmunite aktivatörünün mastitis profilaksisi ve subklinik mastitis tedavisindeki etkinliği. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. İstanbul.

Bu tezde, subklinik mastitisten korunmak ve subklinik mastitis olan hayvanları daha kısa sürede sağaltabilmek amacıyla paraimmunite aktivatörü olan, inaktif *Parapoxvirus ovis* D1701 suşu (İPPVO) süt sığırlarında kullanıldı. İki bölümden oluşan çalışmanın ilk bölümünde İPPVO'nun profilaktik etkileri araştırıldı. Holştayn ırkı, California Mastitis Test (CMT) yönünden (-) olan n=60 adet sığırlardan A1 grubu (n=30) ve A2 grubu (n=30) oluşturuldu. A1 grubuna 0, 2 ve 9. günlerde İPPVO uygulanırken A2 grubuna aynı doz serum fizyolojik uygulandı. Her iki gruptan 0, 9, 15 ve 30. günlerde toplanan süt örneklerinde; CMT, somatik hücre sayısı (SHS) ve elektirik iletkenliği (Eİ) sonuçları değerlendirildi. CMT yönünden 0, 9 ve 15. günlerde istatistiki açıdan önemli fark görülmezken 30. gün istatistiki açıdan önemli fark görüldü ($P<0,001$). SHS yönünden 0 ve 9. günde istatistiki fark önemli bulunmazken, 15 ve 30. gün istatistiki fark önemli bulundu ($P<0,001$). Elektirik iletkenliği yönünden istatistiki olarak önemli fark görülmedi ($P>0,05$). Çalışmanın ikinci bölümünde İPPVO'nun mastitis sağaltımındaki etkinliği araştırıldı. Subklinik mastitisli Holştayn ırkı, n=90 adet sığırlardan B1 grubu (n=30), B2 grubu (n=30) ve B3 grubu (n=30) oluşturuldu. B1 grubuna 0, 2 ve 4. günlerde İPPVO uygulandı. B2 grubuna 0, 2 ve 4. günlerde İPPVO ve antibiyotik uygulandı. B3 grubuna ise sadece antibiyotik uygulandı. Tüm gruplardan 0, 9 ve 15. günlerde toplanan süt örneklerinde; CMT, SHS ve Eİ değerleri ölçüldü. CMT skorları ve SHS sonuçlarına göre istatistiki açıdan önemli bir fark görülmezken ($P>0,05$), Eİ değerlerinde 9. gün ($P<0,001$) ve 15. gün ($P<0,01$) istatistiki önemli fark görüldü.

Sonuç olarak; bulgular tümüyle değerlendirildiğinde; İPPVO paraimmunite aktivatörünün, subklinik mastitis profilaksisinde etkili olduğu bulunurken, tedavide etkisiz olduğu kanaatine varıldı.

Anahtar Kelimeler: immunostimulan, immunite, inek, *Parapoxvirus ovis*, subklinik mastitis

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 20654

ABSTRACT

Demirlek, T. (2018). Efficiency of inactivated *Parapoxvirus ovis* paraimmun activator in mastitis prophylaxy and subclinical mastitis therapy of cattle. Istanbul University Institute of Health Science, Department of Obstetrics and Gynaecology. pHD Thesis. Istanbul.

Parapoxvirus ovis D1701 strain (IPPVO) paraimmun activator is used to prevent the cattle from subclinial mastitis in short term and to treat the cattles with subclinical mastitis. In the initial part of two-part experience the prophylactic effects of IPPVO were searched. A1 group (n=30) and A2 (n=30) were formed from Holstein breed cattles which were CMT (-) (n=60). IPPVO was used to A1 group on 0, 2 and 9th days whereas the same dose serum physiological was used to A2 group. In the milk samples collected from two groups on 0, 9, 15 and 30th days CMT, SCC and EC were evaluated. According to CMT results, no significant difference was deteceted statistically on days 0, 9 and 15 ($P>0.05$), whereas statistically significant difference was detected on 30 day. Due to SCC results no statistical difference was detected on day 0 and 9, but statistically significant difference was found on day 15 and 30th ($P<0.001$). According to electrical conductivity no statistical difference was detected ($P>0.05$). In the second part of the experiment the efficiency of IPPVO on mastitis therapy was detected. B1 group (n=30), B2 group (n=30) and B3 group (n=30) were formed from Holstein breed cattles with subclinical mastitis (n=90). IPPVO was used on 0, 2, 4. days to B1 group. IPPVO and antibiotic were used on days, 0, 2 and 4. days to B2 group. Only antibiotic was used to B3 group. In milk samples collected from all groups on days 0, 9 and 15th days CMT, SCC and EC scores were measured. According to CMT scores and SCC results no statistical difference were found whereas statistically significant difference was deteceted for EC results on 9th day ($P<0.001$) and on 15th day ($P<0.001$). When the results were all evaluated IPPVO paraimmune activator was found effective in prophylaxy but not in therapy of subclinical mastitis.

Key Words: subclinical mastitis, dairy cattle, immunstimulation, *Parapoxvirus ovis*, immunity

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University.
Project No: 20654

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ülkemiz süt sığırcılığı tüm dünyada olduğu gibi mastitisten olumsuz olarak etkilenmektedir. Mastitis süt sığırcılığında ekonomik açıdan önemli bir hastalıktır. Genel anlamda mastitis süt miktarında azalmaya neden olması ve üretilen süt ve süt ürünlerinde kalite düşüklüğü nedeni ile önemli ekonomik kayıplara yol açar (14, 30, 116). Mastitisin oluşmasında çok sayıda mikroorganizma ve değişik faktörler etkili olmaktadır (9, 57). Hastalığın oluşumunda çok sayıda mikroorganizma etkisinden ve memenin savunma sisteminden dolayı aşılama çalışmaları yetersiz kalmaktadır. Bu sebeple çok sayıda etkenle mücadele etmek yerine hayvanın immun yanıtını güçlendirerek mastitisten korunmayı amaçlamanın daha iyi bir yaklaşım olacağı düşünüldü.

Beşeri ve veteriner hekimlikte kronik enfeksiyonlar, yangılar ve kanser vakalarında canlının savunma sistemini yeniden yapılandırıp, organizmanın kendini onardığı mekanizmayı yaratacak ilaç arayışı her zaman güncelliğini korumaktadır. Bu amaçla daha önce immun stimulan etkisi kanıtlanmış (59), ancak mastitis profilaksisi ve tedavisinde çalışma yapılmamış bir immunmodülatör ajan olan inaktif *Parapoxvirus ovis* D1701 suşunun, subklinik mastitis üzerindeki etkileri araştırıldı.

Parapoxvirus ovis D1701 suşunun inaktif edilmiş liyofilize formu, mikrobiyel kaynaklı nonspesifik immunomodülatör olup özellikle enfeksiyöz hastalıklara karşı doğal bağışıklığı stimüle eder. İPPVO'nin buzağılarda kullanımında oksidatif stres ile ilgili kan parametrelerinde malondialdehitte yükselişe yol açarak lipid peroksidasyonuna ve kan glutatyon seviyesinde düşüğe neden olduğu antioksidan seviyesinde azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir (59). Ayrıca inaktif *Parapoxvirus ovis* insan immun hücrelerinde T hücreleri ve doğal öldürücü (natural killer) hücrelerde proenflamatuvar ve antienflamatuvar sitokin salınımı üzerine etkili olduğu ve buna bağlı enflamasyon, immun cevap üzerinde düzenleyici olarak da etkili olduğu bildirilmiştir (38). Bunun yanında İPPVO'nin immunstimulan etkilerinin kanıtlandığı çalışmalarda, meme dokusunun immun sistemini de uyaracağı düşünülmüştür (121). İPPVO'nin subklinik mastitislerin tedavisinde antibiyotik ile birlikte kullanıldığında prognozu olumlu yönde etkileyebileceği ve profilaktik olarak laktasyonun 1-6 aylık

dönemlerinde kullanıldığında, subklinik mastitisten korunma sağlayacağı düşüncesi çalışmamızın amacını oluşturdu.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mastitis Tanımı

‘Mastos’, meme ve ‘itis’, yangıyı ifade eden kelimelerinin bir araya gelerek oluşturduğu mastitis kelimesi; meme dokusunu oluşturan bütün yapıların yangısını ifade eder. Dünyada meme dokusuna sahip tüm canlılarda görülebildiği gibi süt ineklerinde çok daha yaygın olarak görülmektedir.

Mastitis, meme bezinin çeşitli irkiltici etkenlere karşı tepkisi olarak tanımlamaktadır ve memenin irkiltici etkileri nötralize etmek, yıkımlamak, kendini yenilemek ve normal fonksiyonlarına dönebilmek için gösterdiği fiziksel, kimyasal, bakteriyolojik ve patolojik değişikliklerin, farklı semptomlarda görülmesidir (4).

Mastitisin sebepleri temel olarak enfeksiyöz ve nonenfeksiyöz nedenler olmakla birlikte, birçok farklı faktör mevcuttur (61, 77). Çoğunlukla bakteriyel sebeplere bağlı olarak olduğu bildirilse de nadiren mantarlar, mayalar, viral etkenler ve paraziter etkenler mastitis oluşumunda rol alabilmektedir. Ayrıca kimyasal, termal ve mekanik uyarımlar, mastitis oluşumunun nonenfeksiyöz sebepleri arasında sıralanabilmektedir. Mastitis oluşumu çoğunlukla lokal bir hastalık olabildiği gibi sistemik bir hastalığın sebebi haline de gelebilmektedir (51, 54, 56, 61, 67).

2.2. Mastitisin Önemi

Dünyada süt üretim miktarı 2010 yılında 732 milyon ton, Türkiye’de 13,6 milyon ton iken, 2015 yılında dünyada 802 milyon ton, Türkiye’de ise 18,5 milyon ton olarak kayıtlara geçmiştir. Süt üretiminin artışı ile birlikte süt kalitesi ve miktarını etkileyen konuların da önemi artmaktadır. Mastitisin dünyada üretim kaybına neden olan hastalıklar içinde %38’lik bir yeri vardır (20).

Meme hastalıkları; sütçü sürülerde çok yaygın olarak görülen hastalıklardır ve dünya da süt endüstrisini etkileyen en önemli hastalıktır. Sütçü işletmelerin başlıca sağlık giderini oluşturarak ekonomik kayıplara neden olmaktadır (117).

Mastitis nedeniyle şekillenen kayıpların, hastalıklardan dolayı oluşan kayıpların %26’sını teşkil ettiği bildirilmektedir (88).

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda yıllık olarak mastitisten ileri gelen ekonomik kaybın 1,5-2 milyar dolar olduğu ve bu ekonomik kayıpların 960 milyon dolarının yüksek somatik hücre sayısına sahip hayvanların sürüden çıkartılmasıyla, yerine yenisinin konulamamasından kaynaklandığı tespit edilmiştir (49, 74).

İngiltere'de yapılan çalışmada ineklerdeki sağlık problemlerinden şekillenen ekonomik giderlerin %38'inin mastitisten kaynaklandığı ve aynı hayvanların tedaviden sonra %60'ının tekrar hastalıktan etkilendiği tespit edilmiştir. Ayrıca dünyada süt üretimi kaybına neden olan hastalıklar araştırıldığında %38'lik oranla mastitisin önemli bir orana sahip olduğu görülmektedir (20, 64).

Türkiye'de Tekeli (2006) mastitisten kaynaklanan yıllık ekonomik zararın 41,5 milyon TL dolayında olduğunu bildirmiştir (109). Baştan (2007) ülkemizde ineklerin %30'unda mastitis olduğunu ve yalnızca süt verimindeki azalma ile oluşan kaybın 57,7 trilyon TL olduğunu iletmiştir (12).

2.3. Mastitislerde Sınıflandırma

2.3.1. Klinik Seyrine Göre Sınıflandırma

2.3.1.1. Klinik Mastitis

Klinik mastitis hem meme dokusunda hem de sütte makroskobik olarak görülen yangısal değişiklikleri ifade eder. Meme dokusunda; şişkinlik, kızarıklık, ağrı ve sıcaklık artışı gibi lokal yangı semptomlarıyla birlikte sütte sulu kıvam, kan, pıhtı ve kötü koku olabilir. Klinik mastitis olan meme lobunda süt üretimi azalır ya da tamamen durabilir (4, 12, 61, 98). Çoğunlukla lokal olarak mastitis devam etse de şiddetli olgularda sistemik enfeksiyon halini alarak ineğin genel klinik durumunu da bozabilir (29, 56, 101).

Klinik mastitisler; perakut mastitis, akut mastitis, subakut mastitis ve kronik mastitis olarak incelenirler.

Sütçü işletmelerin ekonomik kayıplara uğramasında önemli nedenlerden biri de klinik mastitislerdir. Bu vakalarda ilaç ve veteriner hekim masrafları (4, 36, 118), ilaç kalıntısı olan ve kontamine olmuş sütlerin tüketime sunulamaması (4, 45, 67, 118), süt veriminde azalma (3, 48, 67), ineğin sürüden çıkartılması (4, 67, 89) ve reproduktif faaliyetlerde azalmayla birlikte postpartum hastalıklara predispozisyon oluşması (67) gibi problemler işletmeyi ekonomik yönden zarara uğratmaktadır.

İngiltere’de Hillerton ve ark. (2005) yaptıkları çalışmaya göre klinik mastitis sebebiyle oluşan ulusal ekonomik kaybı, yıllık yaklaşık 105 milyon £ olarak bildirmişlerdir (51).

2.3.1.2. Subklinik Mastitis

Klinik olarak meme bezinde ve sütte herhangi bir belirtinin olmadığı ancak çeşitli ayıraçlar ve laboratuvar muayene yöntemleri ile teşhis edilebilen mastitis türü subklinik mastitistir (12, 13, 48, 56).

Mastitisin en yaygın formu subklinik mastitistir. Klinik mastitislerden çok daha fazla görülmekte ve sürü problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Hayvan yetiştiricilerinin gözle görülür bir bozukluk fark edememesi ve memenin dış görünüşünde ya da sütte herhangi bir bozukluğun anlaşılamaması subklinik mastitisin yaygın görülmesinin nedenleri arasındadır (4, 12).

Subklinik mastitisin klinik mastitise oranla daha büyük ekonomik kayıba neden olduğu düşünülmektedir (12, 30, 104, 118). Mastitis nedeniyle oluşan ekonomik kayıplar %70-80 oranında subklinik mastitis sebebiyle oluşmaktadır (88). Mastitislerde şekillenen ekonomik kayıpların büyük çoğunluğu ise süt veriminin ve süt kalitesinin düşmesinden kaynaklanmaktadır (12, 21).

Subklinik mastitisler persistent forma geçerek klinik semptom göstermeden, klinik mastitislerin ortaya çıkmasına ve önemli mastitis patojenlerinin yayılmasına neden olabilirler (13, 78). Bu sebeple subklinik mastitisli inekler, enfekte olmayan diğer inekler için risk faktörüdür (51).

Subklinik mastitisler reproduktif faaliyetleri olumsuz etkileyebilirler. Erken laktasyon döneminde subklinik mastitis teşhis edilen ineklerin reproduktif performanslarının olumsuz etkilendiği, endokrin düzenlerinin ve foliküler gelişimlerinin sekteye uğradığı saptanmıştır (95).

Meme savunmasında rol alan kan hücreleri, kandan meme lobuna göç eder ve yangının erken döneminde bakterileri elimine edebilirlerse kandan meme lobuna hücre geçişi durur, meme ve sütteki hücre sayısı normal seviyelere iner. Aksi olduğunda, savunma hücreleri damar çeperlerinden dokulara sızarak hücre göçü (lökodiapedesis) başlar ve yangı giderek artar. Yangının şiddetlenmesi, meme parenşimine zarar verir. Meme parenşimindeki hasar nedeniyle süt üretimi azalır (105). Subklinik mastitis

formunda; sütün mililitresindeki (ml) ilave her 100.000 SHS, süt veriminde %5'lere varan bir azalmaya denk gelmektedir (51).

İşcan (1993), subklinik mastitislerde inek başına ortalama %20 civarında bir süt verimi kaybını, Alaçam (1997), Şimşek ve Aksakal (2005) ise subklinik mastitislerin memelerde %3-26 arasında bir süt kaybına yol açtığını bildirmişlerdir (4, 56, 108).

Subklinik mastitis nedeniyle çeşitli ekonomik kayıplar olmasına rağmen süt verimindeki azalmadan kaynaklanan ekonomik kayıplar, en önemli maliyeti oluşturmaktadır (118).

Subklinik mastitisli memelerden sağılan sütler, içerdikleri hücre sayısının fazla olması nedeniyle düşük kaliteli süt olarak bilinmektedir. Buna göre süt kalitesine göre ödeme yapan işletmelerde yüksek hücre sayısına sahip sütler düşük fiyatla ücretlendirilmektedir (89).

Subklinik mastitisli sütler, süt bileşiminin bozulması nedeniyle de düşük kaliteli sütler olarak kabul edilirler (82). Bu sütlerde kazein, laktoz (4, 12, 46, 48, 56) ve yağ içeriğinde azalma (4, 12, 46, 48, 56, 118), buna karşılık sığır serum albumini ve immunoglobulin (Ig) gibi kan orijinli proteinlerde ise artış olmaktadır. Yangı hücrelerinin göçü, aktif hale geçmeleri ve fagositozis işlemleri sırasında, süt sentezleyen hücrelerde farklı oranlarda harabiyet meydana gelmektedir. Bu sırada, hücresele N-asetil-B-Dglukozaminidaz gibi enzimler açığa çıkmaktadır (4, 12, 46, 48, 56). Bununla birlikte, mastitislerde, meme dokusundaki geçirgenliğin artışı sebebiyle, sütün iyonik bileşimi de değişmektedir. Sütteki sodyum (Na^+) ve klor (Cl^-) miktarı artarken, potasyum (K^+) oranı azalmaktadır (4, 12, 48, 56).

2.3.2. Etken Türüne Göre Sınıflandırma

Mastitisin birincil nedeni bakteriyel enfeksiyonlardır. Süt, bakterilerin üremesi için oldukça uygun bir besiyeridir. Bakteriler çoğunlukla, meme başı deliğinden giriş yapıp meme başı kanalında ilerler ve memeye ulaşırlar (12, 49, 61, 105). Bakterilerin meme dokusuna bu şekilde ulaşmasına; asendens bulaşma denilmektedir. Bununla birlikte, meme derisi ve meme başının lokal yangıları sonucunda perkutan yolla da kontaminasyon olabilmektedir. Bazı etkenler ise meme bezlerine, genel enfeksiyonlar nedeniyle (tüberkülozis ve bruselloziste vb.) hematogen yolla bulaşırlar (49).

Mastitise mikroorganizma türüne göre sınıflandırıldığında bulaşıcı (kontagiyöz) ve çevresel patojenler olarak iki bölümde sınıflandırılmaktadır (4, 33, 54, 78, 84).

2.3.2.1. Kontagiyöz Bakteriyel Patojenler

Bulaşıcı bakteriyel patojenler, meme başı yaralarında ve meme derisinde bulunur. Özellikle sağım sırasında hayvandan hayvana bulaşma şekillenir (4, 33, 41, 48, 54, 122). Sağımlar sırasında, sağım makinesi ve kurulama bezleri gibi araçlarla hayvandan hayvana bulaşma olur. Ayrıca meme enfeksiyonları sağaltım sırasında iatrojenik olarak da bulaşabilir. Memeye sonda takılması, kontamine antibiyotik preparatları ve kontamine sondaların kullanılması ile memenin enfekte olma ihtimali yüksektir. (61, 4).

En yaygın bulaşıcı bakteriyel patojenler, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* (4, 33, 48, 54, 78, 88), *Mycoplasma* türleri ve *Corynebacterium bovis* tir (33, 78, 88).

Koagulaz-pozitif bir stafilokok olan *Staphylococcus aureus* (7, 28), fırsatçı ve en çok bulaşan patojendir (122). Etken her daim deride ve mukoz membranlarda yaşamaktadır. Hayvanların stres veya farklı hastalıklar sebebiyle savunma sistemlerinin zayıflaması durumunda ya da memelerdeki deri bütünlüğünün bozulmasıyla *Staphylococcus aureus* enfeksiyona sebep olur.

Staphylococcus aureus mastitisleri, genellikle akut ve klinik mastitise sebep olmasına rağmen kronik ya da subklinik mastitise de neden olabilmektedir. Klinik olarak kontamine olan meme lobunda kızarıklık, ödem, şişkinlik, sertlik ve ağrı oluşabilir. Süt ise pıhtılı, kanlı veya irinli olabilir (7, 13, 56). Perakut-akut mastitis tablosunda ise sistemik bulgular da gözlenir. İştahsızlık, 42°C'ye kadar artabilen vücut sıcaklığı, letarji, ayağa kalkamama ya da koma görülebilir. Bu durumu takiben meme lobunda yangı bulguları ve gangren de şekillenir (13). Süt, kanlı ve kötü kokulu bir hal alır, içerisinde pıhtı ve doku parçaları görülür. Bu tip mastitislerin sağaltımı pek mümkün olmamakla beraber, genellikle toksemiden ölüm görülebilir (7, 13, 56). Ölümün şekillenmediği durumlarda ise, hastalık kronikleşerek bakteriler meme lobunda uzunca bir süre varlık gösterirler (7, 13). Kronik vakalar, memede yavaş yavaş sertleşme ve atrofi ile karakterizedir. Süt üretimi çok büyük oranda azalır (12).

Staphylococcus aureus mastitislerinin sağaltımı oldukça zordur. Bunun nedeni; etkenin penisilinaz üretmesi ve memenin derin dokularına yerleşen etkene intrasisternal uygulanan antibiyotiklerin etkili olamamasıdır. Bu nedenle sağaltımların kuru dönemde yapılması gerekmektedir (13).

Streptococcus agalactiae subklinik mastitis olarak başlayan ve daha sonra kronikleşerek memenin körelmesine neden olabilen çok bulaşıcı bir patojendir. İneklerin kronik kataral mastitisi olarak bilinen bu mastitislerde, enfeksiyon iki aşamada gözlemlenir. İlk başta hafif seyirli olup, klinik semptomlar pek belirgin değildir. Bu aşamadaki enfeksiyonlar giderek şiddetlenip ve akut bir seyir alabilir (7, 13, 56). *Streptococcus agalactiae* bir obligat patojendir. Tabiatıta canlı kalamaz ve hayvan memesinde yaşamak zorundadır. Subklinik seyrinden ötürü erken tanı için California Mastitis Testi (CMT), elektriksiksel iletkenlik (Eİ) testi, *Whiteside Testi* ve *Wisconsin Mastitis Testi* gibi metodlar kullanılıp, antibiyogram bakılarak uygun antibiyotiklerle sağaltım yapılabilir (7).

Koagulaz-pozitif stafilokoklar'dan, *Staphylococcus aureus* ile birlikte, *Staphylococcus intermedius* ve *Staphylococcus hyicus*, mastitis patojenleri arasında bulunur.

Sütten izole edilen koagulaz-negatif stafilokoklardan (KNS) en sık görülen *Staphylococcus epidermidis*'tir. Patojenitesi düşüktür ve normal flora olarak kabul edilir. Sağlıklı meme ve normal süttten de izole edilebilir. Ancak meme içi bakterilerden olduğu göz ardı edilmemelidir (13, 28).

Mycoplasma spp. ve *Acholeplasma*'lar da mastitis olgularında izole edilmektedir. *Mycoplasma bovis*, bu patojenler arasında en sık izole edilen mikroorganizmadır. Hastalıkta perakut süt verimi durur. Meme bezleri hastalığın başında şişkin, sert ve ağrısızdır. Sistemik semptom yoktur, ancak nadiren artritis şekillenebilir. Etken sürüde hızla bulaşır ve laktasyondaki hayvanlarda tüm meme lobları etkilenir. Süt sağımından hemen sonra normal görünür, ancak kısa bir süre sonra çökelti oluşur. İlk dönemde meme lobları şişkin ve sert iken sonradan gevşek bir duruma gelerek bu durum haftalarca devam edebilir. Hayvanlarda klinik olarak iyileşme olur ancak meme bezleri eski fonksiyonuna geri dönemez. İyileşen meme loblarında bir yıldan daha fazla süreyle mikroorganizmalara rastlanır (49).

2.3.2.2. Çevresel Bakteriyel Patojenler

Çevresel patojenler, hayvanların yaşadığı çevrede bulunurlar (33, 48, 54, 78). Bu patojenler çevrede olmaları nedeniyle meme bezlerine özel bir ilgi göstermeseler de akut olarak klinik enfeksiyonlara neden olurlar. Sistemik bulgularla hayvanın genel durumunu bozan enfeksiyonlarla seyrederler.

En sık izole edilen çevresel patojenler; *Streptococcus uberis* ilk başta olmak üzere *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equinus* ve *Streptococcus equi* gibi çevresel streptokok türleri ve Gram-negatif bakterilerdir (33, 54, 78, 88, 112). Mastitis patojeni olan Gram-negatif bakterilerde en çok izole edilenler *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. olmak üzere, *Klebsiella*, *Oxytoca*, *Enterobacter* spp. ve *Citrobacter* spp.'lerdir ve koliform matitis grubuna girerler.

Streptococcus uberis çoğunlukla hafif klinik tablo oluşturmaya rağmen kronik mastitislere neden olurlar. *Streptococcus equi*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans* daha nadir olarak izole edilirler.

Streptococcus pyogenes mastitisleri zoonoz olması nedeniyle önemlidir. Mastitis şekillenen memeden sağılan sütlerde bol miktarda etkene rastlanır ve enfekte inek sütlerini tüketen insanlarda, üst solunum yolları enfeksiyonu görülmüştür (49).

Escherichia coli, bu grubun en önemli patojenidir. Etken fakültatif anaerobiktir, perakut-akut mastitislere sebep olur (7). Etken hücre duvarında endotoksin bulundurur ve bu nedenle içine girdiği tüm dokuların hücreleri için toksik etki gösterir. Bu nedenle toksinler sebebiyle sistemik bulgular oluşur (13). Normalde barsak florasında bulunmasına rağmen, hijyenik koşulların yeterli düzeyde olmaması nedeniyle dışkıların meme ile teması şekillenir ise meme kontamine olur (56). Doğumda hayvanların yere yatması ve dışkı ile temas etmesi nedeniyle, çoğunlukla postpartum ilk birkaç gün içinde görülür. Kontamine ve kirli sular, eller, meme temizliğinde kullanılan havlular bulaşmaya neden olur. Ahırda yapılan sağımlar dışkı ile temas riskini artırdığından ahırda yapılan sağımlarda matitis riski artar (13).

Arcanobacterium pyogenes bulaşmasında insektler önemli rol alır (33). Kuru dönemde inek ve düvelerde, sporadik perakut – akut olarak enfeksiyona neden olur. Yaz mastitisi olarak bilinen hastalık miks bir bakteriyel enfeksiyon olup, merada otlayan hayvanların immatür ve laktasyonda olmayan meme bezlerinde mastitis oluşturur (13, 56). Düvelerin salgın yaz mastitisi olarak adlandırılan hastalığın etkenleri, *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Peptococcus indolicus*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Fusobacterium necrophorum* gibi anaerob bakterilerdir. İneklerde laktasyonda veya kuruda görülen formu ise “ineklerin piyojen mastitisi” olarak adlandırılmaktadır. Bulaşma bütünlüğü bozulmuş meme başı derisinden

sineklerin kontaminasyonu sonucu oluşur. *Arcanobacterium pyogenes* mastitislerinde nekrotik supuratif galaktoforitis şekillenir ve enfekte meme bölümlerinde hasar oluşur (13, 49).

Çevresel patojenlerin kaynağı, dışkı altlık, yem, su, bitki, sağım ekipmanı, sağım personeli, kullanılan kurulama bezleri ve topraktır. Çoğunlukla kış aylarında ahırda beslenen hayvanlarda ve hayvan başına düşen alan azaldığında, çevresel patojenlere bağlı olan mastitislere yakalanma ihtimalinde artış gözlenir. Yaz aylarında ise meraya çıkma ile birlikte insektlerin sebep olduğu çevresel patojen kökenli mastitisler daha çok gözlenir (88).

2.3.2.3. Fırsatçı Mikroorganizmalar

Koagülaz-negatif stafilokoklar ve *Corynebacterium bovis*, memede genellikle saprofit olarak yaşayan fırsatçı etkenlerdir. Bu mikroorganizmalar çoğunlukla subklinik mastitislere neden olurlar ve en yaygın basit mastitis etkenleri olarak görülmektedirler (48, 122).

İneklerde KNS'ler nedeniyle şekillenen subklinik mastitisler sık görülmektedir ve sürü enfeksiyonuna neden olarak yayılmakla birlikte verim düşüklüklerine sebep olabilmektedir (110).

Corynebacterium bovis'in, KNS'lerin ve tam karakterize edilememiş mikroaerofilik ve anaerobik mikroorganizmaların meme bezinin normal ekolojisini oluşturduğu düşünülmekte, bu floranın zaman zaman diğer mikroorganizmalar nedeniyle bozulduğu bildirilmektedir (49). KNS ile enfekte meme loblarında süt veriminin artış gösterdiğini savunan görüşler (110) olmakla birlikte, KNS'ler ile kontamine meme loblarında oluşan kaybın yüksek olmadığı ve bununla birlikte kazanılan bağışıklığın diğer etkenlerle enfeksiyon riskini azalttığından faydalı olduğunu bildiren görüşler de bulunmaktadır (88). Bu görüşlere karşıt olarak ise somatik hücre sayısı artışı nedeniyle süt kalitesinin bozulduğunu, süt veriminin azaldığını ve klinik mastitis görülme sıklığının arttığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (83, 110).

Koagülaz-negatif stafilokok türünde birçok etken bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın olanlar ise; *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hyicus* ve *Staphylococcus hemolyticus*'tur.

2.3.2.4. Diğer Mikroorganizmalar

İneklerde çevresel, bulaşıcı ve fırsatçı mikroorganizmaların yanında çeşitli etkenler mastitis oluşmasına neden olurlar. Bunlar *Candida* spp., *Mycobacterium* spp. ve *Cryptococcus neoformans* gibi mikroorganizmlardır. Bu mikroorganizmaların neden olduğu mastitisler tekrarlayan intrasisternal (İS) penisilin sağaltımları sonucu oluşur (49, 56).

Mastitise neden olan diğer bir etken olan *Nocardia asteroides*, toprakta ve çevrede yaygın olarak bulunmakla birlikte hijyen kurallarına dikkat edilmediği takdirde bulaşır ve sporadik olarak görülür (13, 56).

Pseudomonas aeruginosa, agalaksiye dahi neden olabilen bir mikroorganizmadır. Bu patojen nedeniyle oluşan mastitisler nadir görülmesine rağmen bakterinin, dezenfektan ve antibiyotiklere dirençli olmasından dolayı hijyen kurallarına çok önem gösterilmesinin gerektiği mastitis çeşitlerindendir (56).

Bacillus spp.'ler ise kuru gübre ve havada asılı kalabilen ve taşınabilen, kontamine süt örneklerinde bulunabilen patojenlerdir (56).

Bazı viral etkenler mastitis oluşumuna neden olurken, bazı viral etkenler de meme derisi ve başında oluşturdukları lezyonlar nedeniyle sekonder enfeksiyona neden olurlar. Nadiren mastitis oluşumuna neden olan viruslar; *Bovine Herpes Virus-1* (BHV1), *Bovine Herpes Virus-4* (BHV4), *Şap Hastalığı Virüsü* (FMDV), *Parainfluenza-3 Virus* (PI3), *Bovine Leukaemia Virus* (BLV) olarak tespit edilmiştir (117).

2.4. Mastitise Duyarlılık ve Direnç

2.4.1. Mastitise Duyarlılığı Arttıran Faktörler

2.4.1.1. Yaş ve Laktasyon Sayısı

Süt ineklerinde yaş ve buna bağlı olarak laktasyon sayısı arttıkça mastitise duyarlılık artmaktadır (4, 12, 13, 41, 56). Yaşa bağlı olarak meme başı sarkarak yere yaklaşmakta, travmaya uğrama ve zeminden kontamine olma ihtimali artmaktadır. Ayrıca meme başı sfinkteri gevşemekte, bu da mikroorganizma girişine zemin oluşturmaktadır (4, 12, 13).

Mastitis insidensi birinci laktasyonda ortalama %8,6, ikincide %30, üçüncüde %42, dördüncüde %44, beşincide %52 olarak bildirilmiş, 5. ve 15. laktasyona kadar da %56 civarında görülebileceği rapor edilmiştir (4).

2.4.1.2. Laktasyon Dönemi

Laktasyon dönemi mastitis görülme sıklığı açısından büyük öneme sahiptir. Laktasyonun ve kuru dönemin her anında mastitis görülebilmektedir. Yapılan çalışmalara göre mastitis, en sık doğumdan sonraki 60. ve 90. günler arasında oluşmaktadır (4, 31, 67, 68). Yeni doğum yapmış ve yüksek süt verimli inekler mastitise özellikle duyarlıdır (13, 84). Özellikle doğum öncesi, sonrası dönemler ve kurudan laktasyona, laktasyondan kuru döneme geçiş dönemleri inek meme bezinin enfeksiyonlara karşı en hassas olduğu dönemlerdir (4, 51).

Sağmal ineklerin, doğum sonrası negatif enerji dengesi artar, bu nedenle hastalıklara daha duyarlı olurlar (67).

Birçok meme içi enfeksiyon kuru dönemde latent olarak başlar ve laktasyonun ilk döneminde subklinik veya klinik mastitis formu olarak açığa çıkar (4, 95). Bunlar, doğum ve laktasyon başlangıcı ile alakalı olarak stres, sistemik dolaşımdaki fagositik nötrofil sayısında azalma, gecikmiş yangısal tepki ve nötrofillerin bakteri fagosite etme yeteneğindeki zayıflama nedeniyle, bağışıklık yanıtı azalması nedeniyle ortaya çıkmaktadır (84).

Postpartum ineklerde oluşan immunosupresyon, beta hidroksibutirat gibi metabolitler ve büyüme hormonu, kortizol, gebelik glikoproteini gibi hormonların yangısal cevabı etkilediği düşünülmektedir. Doğum sonrasında nötrofil kemotaksisinde ortaya çıkan problemin, nötrofillerin yüzeyindeki L-selectin ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (80).

Yeni doğum yapmış ineklerde nötrofillerin oksidatif metabolizmasındaki gerileme, beraberinde opsonin düzeylerinde de eksiklikler tespit edilmiştir (27). Laktasyonun erken döneminde artan koliform mastitis insidensi ile kandaki nötrofillerin sayı ve fonksiyonlarındaki azalma arasında doğru orantı tespit edilmiştir (23). Laktasyon başlangıcındaki sütçü ineklerde, sütte bulunan nötrofillerin sayısında bir azalma olduğu kanda ve sütte bulunan nötrofillerin *Staphylococcus aureus*'a karşı bakterisidal aktivitelerinde de bir azalma olduğu tespit edilmiştir (31). Kan ve sütteki nötrofiller, fagosite ettikleri bakterileri öldürmek için önemli reaktif oksijen

metabolitleri üretebilme kabiliyetine sahiptirler (62, 69). Erken laktasyon döneminde kan ve sütteki nötrofillerin reaktif oksijen metabolitleri üretebilme potansiyeli, orta ve geç dönem laktasyona göre düşüktür (68).

İmmunoglobulin (Ig) M, erken dönemde üretilmesi, komplement bağlama aktivitesi ve etkili bakteriyel aglutinasyon reaksiyonları kabiliyetleri sebebiyle, bakteriyel ve paraziter hastalıklara karşı dirençlilikte çok önemlidir (18). Ayrıca doğum sürecinde serum Ig M konsantrasyonu da azalma görülmektedir.

Ig G₂, nötrofil opsonizasyonu ve ADNC [antikor bağımlı nötrofil sitotoksitesi (Antibody-Dependent Neutrophil Cytotoxicity)] için çok önemlidir. Ig G₁ konsantrasyonu buzağılamaya bir hafta kala azalmakta ve doğumu takiben eski seviyelerine dönmektedir. Ancak serum Ig G₂ konsantrasyonu ise ancak buzağılama sonrasındaki 2.-3. haftada yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Serum Ig G₂'nin doğum sonrası düşük seviyede olması, piyojenik mastitis insidensinin artmasıyla bağlantılı olduğu düşünülmektedir.

Doğum sonrasında serum Ig konsantrasyonlarının hesaplanan kalıtım derecesi, nötrofil ve lenfosit kalıtımlarından daha yüksektir. Ig izotipleri arasında ise doğumla şekillenen immunosupresyon öncesi ve sonrasında hesaplanan kalıtım derecesi en yüksek olan Ig M, immunosupresyon sırasında hesaplanan kalıtım derecesi en yüksek olan Ig ise Ig G₂'dir.

Buzağılamayı takiben memelerin ağırlıklarının artışıyla meme sfinkterlerinin gevşemesi ile birlikte, memenin zemine yaklaşması, buzağının emmesi ile mikroorganizmaların bulaşarak mastitis oluşmasına neden olduğu bilinmektedir. Doğum sonrası dönemde bazı sistemik hastalıklardan hipokalsemi, hipomagnezemi, retensiyo sekundinarum ve piyometranın hayvanın bağışıklığını düşürerek mastitis oluşmasını kolaylaştırdığı ortaya konulmuştur. Retensiyo sekundinarum teşhis edilen ineklerde, periferik nötrofillerin kemotaktik aktivitelerinin de azalmaya meyilli olduğu bildirilmiştir (27).

Kuru dönemde meme lobları yeniden yapılanmaya girererek bir önceki laktasyonda memede meydana gelen enfeksiyonlar ve travmalar sonucu oluşan hasarı giderir. (61). Kuru dönem süresi kısa tutulduğunda meme rejenere olamaz ve mastitise karşı daha duyarlı olur. Yapılan çalışmalar kuru dönemi kısa tutulan hayvanlarda, doğum sonrası mastitis olma riskinin arttığı gösterilmiştir (79, 88).

2.4.1.3. Süt Verimi

Süt verimi ve mastitis arasında pozitif yönlü bir korelasyon vardır (34, 36, 74). Süt verimi yüksek ineklerde mastitis gözlenme olasılığı da yüksektir (4, 13, 45). Verimi yüksek hayvanlarda yapılan seleksiyon ve genetik ıslah ile birlikte mastitis insidensi artmakta ve buna bağlı olarak sağaltım kayıpları da artmaktadır (32, 100).

Diğer bir yönden de yüksek süt verimli ineklerin metabolik hastalıklara yakalanma ihtimalleri daha yüksektir. Postpartum dönemde ortaya çıkan hipokalsemi, hipomagnezemi gibi metabolizma hastalıkları, hayvanların genel vücut direncini zayıflatarak, mastitis oluşmasına ortam sağlarlar (88).

2.4.1.4. Irk

İneklerde, mastitise karşı genetik bir duyarlılık olduğu bilinmekte ve yerli ırkların kültür ırklarına göre daha dirençli olduğu görülmektedir. Holştayn ve Danimarka kırmızısı ineklerin, yerli ırklara göre mastitis yönünden daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir (88). Mastitise karşı, ineklerde genetik duyarlılığın etkili olduğu bazı özellikler vardır. Bu özellikler; memelerin lateral ve median ligamentlerinin pelvise bağlanma sağlamlığı ve genişliği, memelerin şekil ve büyüklüğü, meme başlarının uzunluk ve biçimleri, sağılabilme özelliği, yüksek süt verimi ve memenin mikroorganizmalara karşı koyma gücü gibi faktörlerdir (4, 88).

2.4.1.5. Sağım

Bakterilerin meme başı kanalından meme bezine girişi ile mastitis oluşur (12, 13, 105). Bu nedenle meme başının uç kısmı, memenin mastitis etkeni patojenlere karşı ilk savunma mekanizmasıdır (105). Meme başının uç kısmındaki sfinkterler sağımlardan sonra sıkıca kapanarak memeyi korur (13, 84, 100, 105). Bu sfinkter kaslarının gevşek olması mastitis oluşumu ile orantılıdır (13, 105). Meme kolay sağılıyorsa meme başı sfinkterleri gevşek, zor sağılıyorsa sfinkterler sıkı durumdadır. Buna göre kolay sağım yapılan memelerde mastitis insidensi daha yüksektir (12, 46).

2.4.1.6. Meme Başının Anatomisi

İneklerde mastitis oluşmasında, meme ve meme başlarının anatomik yapısı direnç gelişimi konusunda önem arzeder. Sütçü inek yetiştiriciliğinde seleksiyon özellikleri olarak meme ve meme başının anatomik yapısına göre seçimler yapılmaktadır (84).

Meme ve meme başlarının anatomik bozuklukları, mastitis etkenlerinin memelerde birikmesine ve meme içine girmesine neden olmaktadır. Büyük, sarkık, gevşek ligamentli memeler, travmalara predispoze olmaları ve yere yakın olmaları nedeniyle kontaminasyona daha yatkındırlar ve bu nedenle mastitise karşı daha duyarlıdırlar (4, 12, 13, 60).

Meme başının ucu etkenlerin memeye girişini önler (100). Konik şekilli meme başları, silindirik meme başlarına göre mastitise daha duyarlıdır (4, 12).

Meme başlarının uzunluğu ve çapı da mastitis duyarlılığı açısından önemlidir. Meme başı kanalı çapı arttıkça, enfeksiyon olasılığı artar (12). Meme başı yerden 40 cm'den daha yüksekte ve meme başı uzunluğu en fazla 6,5 cm olmalıdır (4, 12). Sağrı kemiğinden yere mesafe en az 134 cm olmalı ve ön meme başları arası uzaklık, laktsayonda en fazla 28 cm, kuru dönemde en fazla 11 cm olmalıdır. Ön ve arka memeler arası 15 cm'den kısa olmalıdır. Tüm bu kriterler mastitis duyarlılığı açısından önem arzetymekte ve ıslah çalışmaları bu kriterlere göre yapılmaktadır.

Memelerin anatomik bozuklukları ve memelerde oluşan travmalar mastitise karşı direnci olmusuz yönde etkiler. Memelerdeki ve meme başlarındaki yaralanmalar, mikroorganizmaların lezyonlu bölgelerde birikerek koloni oluşturmalarını sağlayarak mastitis oluşumuna neden olurlar (12, 88).

Sağım sırasında meme başı derisinde oluşan çatlaklar sağım hijyeninin yetersiz olduğu zamanlarda mastitis oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Ayrıca tırnak bakımı yetersiz olan inekler, memelere basarak yaralanmalara neden olduğundan mastitise oranını arttırmaktadır.

Memeden sütün boşaltılması için sonda uygulanmasında, infüzyon sondası uygulamalarında ve İS ilaç uygulamalarında asepsi ve antisepsi kurallarına riayet edilmemesi meme enfeksiyonu riskini artırır. Ayrıca meme cerrahisinde asepsi antisepsiye özen gösterilmemesi de mastitislere yakalanma riskini artırmaktadır (12).

2.4.1.7. Barınak

Sütçü işletme barınaklar kuru, hijyenik, gürültüden uzak ve hayvanları strese sokabilecek etkenlerden uzak olmalıdır (13, 67, 84). Barınakların yapısı, büyüklüğü, altlık olarak kullanılan materyallerin çeşitleri, havalandırma ve aydınlatma matitis açısından önemli faktörlerdir (4, 12, 13).

Barınaklarda ineklerin bağlandığı bölümler yeterli miktarda, hayvanın sıkışmayacağı şekilde geniş ve uzun olmalıdır. Barınaklarda uzunluk ve genişliğin yeterince olmaması, yatıp kalkma esnasında meme başlarına basarak yaralanmalara neden olur. Ahır tipi sürekli bağlı kalan hayvanların yetiştirildiği işletmelerde meme travmalarına ve buna bağlı mastitise daha çok rastlanılmaktadır.

Ahır ve barınaklarda dışkı ve idrar, bulaşık pis ve ıslak yataklıklar patojenlerin üremesine uygun ortam oluşturlar. Ayrıca barınaktaki havalandırmanın yetersiz oluşu da meme enfeksiyonlarına karşı duyarlılık sebebidir (4, 12).

Havalandırmanın yetersiz olduğu işletmelerde solunum yolu enfeksiyonları diğer işletmelere göre daha fazla ortaya çıkmakta, bu da hayvanların bağışıklık sistemini düşürerek mastitis oluşmasına dolaylı yoldan sebep olmaktadır. Havalandırmanın yeterli olmadığı ahırlarda nem artacağından mikroorganizmaların yaşayabileceği ve çoğalabileceği uygun ortam oluşur ve ineklerin çevresel mastitislere yakalanma ihtimali artar. Bunlarla birlikte havalandırmanın yetersiz olması, zayıf ısıtılma ya da fazla ısıtılma, artan nem ve sıcaklık, hayvanların strese girmesine sebep olarak, mastitis riskini arttırmaktadır (88).

Küçük işletmelerin ahır tipi yetiştiricilik yapması nedeniyle çoğunlukla görülen mastitisler kontagiyöz mastitislerdir. Büyük ve serbest sistemli işletmelerde ise daha çok çevresel mastitis problemleri görülmektedir (101).

2.4.1.8. Sağım Özellikleri

Sağım ile mastitis riskleri ve mastitis sağaltımı arasında çok yakın bir ilişki vardır (4, 12, 13, 46, 67, 84).

Mastitis patojenlerinin büyük bir kısmı, çoğunlukla kontagiyöz mastitis etkenleri, enfekte memelerden diğerlerine sağım sırasında sağım makinesi, personellerin elleri, kurulama havluları gibi yollarla bulaşmaktadır. Bu nedenle, sağımlar yapılırken belli bir düzen oluşturulmalı ve bu düzene göre sırasıyla sağlıklı düveler, sağlıklı inekler, sağaltılmış inekler, yaşlı inekler ve en son olarak da enfekte inekler sağılmalıdır. Bu gruplandırmanın güç olduğu durumlarda en kötü ihtimalle enfekte inekleri ayırarak, son sağıma onları yerleştirmek bile uygulanabilecek önemli önlemlerden biridir (4).

Mastitisten korunma için uygulanması gereken işlemlerden; uygun sağım yönteminin seçilmesi, sağım öncesi meme hijyeninin sağlanması, sütün indirilmesinin

uyarılması, memelerin tamamen boşaltılması ve sağım sonrası memelerin dezenfeksiyonu gibi işlemler kantagiyöz mastitisin yayılmasını engelleyebileceği gibi çevresel mastitislerden de korunma sağlar (12).

Memeler belirlenen zaman dilimlerinde ve tüm meme içi süt boşaltılacak şekilde sağılmalıdır. Memede kalan sütler patojenlerin üremesi için uygun ortam oluşturduğundan mastitise duyarlılığı önemli ölçüde artırır (12, 13).

Sağım için sağım öncesinde memelerin ve meme başlarının uyarılması sütün indirilmesini için gereklidir (46, 67, 84). Uyarım olmadan sağım başlatıldığında memedeki sütün tamamı boşaltılamaz.

Sağım öncesinde memelerin ılık su ile yıkanması ve kurulanması şeklindeki fiziksel ve kimyasal temizlik işlemi hem hijyenik koşulları sağlarken hem de fiziksel olarak oluşturulan uyarı beyne, oradan hipofiz bezine ulaşır. Bu uyarım, hipofiz bezinin arka lobundan oksitosin salgılanmasını sağlar. Oksitosin kandan memelere ulaşarak, alveol ve duktus laktiferusların etrafındaki kasların kasılmasını sağlayarak, genişleyen alveol ve kanallardan sütün sinuslara inmesini sağlar (12, 13). Oksitosinin etki süresinin sekiz dakika olduğu bildirilmiştir (12). Sağımın oksitosinin etki süresi içinde tamamlanması gerektiğini savunan çalışmalarla (13) birlikte, uygun sağım süresinin 10 litre (lt) süt sağımı için beş dakika ve ilave her beş lt için ek olarak birer dakika artış olması gerektiğini savunan çalışmalar da mevcuttur (46).

Oksitosinin sütün indirilmesi üzerinde çok önemli ve pozitif yönde etkileri vardır. Adrenalin ise oksitosinle antagonist çalışarak sütün indirilmesinde olumsuz etkiler sağlar. Bu nedenle sağım öncesi hayvana kötü muamele yapmak, strese sokmak böbrek üstü bezlerinden adrenalin salgılatarak, oksitosinin etkisinin azalmasına neden olur. Hayvana sakin ve stressiz yaklaşılması sütün tam olarak indirilmesini sağlayarak mastitis riskini azaltır (12, 13).

Mastitisin bulaşması sağım hijyeni ile ilişkilidir (61). Sağım sırasında meme ve meme başındaki mikroorganizmaların sayısı arttıkça sağım ekipmanları da aynı oranda mikroorganizma taşır. Bu hayvandan hayvana etkenlerin bulaşmasına ve dolayısıyla meme içi enfeksiyonların insidensinin artmasına neden olur (12, 13). Bu sebeple makineli sağımlarda meme hijyeni daha da önemlidir. Mastitis insidensini azaltmak için sağım hijyenine dikkat edilmesi gereklidir. Sağım öncesi memeler ılık akan suyla yıkanarak kaba pislikler uzaklaştırılmalı, antiseptikli solüsyonlara daldırılarak tek

kullanımlık havlularla kurulanmalıdır. Sağım öncesi *teat dipping* işlemi ve kurulanma mastitis insidensini önemli ölçüde düşürür (12, 13, 67).

Memelerin yıkanma işleminden sonra yetersiz kurutulması sonucunda, meme uç kısımlarında biriken su damlacıkları sağım ekipmanlarını kontamine edebilmektedir. Bu yüzden, bazı ülkelerde kirli olmayan meme başlarının kuru olarak silinmesinden sonra *teat dipping* uygulanmaktadır (84).

Memelerin hijyenik olarak sağıma hazırlanmasından sonra bir miktar süt muayene edilmelidir. İlk sağılan sütün ahır zeminine akıtılması kontaminasyona neden olmaktadır. İlk sağım sütünün yani ön sütün *strip cup testi* (SCT) ile muayenesi yapılmalıdır. Bu muayene erken tanı için önemli olmakla birlikte henüz meme başından meme içine girememiş etkenlerin elimine edilmesi için de önemli bir işlemdir (4, 12).

Sağım öncesinde *teat dipping* yapıldıktan kısa bir süre sonra, sağım makinesi başlıkları takılabilir (87). Bu süre için standart oluşturmak gerekirse; 10- 20 saniyelik bir uyarımı takiben, 60-90 saniye sonra sağım makinesi başlıklarının takılması tavsiye edilmektedir. Sağım öncesinde yapılan *teat dipping* işlemi, bakteriyel kontaminasyonu en aza indirmektedir (67). *Teat dipping* işleminin kontagiyöz mastitis insidensini azalttığı tespit edilmiştir (84). Ancak sağım öncesi *teat dipping* işlemi dezenfektan kalıntısı yönünden riskli olması nedeniyle bazı Avrupa Birliği ülkelerinde yasaklanmıştır (67, 84).

Sağımdan sonra, *teat dipping* ineklerin tüm meme başlarına uygulanmalıdır (4, 67). Bu işlem çoğu işletme de uygulanmakta ve meme enfeksiyonlarının insidensini asgari %50 oranında azalttığı bildirilmektedir (4, 84). *Teat dipping* ile kontagiyöz mikroorganizmaların çoğu elimine edilirken, koliform grubu patojenler açısından fayda görülmemektedir (4).

Teat dipping memedeki süt kalıntıları kurumadan ve meme sfinkteri kapanmadan yapılmalıdır. Sağım sonrası *teat dipping*; meme başında ince tabaka halinde, bakteri üremesi için uygun ortamı olan sütün ortadan kaldırılmasına, meme başı ve deliğinin dezenfeksiyonuna ve yeni invazyonların önüne geçilmesine, basit yaraların kontamine olmadan iyileşmesine, insektlerin memeden uzak durmasına, subklinik mastitislerin yayılımının engellenmesine, meme başının yumuşamasına ve kolay sağım yapılarak memeyi korumasına fayda sağlar (4).

Teat dipping farklı yöntemlerle yapılabilir. Bu yöntemlerin avantajları ve dezavantajları aşağıdaki tabloda belirtilmiştir (Tablo 2-1).

Tablo 2-1: Meme Başı Dezenfeksiyon Yöntemlerinin Avantaj ve Dezavantajları

Yöntem	Avantajları	Dezavantajları
El pompası	Ucuz, taşınabilir, yeniden doldurulabilir	Uygulanması sırasında eğilmeden dolayı boşa püskürme olabilir, kırılabilir.
Basınçlı sprej	Hızlı, pratiktir.	Pahalıdır, uygulanması sırasında eğilmeden dolayı boşa püskürme olabilir, solüsyonu bayatlayabilir.
Teat dipping	Az solüsyon kullanılır.	Yavaş uygulanır, solüsyonun kontamine olabilir.
Teat dipping çubuğu	Hızlı ve geri doldurulabilir, az solüsyon kullanılır, dökülmez.	Sprej sisteminden daha yavaştır, solüsyonu kontamine olabilir.

Klorheksidin (%0,5), iyot (%0,5-1), hipoklorit (%4) solüsyonları meme dezenfeksiyonu için kullanılabilir. Dezenfektanlar memeyi irkiltici olmamalı, geniş spektrumlu olmalı ve sütte kalıntı bırakmamalıdır. İyot preperasyonlarında fosforik asit düşük, hipoklorit solüsyonlarında ise sodyum hidroksit (NaOH) %0,05'den düşük olursa meme başlarının irritasyonu azalır (4).

2.4.1.9. Beslenme

Beslenme, bağışıklık sistemi açısından önemli bir faktördür. E vitamini, selenyum, bakır ve demir eksiklikleri mastitise duyarlılığı artıran sebeplerdir (105). E vitamini ve selenyum eksiklikleri mastitis görülmesinde artış olduğundan bu açıdan diyetin düzenlenmesi mastitis insidensini hem azaltmakta hem de tedavi süresinin kısaltmaktadır (48).

Selenyum, glutatyon peroksidaz enziminin yapısında bulunur ve bu enzim, hücreleri reaktif oksijen ürünlerinden korur. Ayrıca selenyum eksikliği fagositozisi azaltmaktadır (103). E vitamini ve selenyum meme dokusunu oksidatif yıkımlanmaya karşı korumakta ve fagositik aktiviteyi arttırmaktadır (12). Süt verimi yüksek ve postpartum erken dönemde inekler mastitise daha duyarlıdır. Bu nedenle yüksek verimli sütçü ineklerde günlük rasyon, maksimum immun fonksiyon ve yanıt için yetersiz olabilmektedir (84). Bu sebeple laktasyona girmeden önce kuru dönemdeki hayvanlara E vitamini ve selenyum destekli beslenme düzenlenmelidir (12). A vitamini ve beta (β) karoten eksiklikleri de mastitis görülme derecesinde artışa sebep olmaktadır

(48). Doğum anında A vitamini, takiben E vitamini ve çinko miktarının önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir ve bu durum immun sistemi olumsuz etkileyebilir. Ayrıca postpartum oluşan negatif enerji ve protein dengesi de immun sistemi olumsuz yönde etkileyebilir. Çalışmalara göre rasyonlarına bakır ilave edilen düvelerin, diğer düvelere göre *Escherichia coli* mastitislerini daha hafif geçirdiği bildirilmiştir (84).

2.4.1.10. Mevsim ve İklim Değişimleri

Mevsim ve iklim şartlarındaki ani değişimler hayvanlarda strese neden olması itibariyle mastitis insidensini artırır (56, 88). Isı ve nem değişiklikleri latent ya da kronik seyreden mastitisleri akut ya da klinik mastitis haline gelmesine neden olabilir (88). Mastitis insidensinin, sıcak ve nemin yükseldiği mevsimlerde yine soğuk, yağışlı mevsimlerde artış gösterdiği ortaya konulmuştur (72, 88).

Yetersiz havalandırma, hayvan sayısının fazlalığı ve sıcak, nemli hava ineklerde stres sebebidir. Çevre sıcaklığının 24°C'den, nemin ise %80 oranından fazla olması hayvanlardaki stresi arttırmaktadır (88). Stres hayvanların bağışıklık sistemini baskılayarak, kortkosteroid artışına ve nötrofillerin memede fagositik aktivitesinde zayıflamaya neden olmaktadır. Böylece mastitise karşı duyarlılık artar (56, 88).

Mevsimlere göre ortaya çıkan bazı mikroorganizmalar memelerde enfeksiyona neden olur. Yaz mastitisleri, meraya çıkan hayvanlarda insektlerin taşıdığı, çoğunlukla çevresel patojenlerden *Streptococcus uberis*, *Arcanobacterium pyogenes* gibi bakteriler sebebiyle oluşarak, mastitis insidensini artırır (88).

2.4.2. Mastitise Karşı Fiziksel Savunma Mekanizmaları

İneklerin mastitise karşı çeşitli savunma mekanizmaları vardır. Bunlar; fiziksel olarak meme başı ve immunolojik savunma mekanizmalarıdır. Meme başı kanalı, farklı fiziksel ve kimyasal özellikleri nedeniyle, mastitise karşı ilk defans hattıdır. Daha sonra nonspesifik immunolojik ve spesifik immunolojik özelliklerle birlikte özel kimyasal faktörler devreye girerek, memeyi mastitisten korumaya çalışırlar. Bu mekanizmaların bir kısmı yalnız etki gösterirse de meme enfeksiyonundan korunmak için, memenin bir bütün halindeki etkileri önemlidir (100).

Patojenler meme bezine çoğunlukla meme başı kanalından girmektedirler (12, 13, 67, 100). Bu nedenle meme başının uç kısmı mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattıdır (100, 105). Meme başının ucunda “sfinkter” olarak isimlendirilen büzücü kaslar mevcuttur (13, 84, 100, 105). Bu kasların fizyolojik aktivitesinden farklı olarak daha

gevşek olması mastitis insidensini arttır (13, 56, 105). Ayrıca memede bulunan ‘Fürstenberg Rozeti’ ismi verilen güçlü kas kıvrımları meme başı kanalını kaplayarak, bakterilerin meme içine girmesine fiziksel engel olur.

Meme başı çok katlı yassı epitel ile kaplıdır ve bu epitel tarafından üretilen keratin; patojen bakterilerin invazyonunu ve üremesini engeller (4, 105). Keratinin yapısındaki miristik asit, palmitoleik asit ve linoleik asit gibi esterli ve estersiz yağ asitleri bakteriyostatik özellikleri vardır (56, 105). Ayrıca meme başı kanalındaki katyonik proteinler bakterileri ozmotik basınca duyarlı hale getirirler. Ozmolaritedeki aksaklık, patojenlerin lizisine neden olarak, mastitisten korunma sağlar (105).

2.4.3. Mastitise Karşı İmmunolojik Savunma Mekanizmaları

Memenin immunolojik savunma mekanizması, nonspesifik savunma ve spesifik savunma şeklinde iki temel bölümde incelenir (104, 105, 106).

Laktasyonda savunma, yangısal reaksiyonlar sonucu oluşan hücresel düzeyde savunmadan oluşurken, kuru dönemde savunma ise Ig’ler ile oluşturulan lokal immun yanıt şeklinde olur (28).

2.4.3.1. Nonspesifik İmmunolojik Savunma

Nötrofiller; bakteriyel enfeksiyonla ilişkili yangı sürecinin erken safhasında meme dokusu ve sütte olan lökositlerdir (Polimorf Nükleer Lökosit-PNL) (58, 104, 105, 106). Nötrofiller, kemik iliğinde 10-14 günde olgunlaşarak dolaşıma geçer ve kısa bir süre sonra da diapedezisle dokulara geçerek, 1-2 gün boyunca fagositik aktivite gösterirler (74, 80).

İneklerde mastitis etkeni patojenlerin meme başından içeri girişine ilk tepki, kandan enfeksiyon bölgesine nötrofil göçü ile olur (58, 91, 104, 106). Sağlıklı memede en çok görülen hücreler makrofajlardır ve mastitis etkenlerine karşı gözcüdürler. Makrofajlar ve epitelyum hücreleri kimyasal uyarıcılar salgılayarak, nötrofillerin alana göçünü gerçekleştirirler. Tümör nekrozis faktör, interferonlar ile interlökinlerin üretimi ve salınımı ile birlikte yangısal reaksiyon başlar (80). Oluşan yangısal reaksiyon, damar geçirgenliğini arttırarak nötrofillerin meme bezine göçüne neden olur (28).

Kemotaksis perifer kan dolaşımındaki nötrofillerin damar duvarına penetre olarak, endotelden geçip meme dokusuna ve süte göç etmesine denir (10). Mastitis etkenlerinin salgıladıkları metabolik yan ürünler, enterotoksinler ve hücre duvarı komponentleri, kemotaksise uyarıcı etki gösterir (105).

Meme enfeksiyonlarında meme bezindeki nötrofil sayısı, toplam lökosit sayısının %90'ından daha fazla olabilir (105, 106). Enfeksiyon oluştuğunda nötrofil oranı ve etkinliği artarak sürekli bir göç hali devam eder, süt sağılrsa dahi nötrofil sayısı daima yüksek olur (28, 53).

Meme bezine gelen gram-pozitif bakterilere savunma sisteminin verdiği yanıt fagositozistir (49). Meme bezinin primer hücresel savunucusu olan nötrofiller fagositoz ile memeyi korumaya çalışırlar (73, 104, 105, 106). Nötrofiller sitoplazmaları içinde antibakteriyel etkiye sahip olan büyük yoğun azurofilik granüller ve az yoğun spesifik granüller içerirler (56, 74). Nötrofiller, fagositoz görevini yerine getirdikten sonra makrofajların kendilerini hızla yok etmesi için reseptörler oluştururlar (94). Nötrofillerdeki programlı hücre ölümü (apoptozis) ve makrofajlar tarafından yok edilmesi meme dokusu hasarının artmasını engelleyerek mükemmel bir savunma sisteminin parçalarını oluşturur (80, 114).

2.4.3.2. Spesifik İmmunolojik Savunma

Spesifik immunité hücreleri makrofajlar ve lenfositlerdir (104, 105, 106). Makrofajlar; fagositoz özelliğı olan ve normal sütte görülen hücrelerin büyük çoğunluğunu oluştururlar (56, 80, 105). Makrofajların fagositik aktiviteleri, antikorlar varlığında artış gösterir. Makrofajların fagositoz özelliğı erken nonspesifik immunitede rol alırken, spesifik savunma mekanizmasında antijen işlenmesi ve sunumunda önemli bir yere sahiptir (105). Makrofajlar fagosite ettikleri patojendeki antijenleri işleyerek, polimorfik membran molekülleri (Major Histokompatibilite Kompleks "MHC" sınıf II antijenleri) ile birlikte lenfositlere sunarlar (28, 105). Bunun sonucunda antikor üretimi ve makrofajın fagositoz aktivitesi başlar (28).

Membran reseptörleri aracılığıyla antijenleri tanıyan ve antikor hücre tipi olan lenfositler, T ve B lenfositler olarak işleyiş gösterirler (28, 56, 105). T lenfositlerinin görevi hücresel immün yanıt oluşturmaktır. Farklı olarak lenfositler işlevlerine göre yardımcı, sitotoksik-baskılayıcı ve bellek hücreleri şeklinde tanımlanırlar. Antijen reseptörlerine göre bölümlendirildiğinde ise alfa/beta (α/β) ve gama/delta (γ/δ) tip lenfosit olarak adlandırılırlar (28). Yardımcı T lenfositler, ürettikleri sitokinler ile B lenfositlerin, T lenfositlerin ve makrofajların aktif olmasını sağlar (105). Sitotoksik T lenfositler, mastitislere duyarlı kılabilcek derecede yaşlı ve hasarlı hücreleri ortadan kaldırır. Bu lenfositler bazı durumlarda bakteriyel enfeksiyonlara karşı immün yanıtı

olumsuz etkileyerek baskılayıcı etki gösterebilir. Doğumu takiben erken laktasyondaki sitotoksik T lenfositler baskılayıcı, orta ve geç laktasyondakiler ise çoğunlukla sitotoksik özelliktedir. Sağlıklı meme bezinde ve sütte, sitotoksik T lenfosit oranı yardımcı T lenfositlerden daha fazladır (105). T ve B lenfositlerden başka, lenfoid hücre tipi doğal öldürücü (Natural Killer-NK) olarak adlandırılan büyük, granüler non-immun lenfositler vardır (28, 105). İneklerde meme bezinden bulunan NK hücreleri antibakteriyel özellik de göstermektedirler. B lenfositler humoral immun yanıtın, Ig üretiminden sorumludur (28, 105). Ig'ler spesifik veya humoral immun yanıt için etkili proteinlerdir (84, 105). İşlenen antijenlerin yardımcı T lenfositlere sunulmasıyla, T lenfositlerden salgılanan interlökin-2 (IL-2), B lenfositlerin antikör üreten plazma hücrelerine veya hafıza hücrelerine dönüşümünü uyarır (105). Sütte, yangı sürecinde kandan süte geçen ya da lokal olarak memede üretilen Ig'ler bulunur (84, 105).

Mastitis immunitesi için humoral bağışıklıkta görev alan, Ig G₁, Ig G₂, Ig A ve Ig M şeklinde immunoglobulinler görevlidir. Ig'lerin sütteki konsantrasyonları, laktasyonun dönemi ve mastitisin şiddetine bağlıdır. Normal memede laktasyonda en düşük seviyesinde olan Ig'ler kuru dönemde artarak, kolostrojenesis zamanında en üst seviyeye ulaşır. Mastitis sürecinde Ig konsantrasyonu yüksektir. Sağlıklı sütte Ig G₁ miktarı fazla iken, mastitis vakalarında Ig G₂ konsantrasyonları artar. Ig G₁, Ig G₂ ve Ig M nötrofillerin ve makrofajların fagositozisini arttıran bakteriyel opsoninler gibi etki gösterir. Bu Ig'ler bakterilere direkt olarak veya komplementin C3b komponentiyle bağlanabilirler. Nötrofil ve makrofajlar da antikör-bakteri kompleksine veya antikör-C3b-bakteri kompleksine Fc reseptörleri aracılığı ile bağlanabilir ve bakteriyi daha etkin bir şekilde fagosit edebilirler (80, 105). Ig A bakteriyel kolonizasyonun engellenmesini ve toksin nötralizasyonunu sağlar (105).

2.4.3.3. Bağışıklıkta Etkin Nonspesifik Kimyasal Faktörler

Süt; patojenlerin üremesi için uygun ortam sağladığı gibi mikroorganizmaları öldürücü faktörler de içerir (2, 49, 56). Komplement, laktoferrin, lizozim ve laktoperoksidaz-tiyosiyonat-peroksidaz sistemi süütün antimikrobiyal etkinliklerini oluşturur (2, 15, 43, 49, 56, 84, 105). Antimikrobiyal etkinlikler Ig'ler ile etkileşim içinde, bağımsız olarak ve oksijene ihtiyaç duymaksızın çalışır (105).

Bir protein kompleksi olan komplement, fagositozu artırır ve süt ile kan serumunda bulunur (84, 105). Aktive olmuş komplementin C3 ve C5 fraksiyonlarından

köken alan kemotaktik faktörler fagositoya yardımcı olur. Enflamasyon yanıtında serum albumin ve C3 düzeyleri arasında doğru bir orantı mevcuttur. Bu da komplement bileşenlerinin pasif olarak süte geçtiğini göstermektedir (56). Komplement, kolostrum ve enfeksiyon olan meme bezi sütünde yüksek, sağlıklı sütte ise düşük konsantrasyonda bulunmaktadır (56, 84, 105). Komplementin mastitise karşı koruyuculuğu düşüktür (84, 105).

Laktoferrin, demir bağlayan bir proteindir (2, 49, 84). Birçok patojenin gelişmek ve üremek için demire gereksinimi vardır. Laktoferrin bakteriyostatik etkisini, mikroorganizmaların ihtiyaç duyduğu demiri bağlayarak gösterir. Gram-negatif koliformlar ve *Staphylococcus aureus* gibi bazı önemli mastitis patojenlerine karşı demir bağlama özelliği ile etki gösterir (2, 49, 56, 105). Demire düşük düzeyde ihtiyaç duyan streptokoklar ve anaeroblar laktoferrinden etkilenmez (84). Ruminantlarda laktoferrin ve spesifik Ig G₁ antikorları *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumonia*'nın gelişimini baskılayıcı yönde sinerjik etki gösterirler. *Streptococcus agalactiae* gibi bazı bakteriler yüzey reseptörleri aracılığı ile bağlanarak, laktoferrinden demir kaynağı olarak faydalanabilirler. Laktasyon sürecinde sitratın yüksek ve laktoferrinin düşük konsantrasyonda üretilmesi; laktoferrinin kuru dönem savunmasında etkili olduğunu göstermektedir (105). Sağlıklı meme bezinde laktoferrin 0,2 g/l civarında bulunmakta ve kuru dönemde 50-100 gr/l'te kadar artabilmektedir (49, 105). Mastitis durumlarında konsantrasyonları çok daha fazla artarak immun yanıtı destek olmaktadır.

Peroksidaz; bakterileri oksidatif mekanizma ile öldüren enzimdir. Tükürük, göz yaşı, bronşiyal, nazal ve intestinal sekresyonlar ve süt gibi endokrin bez sekresyonlarında peroksidaz aktivitesi şekillenmektedir. Sütteki peroksit ise laktoperoksidaz olarak etkinlik gösterir ve memeyi patojenlerin enfekte etmesinden korur (2, 84). Laktoperoksidaz tek başına antibakteriyel aktiviteye sahip değildir. Ancak H₂O₂ ve tiyosiyonat varlığında potansiyel antibakteriyel etki gösterir (2, 56, 63, 84). Sütte peroksidaz bulunmaktadır. Ancak tiyosiyonat konsantrasyonu beslenme ile ilgilidir (56).

Sitokinler, çoğunlukla immun sistem hücreleri tarafından salgılanan ve hücrelerin özelliklerini veya fonksiyonlarını etkileyen proteinlerdir. İmmun yanıtın her evresinde hormon benzeri bir etki ile hücreler arası iletişimi sağlarlar. Sitokinler, hücre gelişmesi, çoğalması, aktivasyonu, yangı, bağışıklık, doku tamiri ve morfogenezis gibi

biyolojik faaliyetleri düzenlerler. Bugüne kadar araştırılan ana sitokin grupları, İnterlökin (IL), *Colony Stimulating Factor* (CSF), interferon (IFN) ve Tumor Necrosis Factor (TNF) (17, 28, 71).

2.5. Mastitis Tanı Yöntemleri

Mastitis, farklı muayene yöntemleriyle teşhis edilir (13). Klinik muayeneler; ineğin genel muayenesini, özel meme muayenesini ve sütün fiziksel muayenesini ve bir takım kimyasal testlerle süt muayenesini kapsar. Laboratuvar muayenesi ise sütün mikrobiyolojik muayenesini, bakteriyolojik ve viral izolasyon ve identifikasyonu kapsar. Ayrıca mastitis teşhisinde ve sütün sağlıklı olup olmadığının tespit edilmesinde, önemli diğer bir metot ise sütte somatik hücre (SHS) sayımıdır.

2.5.1. Genel Muayene

Mastitis muayenesine, her hastalıkta olduğu gibi öncelikle genel muayene ile başlanmalıdır. Hayvan sahibinden alınacak anamnez çok önemlidir. Hayvanın ne zamandır hastalık belirtileri gösterdiği, daha önce tedavi olup olmadığı, yaşı, kaçınıcı laktasyonda olduğu, yem miktarı ve çeşidi, ne zaman doğum yaptığı gibi hastalık açısından önem arzeden bilgiler elde edilir. Bu bilgiler ışığında hayvanın genel durumuna bakılarak yeme ve içme, sıvı kaybı ve vücut sıcaklığı değerlendirilir (13).

2.5.2. Meme Muayenesi

Memelerin inspeksiyonunda meme loblarının ve meme başlarının birbirlerine orantılı şekil ve büyüklükleri gözlemlenmelidir. Klinik mastitisli meme lobları yangının şiddeti ve sürecine göre farklı derece ve çeşitlerde semptomlar gösterir. Klinik mastitisin erken döneminde kızarıklık, ağrı ve şişkinlik görülürken, ilerleyen zamanlarda bağ doku artışına bağlı sertleşme, küçülme ve körelme görülür. Enfekte olmuş meme lobu diğer meme loblarıyla kıyaslandığında net bir şekilde ayırt edilir. İnspeksiyon ile meme başı ve meme derisinde oluşan yırtık, ezik, kesik yaraları, apse, fistül, gangren tarzı oluşumlar tespit edilebilir (12, 13).

Memelerin palpasyonu, sağımdan sonra memenin boşaltılmasıyla ve memenin elle muayene edilmeye uygun hale geldikten sonra yapılan el muayenesidir. Palpasyonda, öncelikli olarak meme başı muayene edilir. Meme başları, meme başı tabanından başlayarak memenin tabanına kadar boylu boyunca baş ve işaret parmakları arasında yuvarlanarak palpe edilir. Palpasyonla meme başı ve kanalında olabilecek

anormal oluşumlar, doku kalınlaşmaları, fibrozis kontrol edilir. Normal bir meme başı sinüsü yumuşak, elastik iken fibrozis vakalarında bağ dokunun oluşturduğu sertlik hissedilir (12).

Meme loblarının muayenesinde de mutlaka süt boşaltılmış olmalıdır. Aksi takdirde memelerdeki patolojiler el ile hissedilemez. Avuç içleri memelerin altına yerleştirilerek ağırlıkları büyüklükleri ve simetrileri kontrol edilir. Klinik mastitislerde genellikle memeler arasında asimetri vardır. Meme sinüsünün derinlemesine palpasyonunda iki elin arasına alınan meme de varolan anormallikler parmak hareketleriyle tespit edilmeye çalışılır. Normalde memeler yumuşak ve elastiki olmalı, içinde bir kitle vb. bir yapı bulundurmamalıdır. Klinik mastitisin akut evresinde yangı semptomları hissedilirken, hastalık kronikleştikçe yangı geriler ve yerini bağ dokunun oluşturduğu sertlikler alır. Meme palpasyonu mutlaka diğer memelerle kıyas yapılarak uygulanmalıdır (12).

2.5.3. Süt Muayenesi

Sütün fiziksel muayenesi genel görüntüsü, kokusu kıvamı, rengi gibi özelliklerine bakılarak *Strip cup test* (SCT) ile yapılır. *Strip cup test* siyah zemin üzerine ön sağım yapılarak sütte kıvam, renk pıhtı, flakon, irin ve koku yönünden incelenerek yapılır. Sütte kıvam azalması ve sulanma, enfeksiyöz olmayan mastitisleri, memedeki irritasyonları ya da mastitis başlangıcını gösterir. Sütteki pıhtı, memede yangı olduğuna işarettir. Sütün sarı olması ve irinli görünümü, süpüratif bir enfeksiyonu ifade edebilirken bazı ırklarda kolostrum rengi sarı olabilir. Süt rengi beslenme ile ilgili olarak değişiklik gösterebilir ki; yeşil ot tüketimi fazla olduğunda, havuç, safran gibi renklendirici gıdalar tüketildiğinde süt rengi sarı olabilir. Jersey ırklarının sütlerinin rengi ise fizyolojik olarak diğer sütlere göre daha sarı renklidir. Şap, antraks, piroplazmosis gibi enfeksiyonlar ve tetrasiklinler de süte sarı renk verirken, fenotiyazin süte pembe-kahverengi renk verir. Sütte görülen kan; meme damarlarının travma ya da bir lezyon sonucu çatlaması veya buzağılamadan hemen sonra görülen haliyle, memeye kan hücumu sonucu oluşan kapillar kanamanın işaretidir. Fizyolojik olan bu kanama, postpartum birkaç gün sürebildiği gibi birkaç hafta da devam edebilir (12, 13). Sütte patolojik olarak kan görülmesinin sebepleri ise hatalı sağım sonucu zedelenme, Leptospirozis, C vitamini eksikliği, zehirli otların tüketilmesi, intrasisternal (İS) iritan maddelerin verilmesi olabilir (4, 12, 13, 101).

Sütteki anormal kokunun sebepleri, süpürasyonlu bir enfeksiyona, ketozise ve ovaryum kistlerine bağlı endokrin bozukluklara işaret edebilir. Patolojik olmayan sebepler ise kötü şartlarda tutulan silaj ya da ağır kokusu olan harici gıdalar tüketilmesidir (12, 13).

2.5.4. Klinik Mastitislerin Tanısı

Klinik mastitisler; meme de oluşan enfeksiyonun gözle görülebildiği, yangı belirteçlerinin tespit edilerek, teşhis edilebildiği mastitis çeşitleridir (41, 47, 56, 95). Klinik mastitiste semptomlar yangıyı ifade eden şişkinlik, kızarıklık, ağrı ve sıcaklık artışıdır. Süt, kötü kokulu, sulu, kanlı, pıhtılı ya da flakonlu olabilir (4, 12, 13, 41, 48, 56, 101). Klinik mastitis olan meme lobunda süt üretimi azalmış veya tamamen durmuş olabilir (12, 56). Sütteki somatik hücre sayısı (10, 47, 56, 100) ve bakteri sayısında (10) şiddetli bir artış vardır.

Klinik mastitisler çoğunlukla lokal enfeksiyonlar oluşturmalarına rağmen, nadiren sistemik bir hal alıp, hayvanda iştahsızlık ve letarji gibi semptomların ortaya çıktığı bir hastalık haline gelebilir (12, 29, 51, 101). Klinik mastitisler günlük olarak meme ve sütün gözlemlenmesi ile kolayca farkedilerek erken tanı avantajlarını sağlayabilir. Bu nedenle özellikle ön sağım yapılmalı ve sütün klinik muayenesi günlük yapılmalıdır. Sütün klinik muayenesinde en iyi yöntem SCT'dir. Bu yöntem ön sağım sütünün siyah bir zemin üzerine alınarak, patolojik görünüm yönünden incelenmesi şeklinde yapılır (4,101). Klinik mastitis tanısında yalnızca fiziksel muayeneler yeterli olurken, tedavide antibiyotik seçimi için antibiyotik duyarlılık testlerin yapılması gereklidir (4).

2.5.5. Subklinik Mastitislerin Tanısı

Subklinik mastitislerde, memede ve sütte gözle görülebilen klinik semptomlar mevcut değildir (12, 13, 47, 48, 56). Subklinik mastitis; üretilen süt miktarında azalma (12, 32, 47, 48, 51, 56, 78, 95, 118), sütte somatik hücre sayısında (SHS) artış (12, 33, 47, 51, 56, 78, 82), bakterilerin sütte mevcudiyeti (48) ve sütteki bakteri sayısındaki artış (51) ile teşhis edilir. Ayrıca subklinik mastitislerde sütün bileşiminde de değişiklik oluşur (4, 12). Subklinik mastitislerin tanısı amacıyla; California Mastitis Test (CMT), bakteriyolojik izolasyon ve identifikasyon, sütün somatik hücre sayısı (SHS) ölçümü ve sütün pH'nın saptanması için testler ve tanı yöntemleri kullanılır (4, 12, 13).

2.5.5.1. Sütte Somatik Hücre Sayısı

İnek sütü içerisinde çok sayıda hücre vardır. Bu hücreler nötrofiller, lenfositler, eozinofiller, makrofajlar ve epitel hücreleridir. (12, 24). Sütte toplam hücre sayısının hesaplanmasında, epitelyum hücrelerinin de olması nedeniyle bu hesaplama; sütte bulunan somatik hücre sayısı (SHS) olarak ifade edilir (80). 1 ml süt içindeki toplam hücre sayısı SHS'nın rakamsal karşılığıdır (12).

Sütteki somatik hücrelerin bileşimi fizyolojik ve patolojik durumlara göre değişkenlik gösterir (24). Laktasyonun dönemi, enfeksiyonun varlığı, enfeksiyonun latent seyri, geçmiş hastalıklar gibi etkenler SHS değişimde etkilidir (12, 30). Yine, memedeki fizyolojik ve patolojik durumlara göre de somatik hücrelerin sayısı ve tipleri değişmektedir (12, 30).

Sağlıklı sütteki hücrelerin çoğunluğu %30–74 gibi bir oranla makrofajlar olarak tespit edilmiştir (80). Enfekte süt hücrelerini %90'dan fazla nötrofiller, az miktarda lenfosit ve epitel hücreleri oluşturmaktadır (10, 33, 105). Bakteriyel mastitislerde sütteki SHS birkaç saat içinde ml'de 1 milyona ulaşabildiğinden enfeksiyonun tanısında rolü büyüktür (102, 105).

Sütte somatik hücre sayısının mastitis tanısı açısından referans değerleri çalışmalara ve ülkelere göre değişiklik göstermektedir. Duval (1997), Hamann (2002), Harmon (1994) ve İşcan (1993)'a göre laktasyondaki sağlıklı bir ineğin sütünde SHS<100.000 hücre/ml olmalıdır (33, 46, 48, 56). Alaçam (1997)'a göre ise, sağlıklı sütte 50.000-200.000 somatik hücre olmalıdır (4). Avrupa'da SHS 200.000 hücre/ml normal kabul edilmektedir (12). ABD'de tank sütündeki SHS 250.000 hücre/ml ise normal, 500.000 hücre/ml ise patolojik bir durum olduğu kabul edilmektedir (12, 56). Avrupa'da tank sütündeki 400.000 hücre/ml normal kabul edilmektedir. Türk gıda kodeksine göre ise çiğ sütteki hücre miktarı <500.000 hücre/ml olmalıdır (40). Mastitis taramaları açısından SHS skoru önemli bir parametredir (12, 67).

Somatik hücre sayısında, mastitis haricinde de yükselmeler olabilir. Postnatal dönemde SHS yüksek olması iki hafta süreyle fizyolojiktir ancak sağlıklı memelerde doğumdan sonra 5. gün SHS <100.000 hücre/ml olmalıdır (48). Beslenmeyle ilgili bozukluklar ve takibinde süt verimindeki değişimler SHS sayısını arttırabilir. Östrus döneminde süt veriminin azalmasına bağlı SHS yükselebilir. Ayrıca ilk sağım ve takiben sağılan süt ve son sütün SHS arasında da farklar vardır ki; SHS, her zaman ilk sağım sütünde yüksek, takibinde düşük ve son sütte daha yüksektir (30, 48, 56).

Mevsime göre değişiklikler de fizyolojik olarak şekillenir, kış aylarında SHS düşük iken, yaz aylarında SHS artış gösterir (30).

SHS her bir hayvanın 4 ayrı memesi için bireysel yapılabileceği gibi tank sütünden de yapılabilir. Elde edilen veriler kayıt altına alınarak, belli periyotlarda tedaviye alınması gereken, sürüden çıkarılması gereken ve mikrobiyoloji testleri yapılması gereken hayvanlar olarak ayrılıp, sürü yönetimi yapılabilir (81).

Sütte SHS tespiti; CMT gibi indirekt mikroskopi, DNA filter metod, *Coulter Counter*, Fossamatik gibi direkt testlerle belirlenmektedir (4, 12, 30, 56). Direkt mikroskopik hücre sayım yöntemi (DMHSY) ve otomatik ölçüm yapabilen cihazlar somatik hücre sayımı için kullanılmaktadır. Ancak elektronik cihazların artışı ile DMHSY kullanımı azalmıştır. Ancak halen ihtiyaç halinde kullanılabilen güvenli bir yöntemdir.

SHS ölçümü için kullanılan elektronik yöntemler Fossamatik ve *Coulter Counter* gibi yöntemlerdir (56). Fossomatik yönteminde numuneye bir boya eklenir ve hücreler floro-optik elektronik hücre sayım tekniği ile sadece somatik hücreler sayılır. *Coulter Counter* ise yaklaşık 4,4 mikron (μ) çapında veya daha büyük partiküllerin sayımı için kalibre edilmiştir. Bu yöntem, bir elektrolit içinde emdirilmiş partiküllerin güçlü bir vakum altında kalibre edilmiş kapillar bir kanaldan emilmesi, güç hareket eden partiküllerin hareket hızına göre geçiş sırasında dalgalanmalar oluşması ve bu dalgalanmaların elektrotlarla güçlendirilerek sayılması prensibiyle hareket etmektedir. Fossomatik ve *Coulter Counter* yöntemlerinin somatik hücre sayımı yönüyle etkinliklerinin karşılaştırıldığında; Fossomatik yönteminin, *Coulter Counter*'dan daha iyi sonuçlar verdiği bildirilmiştir (56).

2.5.5.2. California Mastitis Test

Subklinik mastitis tanısında, saha da pratik ve ekonomik olarak, indirekt SHS ölçümü için CMT kullanılabilir (4, 56, 81). CMT ayırıcı içerisindeki anyonik deterjan ile sütteki somatik hücrelerin parçalanması ve serbest kalan DNA ve RNA ile jelatinöz kıvamlı bir çökelti oluşumu ile subklinik mastitis tanısı konulur (4, 13, 56, 81).

CMT solüsyonu hazırlanmak için; 100 ml anyonik deterjan, 50 ml 1/30'luk bromkresol purpur ve 900 ml distile su karıştırılarak (4, 12) ya da %2'lik alkil aril sülfat, %0,01 bromkresol purpur, 15 ml NaOH, 1000 ml distile su karıştırılarak elde edilebilir (13, 56). Ayrıca ticari olarak hazırlanmış CMT solüsyonları da mevcuttur.

CMT ayıracı temin edilmesini takiben ön sağım sütü sağıldıktan sonra, dört bölmeli plastik CMT küreğine her bir meme lobundan birkaç ml süt sağılır ve üzerine CMT solüsyonu birkaç ml dökülür. Kürek, dairesel ve yavaş hareketlerle karıştırılarak, oluşan jelin derecesi (0), (şüpheli), (+1), (+2), (+3) olarak belirlenir (Tablo 2-2, Tablo 2.3) (50,81). CMT skoru ile SHS arasındaki ilişki yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (Tablo 2-4) (56, 81).

Tablo 2-2: California Matitis Test Skoru

CMT SKORU	Reaksiyon Değerlendirilmesi
0	Hiçbir halde jelleşme yoktur.
Şüpheli	Karıştırma devam ettikçe kaybolan çok hafif jel vardır.
(+1)	Hafif-orta kalıcı jel vardır.
(+2)	Orta düzeyde jel vardır. Kıvamı koyudur. Karıştırma devam ederse jel, küreğin kenarlarına yayılır.
(+3)	Süt üstüne CMT ayıracı dökülünce çok jelleşme olur, kıvamı koyudur. Karıştırılınca orta kısımda birikerek küreğin dibine çöker.

Tablo 2-3: Sadeleştirilmiş California Matitis Test Skoru

CMT SKORU	Reaksiyon Değerlendirilmesi
NEGATİF (N)	Jelleşme yoktur.
ŞÜPHELİ (Ş)	Jelleşme belli-belirsiz vardır.
POZİTİF (P)	Jelleşme çok vardır.

Tablo 2-4: California Matitis Test Skoru ve Somatik Hücre Sayısı Arasındaki İlişki

CMT SKORU	SHS / ml süt (İşcan 1993) (56)	SHS / ml süt (Philpot ve Nickerson 2007) (81)
0	0- 200.000	0- 100.000
Şüpheli	150.000- 400.000	100.000- 300.000
(+1)	300.000 – 1.000.000	300.000- 900.000
(+2)	700.000- 2.000.000	900.000- 2.700.000
(+3)	2.000.000	2.700.000- 8.100.000

CMT testi, taze süt ya da hemen soğutulduktan sonra en fazla 36 saat bekletilen numunelerden yapılmalıdır. Sütün soğutulmadığı, mikrobiyel üremenin önüne geçilemediği durumlarda %0,5 asit borik eklenir. Formaldehit gibi koruyucular katılmamalı ve numuneler dondurulmamalıdır (13).

Diğer bir tanı yöntemi olan *Wisconsin Mastitis Testi* 'nde; test için, kapaklı özel plastik tüp içine ikişer ml süt ve CMT solüsyonu koyulur. Tüp tersine çevrilip kapaktan süütün akma süresi kayıt altına alınır. On beş saniye üzerinde akan sütlerde jel oluşumu yani mastitis olduğu tespit edilmiş olur (56).

Sütte hücre sayısının artışının tespitine yönelik testlerden White Side Testinde; cam bir test kabına beş damla soğuk süt konur. Üzerine bir damla %4'lük NaOH eklenir. Enfekte sütte, nükleik asit NaOH ile birleşince Na⁺ tuzu kitle meydana gelerek süt yağı ile birleşerek çöküntü oluşur (56).

Brabant Mastitis Testinde, birkaç mm eninde iki cm uzunluğunda kapillar bir tüpün üst tarafına bir huni yerleştirilerek süütün kapillar tüpten akış hızı kaydedilir. Tüpten beş saniyeden az zamanda boşalan sütte ortalama 250.000 hücre/ml, beş saniyede tüpten boşalan sütte ortalama 800.000 hücre/ml, beş-on saniyeden fazla zamanda tüpten boşalan sütte ortalama 1.000.000 hücre/ml bulunduğu tespit edilmiştir (56).

2.5.5.3. Sütün Elektriksel İletkenliği

Subklinik mastitislerde sütteki meme kaynaklı bileşenler denilen kazein, laktoz ve yağ içeriğinde azalma olurken, kan kaynaklı serum albumini ve Ig gibi moleküllerin

miktarında ise artış olmaktadır (8, 56). Enfeksiyon olduğu durumlarda nötrofillerin memeye geçişi, fagositozis ve sekretör hücrelerin lize olması esnasında N-asetil-B-D-glukozaminidaz gibi enzimler açığa çıkararak, sütteki miktarlarında artış olur (4, 8, 12, 46, 48, 56). Geçirgenliğin arttığı meme dokusunda iyon değişimleri olur. Sütte Na^+ ve Cl^- miktarı artarken, K^+ oranı düşer ve elektrik iletkenliği artar (4, 8, 12, 48, 56).

Küplülü ve ark.'nın (1995) yaptığı çalışmaya göre CMT sonuçları ve sütün elektiriksel iletkenliği (Eİ) sonuçları arasında paralellik varken (65), Timurkan (2014) araştırmasına göre CMT ve Eİ sonuçlarının uyumsuz olduğu tespit edilmiştir ve tek başına Eİ sonuçlarının subklinik mastitis teşhisinde kullanılmasının şüpheli olduğu ifade edilmiştir (111).

Elektrik iletkenliği ölçümü “*Milk Checker*” isimli cihazla ve süt analiz cihazlarıyla yapılabilir. Mastitis haricinde elektrik iletkenliğini çok sayıda faktör değiştirebilir. Sütün bileşimi, sıcaklığı, ineğin ırkı, mevsim, bakteriyel flora, laktasyon dönemi, sağım sıklığı ve numunelerin alındığı sağım aşaması elektirik iletkenliğini etkileyebilir. Bu çok faktörlü sebepler elektrik iletkenliğini mastitis tanısı için güvenilir olmaktan çıkarır (12).

Sütün elektiriksel iletkenliği için, uluslararası belirlemelere göre, 5,4- 5,6 milisiemens/cm'den büyük değerler (mS/cm) meme enfeksiyonu şüpheli olarak kabul edilmektedir. Atasever ve Erdem (2008)'e göre ise sağlıklı sütler için elektrik iletkenliği değeri; 4,0 - 5,5 mS/cm'tir (8). *Staphylococcus aureus* mastitislerinde değerler 7,1-7,5 mS/cm olmaktadır (12, 56).

2.5.5.4. Sütün pH Değeri

Meme enfeksiyonlarında laktoz üretimi azalır ve kandan süte alkali tuzlar geçer. Bu nedenle, enfeksiyon vakalarında sütte pH yükselmektedir (12, 48, 56).

Sağlıklı bir memeden sağılan sütün pH'sı hafif asidiktir ve 6,4-6,8 aralığındadır. Bu değer değişmesi mastitis tanısı için belirteçtir. Genellikle mastitis olgularında, süt pH'sı yükselse de bazen patojenin özel durumuna göre düşüş olabilir. Örneğin *Streptococcus agalactiae* mastitislerinde sütteki laktoz, laktik aside dönüştürüldüğünden süt pH'sı düşer (12).

2.5.5.5. Sütün Bakteriyolojik Muayenesi

Mastitisin birincil nedeni, bakteriyel enfeksiyonlardır (5, 46, 47, 49, 51, 56, 58, 73). Bakteriyel mastitislerde, SHS birkaç saat içinde ml'de bir milyona kadar hızlı bir

şekilde artabilmektedir (105). Meme loblarının enfekte veya nonenfekte olarak değerlendirilmesinde, yalnızca SHS'na göre yorum yapılmasının eksik olacağı bildirilmektedir (48, 122). Enfeksiyonun tam teşhisi için sütte etken izolasyonunun yapılması gereklidir (67). Enfekte olmayan meme loblarında, SHS sütte 200.000 / ml'nin altında olmaktadır (48, 93, 113). Oysa Zeconi ve ark. (2002), SHS 100.000 / ml'nin altında olan sütlerin %20'sinde meme loblarının enfekte olduğunu bildirmişlerdir (122). Dohoo ve Meek (1982) ise, yaklaşık 228.000 hücre / ml'lik hücre eşiğinin, enfekte olan ineklerin sınıflandırılmasında %85,5 oranında doğru sonuç verdiğini, bu nedenle gerçekte bir meme lobunun enfekte olup olmadığının ayrılma eşiğinin 250.000 hücre / ml süt olması gerektiğini belirtmişlerdir (30).

Mastitislerin teşhisinde SHS ile mikrobiyolojik muayene birlikte değerlendirildiğinde ortaya çıkan sonuçlar tabloda özetlenmiştir (Tablo 2-5, Tablo 2-6) (46).

Tablo 2-5: Mikrobiyoloji ile Somatik Hücre Sayısı Sonuçlarının Değerlendirilmesi

SHS (Hücre / ml süt)	MEME PATOJENLERİ	
	Etken Belli Değil	Etken Belli
<100.000	Normal süt	Latent enfeksiyon
>100.000	Spesifik Olmayan Mastitis	Spesifik Mastitis

Tablo 2-6: Mikrobiyoloji ile Somatik Hücre Sayısı Sonuçlarının Subklinik Mastitis Yönünden Değerlendirilmesi

SUBKLİNİK MASTİTİS KRİTERLERİ		SUBKLİNİK MASTİTİS DEĞERLENDİRMESİ
Mastitis Patojenleri	Yangısal Reaksiyon (SHS Artışı)	Meme
+	-	Mastitis Eğilimli
-	+	Mastitis Eğilimli
+	+	Mastitisli

Çalışmalar SHS ve mikrobiyolojik muayene arasındaki ilişkileri genellikle aynı şekilde yorumlamış ve kabul etmiştir. Zeconi ve Piccinini (2002), SHS 100.000 / ml ve bakteriyel üreme olmayan meme loblarını sağlıklı kabul ederken, SHS <100.000 /

ml ve bakteriyel pozitif meme loblarını latent enfeksiyon olarak belirlemiştir (122). Atasever ve Erdem (2008) düşük SHS ve mikrobiyolojik üremenin bir arada olduğu vakaları latent enfeksiyon olarak nitelendirmiştir (8).

Mikrobiyolojik muayene için süt alınmadan önce meme yıkanmalı, kurulanmalı ve alkolle fiks edildikten sonra steril bir kaba meme başı, tüpe değdirilmeden sağılmalıdır. Saprofit bakterilerin sütü kontamine etmemesi için ilk sağım sütü dışarı sağılmalıdır. Muayene için süt örnekleri steril plastik veya cam tüplere alınabilir.

2.6. Mastitis Sağaltımı

Mastitis sağaltımında patojenleri eradike edebilmek için lokal olarak etkin ilacın, etkin konsantrasyon ve sürede kalması amaçlanır. Bunun için ilaç seçimi, ilacın uygulanma zamanı ve miktarı önemli olmasının yanı sıra yardımcı ve destek tedavi yöntemleri de uygulanması önemlidir (4, 12).

Mastitis tedavisinde bakterisid ve bakteriyostatik antibiyotikler kullanılmaktadır. Antibiyotik seçimi antibiyotik duyarlılık testi (ADT) sonuçlarına göre yapılır. ADT sonuçlarına göre seçilen antibiyotik bazı durumlarda sağaltımda etkili olamaz (12). Antibiyotiklerin etkili olamamasının sebeplerinden en sık görüleni; memedeki dokularda meydana gelen hasara bağlı olarak oluşan yangısal ürünlerin antibiyotikleri inaktif etmesidir (4, 12).

Mastitis sağaltımını etkileyen birçok faktör vardır (12). Bu faktörler şu şekilde sıralanabilir:

1. Mikroorganizmanın çeşidi, yoğunluğu ve kolonizasyon yeri
2. Memedeki ödem, fibröz dokular ve meme içi oluşumlar
3. İlacın taşıt maddesi
4. Antibiyotiğin kimyasal özellikleri (yağda eriyen, suda eriyen, asitlik, bazlık vb.)
5. Hayvanda şekillenen diğer enfeksiyonlar ve bağışıklık sağaltımı etkileyen faktörlerdir.

Sağaltımda antibiyotik seçimi şüphesiz çok önemlidir. En iyi antibiyotiği seçmek için ADT ile birlikte aranacak özellikler ise şöyle sıralanabilir:

1. Minimum inhibitör konsantrasyonu düşük olmalıdır.
2. Antibiyotiğe karşı direnç şekillenmemelidir.
3. Enjeksiyon bölgesinden yüksek biyolojik yararlanılabilme imkanı olmalıdır.
4. Serum proteinlerine düşük miktarda bağlanmalıdır.

5. Kan serumunda zayıf baz ya da iyonize olmamış halde kalabilmelidir.
6. Membranları geçebilmesi için yeterli miktarda yağda çözünmelidir.
7. Yarılanma ömrü uzun olmalıdır.
8. Meme dışındaki organlarda birikmemelidir.
9. Sistemik veya lokal irkiltici olmamalıdır.
10. Taşıt maddelerinden kolayca ayrılabilir.
11. Sütte birikmemeli ve atılma süresi kısa olmalıdır.
12. Kuru dönemde kullanılacak antibiyotikler meme içindeki aktivitesini üç hafta devam ettirebilmeli ve tek doz uygulama yeterli olabilmelidir (4).

Sistemik mastitis olgularında ise seçilen antibiyotik, parenteral uygulamayı takiben süte ve meme bezi epiteline geçebilmeli ve etkili olabilmelidir. Mastitis tedavisinde, antibiyotiklerin dağılım özelliklerine göre seçim yapılması başarı oranını arttırmaktadır (Tablo 2-7) (12).

Tablo 2-7: Antibiyotiklerin Memede Dağılım Özelliklerine Göre Sınıflandırılması

	Parenteral Uygulama	İS Uygulama
İyi Dağılım Gösterenler	Eritromisin	Eritromisin
	Tilozin	Tilozin
	Spiramisin	Spiramisin
	Linkomisin	Linkomisin
	Florofenikol	Florofenikol
	Tiamfenikol	Tiamfenikol
	Enrofloksasin	Enrofloksasin
	Norfloksasin	Norfloksasin
	Penethamat	Penethamat
	Rifampisin	Rifampisin
	Trimethoprim	Trimethoprim
Orta Derecede Dağılım Gösterenler	Ampisilin	Oksitetrasiklin
	Amoksisilin	Sülfadimidin
	Sülfadoksin	Penisilin G
	Sülfadimidin	Kloksasilin
	Penisilin G	Sefalotin
	Kloksasilin	Sefapirin
	Sefalotin	Seftiofur
	Sefapirin	Sefoperazon
Zayıf Dağılım Gösterenler	Sefalekssin	Dihidrostreptomisin
	Seftiofur	Neomisin
	Sefoperazon	Gentamisin
	Vankomisin	Spektinomisin
	Dihidrostreptomisin	Polimiksin B
	Neomisin	Kolistin
	Gentamisin	

Meme enfeksiyonlarının tedavisinde, tüm enfeksiyonlarda olduğu gibi rastgele antibiyotik kullanımı direnç oluşumuna neden olabileceği gibi sürü sağlığını da olumsuz etkilemektedir. Penisilinler direnç gelişiminin en çok şekillendiği antibiyotik gruplarıdır. *Stafilokoklar* ise penisilin dirençli suşları ile sürülerin yaygın problemi olmaya devam etmektedir. Bu nedenle antibiyotik seçiminin önemi her geçen gün daha da artmaktadır (16).

Endotoksemi ile birlikte seyreden mastitislerde ise antibiyotik seçimi daha da önemlidir. Çünkü bakterisid etkili antibiyotikler toksin miktarında artışa sebep

olacağından bakteriyostatik etkili antibiyotikler seçilmelidir. Buna örnek olarak koliform mastitislerinin tedavisinde parenteral bakteriyostatik antibiyotik ve oksitosin ile sık sağıım uygulanmalıdır. Koliform toksinleri birçok organın fonksiyonlarını etkileyerek şoka neden olmaktadır. Toksik şok oluşan mastitislerde intravenöz (iv) oksitetrasiklin, ampisilin sodyum ve sulfanamidler, İS olarak ise ampisilin ve sefalosporinler uygulanabilir. Sıvı takviyesi için poli-iyonik dengeli elektrolit sıvılar ve steroidal, nonsteroidal antienflamatuvarlar, bikarbonat, A, E ve B grubu vitaminler ile selenyum gibi iz elementler uygulanmalıdır. %20'lik kalsiyum (Ca) solüsyonları ve %50'lik dekstroz çözeltileri, mastitisin sistemik etkilerini tedavi etmek amacıyla kullanılır. Koliform mastitislerinde hipoglisemi ve hipokalsemi şekillenir. Glikoz düzeyi düştüğünde memenin immun sistemi de düşer. Bu nedenle dekstroz çözeltilerinden faydalanılır. Kalsiyum ise toksinlerin detoksifikasyonu için gereklidir. Bikarbonat solüsyonları mastitisin endotoksemik ve septisemik olgularında ortaya çıkan bikarbonat eksikliğini gidermek için kullanılır. Fluniksin meglumin ya da deksametazon sodyum sülfat meme yangısının ortadan kaldırılması için kullanılabilir. Kortikosteroidler perakut vakalarda tercih edilmelidir. Parenteral steroid uygulamalarının bağışıklık sistemini baskıladığı öngörülmelidir. İS kortikosteroid uygulamaları memede şekillenen yangı belirtilerini hafifletirken, antibiyotiklerin meme dokusuna daha iyi penetrasyonuna ve memedeki toksinlerin atılmasına yardımcı olurlar. Mastitis sağaltımında antihistaminikler ve diüretiklerin de endikasyonları vardır. Ayrıca proteolitik enzimlerin İS kullanılması protein yapısındaki döküntülerin, kan pıhtısı ve fibrinlerin yıkımlanması ve inceltilmesini, böylece antibiyotiklerin daha etkin olmasını sağlar. Bakteriyel endotoksinler yangısal prostaglandinlerin salgılanmasına neden olduklarından, toksemi ile seyreden olgularda fluniksin meglumin, antiprostaglandin etkisi nedeniyle kullanılabilir. Tedaviye destek olarak A vitamini meme epitelyum rejenerasyonunu sağlamak için etkili olabilir (4).

Tedaviye yanıt alınamayan meme lobları köreltilebilir. Meme loblarını köreltmek amacıyla %3'lük gümüş nitrat (AgNO_3), %5'lik bakır sülfat (CuSO_4), 1/2000'lik akriflavin İS uygulanır. Şiddetli reaksiyon şekillenirse meme sık sık sağıılır, şekillenmezse meme 10-15 gün sonra boşaltılarak gerekliyse ikinci uygulama yapılır (4).

2.6.1. Laktasyon Döneminde Mastitis Tedavisi

İneklerde laktasyon döneminde gözlenen klinik mastitislerin sağaltımında antibiyotik kullanımı yaygın olarak kullanılır (67). Antibiyotik uygulamaları meme başından içeriye ilacın verilmesi suretiyle intrasisternal (İS) olabileceği gibi parenteral yollardan intramuskuler (im) ya da intravenöz (iv) olabilir. Lokal ya da sistemik tedavilerden yalnızca biri tercih edilebilirken, vakaya göre her ikisi birlikte de uygulanabilir (4, 12).

Tedavi sonrasında iyileşme belirtileri klinik, mikrobiyolojik, nitel ve nicel iyileşmedir. Klinik iyileşme; semptomların tedavi edilmesini, mikrobiyolojik iyileşme; laboratuvarıda besiyerinde üreme olmamasını, nitel iyileşme; SHS'nın normal sınırlara gerilemesini ve nicel iyileşme; süt veriminin eski seviyesine dönmesini ifade eder (4, 12).

Laktasyonda yapılan antibiyotik sağaltımlarının önemi halk sağlığını etkilemesidir. Tedaviden sonra antibiyotik arınma süresi gözetilmeli ve süt bu süreyi takiben tüketime sunulmalıdır (12). Laktasyondaki mastitis vakalarında şiddetli yangısal tepkimeler mevcut değilse ve memede fibrozis bulunmuyorsa İS antibiyotik tedavisi başarılı sonuçlar verir (4, 12, 92). İS antibiyotik uygulaması daha az ilaç uygulanarak, etkin ilaç konsantrasyonunu sağlayabildiği için avantajlıdır. Ancak bakteriyolojik iyileşme kısıtlı olduğu için hayvanlar taşıyıcı olarak sürüde mevcudiyet gösterirler (12).

Perakut ve akut mastitis olgularında İS tedavide başarı oranı düşüktür. Çünkü ödem ve kanal sistemi tıkanıklığı antibiyotiğin dağılmasını zorlaştırır, laktasyon nedeniyle sağım yapılır ve ilaç etkili sürede memede kalamaz, fibrozis şekillenir, fagosit içi bakteri oluşur, antibiyotik direnci vardır ve bazı antibiyotikler bazı moleküllerle birleşir (4, 12).

İntrasisternal uygulanan antibiyotik, meme parenkimi, kanal sistemleri ve süt içinde yüksek derecede seyrelir. Ayrıca meme içi perfüzyonunu takiben yapılan sağım ile etken maddenin %90–95'lik bölümü sütle dışarı atılır. Emilme, dağılma ve atılma evrelerinde serbest kalan etken madde süt kanallarında terapötik konsantrasyonlara ulaşır. Etken maddenin meme içinde dağılımı, tedavinin etkinliği için önemlidir. Çünkü etken madde pasif difüzyonla sütün sulu bölümünü oluşturan hidrofilik bölüme, buradan da yağ içeriği bakımından zengin olan lipofilik bölüme geçer. Çoğunlukla iyonize olmayan ilaçlar yüksek oranda yağlarda çözünerek, kandan süte daha hızlı

geçebilirler. Bu durumdaki ilaçlar, İS perfüzyonla meme dokusunca emilerek hızla süte geçebilir. Antibiyotiklerin çoğu süt proteinlerine az miktar da olsa bağlanır. Proteinlere bağlanma oranı arttıkça, in vivo antibakteriyel etkinlik azalışa da bir dereceye kadar depo etkileri olur.

Streptokokal ve bazı koliform kökenli meme enfeksiyonları, bakterilerin alveoler ve kanal epitelyum hücrelerine zayıf tutunmaları nedeniyle İS sağaltım ile tedavi edilebilmektedir. Stafilokok mastitleri ise İS ve parenteral sağaltım ile tedavi edilmelidir (4, 12). Mikrobiyal identifikasyon ve ADT sonucuna göre tedavi protokolü belirlenerek dar spektrumlu uygun antibiyotik seçilmelidir. Ancak saha koşullarında etken izolasyonu yapılmadan geniş spektrumlu antibiyotikler tercih edilmektedir (12).

Parenteral antibiyotik sağaltımı laktasyonda kronik mastitislerde ve perakut-akut sistemik enfeksiyon görülen mastitislerin tedavisinde kullanılır. Şiddetli mastitislerde şekillenen meme ödemi ve memede sütün yeterince dağılamaması parenteral antibiyotik uygulamasını gerekli kılar. Stafilokokal mastitislerde çoğunlukla İS ve parenteral antibiyoterapi ile birlikte yanıt alınabilir (4, 12). Yüksek süt verimi olan ineklerin meme ödemeine genetik duyarlılığı yüksektir (32). ADT sonuçlarına göre seçilen antibiyotik İS olarak tedavide etkisiz ise yeterli süre ve miktarda memede bulunamadığı düşünülmeli ve parenteral tedavi ile devam edilmelidir. Parenteral uygulanan antibiyotik, İS uygulamaya göre enfeksiyon bölgesinde daha yüksek ilaç konsantrasyonu sağlamaktadır (12). Parenteral uygulama için seçilen antibiyotikler, düşük MİK'lerde etkin olmalı, yağda çözünmeli, zayıf organik baz özelliğinde olmalı, kanda iyonize olmadan kalabilmeli, plazma proteinlerine düşük oranda bağlanmalı, yarılanma süresi uzun olmalı, meme harici dokularda birikmemeli ve sindirim sistemine geçmemelidir. Makrolid grubu antibiyotikler, kloramfenikol derivatları, florokinolonlar, tetrasiklinler, sulfanamid-trimethoprim kombinasyonları ve bazı penisilin esterleri laktasyondaki ineklerde parenteral kullanılabilir (12).

2.6.2. Kuru Dönemde Mastitis Tedavisi

Laktasyon sütçü ineklerde 300 gün devam etmelidir. İnekler 55-60 gün kuruya çıkartılarak bir sonraki laktasyon döneminin verimli geçmesi hedeflenir. Kuru dönem sürecinde memeler involü olur ve rejenerasyon sürecine girerler. Bu dönemde meme alveolleri süt üretmez (4, 12). Kuru dönem süresi 55- 60 günden farklı olan sürülerde ortalama süt verimi de düşmektedir (67).

Sütçü sığırları kuruya çıkartmada farklı yöntemler uygulanabilir. Aralıklı sağım, tam olmayan sağım, birdenbire süttten çıkarma gibi yöntemler kullanılmaktadır (4, 12). Aralıklı sağım yönteminde günde iki kez sağılan inekler, bir defa sağılmaya başlanır. Düşük enerjili yemler verilerek, takip eden günlerde sağım araları iki günde bire, üç günde bire indirilir ve inek kuruya çıkana kadar artarak devam edilir. Aralıklı sağım yönteminde vakit kaybı vardır ve etkili sonuç alınamayabilir. Tam olmayan sağımda memede bir miktar süt bırakılır ancak bazı komplikasyonları olabilir. Memelerde patojenler bulunuyorsa akut mastitise ortam hazırlayabilir. Diğer bir yöntemde ise; yemek ve su kısıtlamaksızın, inek belirlenen buzağılama tarihinden sekiz hafta kadar önce 4- 5 gün boyunca günde bir kez sağılır. Günde üç sağım yapılıyorsa; sağım sayısı önce ikiye, sonra da bire indirilir. Son sağımda meme tamamen boşaltılır, meme başları alkolle dezenfekte edilir ve birkaç gün boyunca sağılmaz. Memeler aşırı şişerse meme boşaltılır ve gerekirse yine bekletilip, yine sağılır. Böylece 8-10 gün içinde memeler küçülür ve kuruya çıkarılmış olur (4).

Sütçü inekler kuru dönemde dahi mastitise duyarlıdırlar (4, 39, 84, 90). Kuruya çıkarma döneminde sağılmayan memelerin gerilmesiyle oluşan meme başı dilatasyonuna bağlı patojenlerin memeye girmesi sebebiyle aktif involüsyon döneminde mastitis görülme ihtimali fazladır. Bu patojenler kuru dönem boyunca koloni oluşturup kolostrogenezis sırasında klinik mastitislere sebep olurlar (4, 12). Hayvanlar kuruya çıkarılırken meme içerisine uzun süre etkili antibiyotik uygulanması mastitis korunmasında önem arz eder (4, 39, 67, 75, 84, 85, 90).

Subklinik mastitisler laktasyon döneminde tedavi edilememekte ve eradikasyon yapılamamaktadır (12, 85). SHS yüksek inekler laktasyon sağaltımları sonrasında, SHS yönüyle geçici tedavi edilmekte, SHS düşürülmekte ancak süt verimi arttırılamamaktadır. Bu nedenle subklinik mastitisli hayvanlar erken kuruya çıkarılmalı ve kuru dönem tedavi tercih edilmelidir (12).

Kuru dönem tedavileri, laktasyon süresine göre daha başarılı sonuçlar verir. Kuru dönemde İS uygulanan ilaçlar uzun süre ve yüksek konsantrasyonda meme içinde kalır. İnvole olan memelere antibiyotiğin yayılması ve penetre olması daha fazladır. Bu nedenle *Staphylococcus aureus* mastitislerinin kuru dönemde tedavi şansı yüksektir. Kuru dönemde dokular rejenere olurlar. Sütte ilaç rezidüsü kalma riski, kuru dönemde yoktur. Böylece istenilen miktar ve sürede antibiyotik uygulanabilir. Bu dönemdeki sağaltımlar %85 oranında bir korunma sağlar. İneklerin ortalama %50'si kuru döneme

subklinik mastitisli olarak girer ve kuru dönem tedavisi yapılmazsa %60'ında laktasyon döneminde klinik mastitis şekillenir (4, 12).

Kuru dönem mastitis tedavilerinde, streptokoklarda özellikle *Streptococcus agalactiae* mastitislerinin eradikasyonunda başarılı olunmaktadır. Stafilokok ve koliform mastitislerinde ise daha başarı daha düşüktür (19, 39). Stafilokoklar ve çevresel streptokoklar nedeniyle şekillenen mastitislerin laktasyon döneminde başarı oranı çok daha düşüktür. Bu nedenle, bu grup bakterilerin subklinik mastitisleri kuru dönemde sağaltılmalıdır.

Subklinik mastitislerinin laktasyon döneminde tedavi edilmeleri oldukça zor olmakla beraber bakteriyolojik iyileşme sağlanması ihtimali zayıftır. *Staphylococcus aureus* mastitislerinin laktasyondaki sağaltım oranları %50'nin altındadır. Bakteri, derin meme parenkimine yerleştiği için laktasyondaki antibiyotik yetersiz gelebilir. Bu yüzden kuru dönem tedavileri daha başarılı olabilir (4, 12). *Staphylococcus aureus*'un klinik mastitislerinin laktasyon dönemindeki tedavisinde parenteral ve İS antibiyoterapi birlikte uygulanmalıdır. Bir inekte birden fazla meme lobunda *Staphylococcus aureus* izole edilirse ve klinik mastitisi takiben kronik mastitis şekillenip kuru dönem sağaltımına yanıt alınamazsa hayvan kesime gönderilmelidir (4, 12).

Kuru dönem sağaltımında antibiyotik kullanımının birtakım özellikleri vardır. Kuru dönemde bakteri izolasyonu ve ADT her zaman uygulanmaz. ADT, penislinaz üreten bakterilerin teşhisi için önemlidir. Test yapılmadığı takdirde penislinaz üreten stafilokoklara karşı dar spektrumlu antibiyotikler (kloksasilin, sefalosporinler) kullanılmalıdır. Seçilen antibiyotik dokularda irritasyona neden olmamalıdır. Dar spektrumlu antibiyotiklerin yanısıra düşük konsantrasyonda Gram-pozitif bakterilere etkili olan penisilin ve streptomisin kombinasyonları kullanılabilir. Ortalama 6, 7 hafta süren antibiyotik etkinliği için taşıt maddesi bitkisel yağlar (alüminyum monostereat vb.) olan preparatlar kullanılmalıdır. Uzun etkili ilaçlar tek sefer uygulanmalı, birden çok uygulanan durumlarda ve erken doğum durumlarında süte antibiyotik kalıntısı olabileceği dikkate alınmalıdır. Kuru dönem antibiyotikleri ve kalıntı bırakma süreleri tablo halinde belirtilmiştir (Tablo 2-8) (42).

Tablo 2-8: Kuru Dönem Periyodunda Meme İçi Kullanılan İlaçlar

İçindeki Etken Madde	Ticari İsmi	Etten geri emilim süresi (Gün)
Sefalekssin benzatin	Rilexine HL [®]	0
Fefalonyum	Cepravin [®]	21
Sefapirin benzatin	Cefetar [®]	45
Sefazolin	Cefovet HL [®]	21
Kloksasilin benzatin	Cloxamam [®] , Cloxine HL [®] , Dicloman T [®] , Kloxerata DC [®] , Orbenin HL [®] , Orbenor HL [®] , Tariclone HL [®] , Tarigermel [®]	21
Oksasilin benzatin+oksasilin sodyum	Stepenor [®]	28
Rifaksimin	Fatrox [®]	0
Framisetin sülfat+Eritromisin	TEF [®]	42
Neomisin sülfat+ Spiramisin	Speciorlac [®]	0
Penisilin G prokain+Novobiyosin sodyum	Albadry [®]	30
Kloksasilin benzatin+Neomisin sülfat	Betalone [®] , Cloxagel HL 500 [®]	30
Penisilin G prokain+Nafsilin+Dihidroseptomisinsülfat	Nafpenzal [®]	30
Penisilin G prokain+Neomisin sülfat	Vanopen [®]	30
Kloksasilin benzatin+Kolistin sülfat	Coliclox HL [®]	0

Bulaşıcı mikroorganizmaların (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*) teşhis edildiği sürülerde hem koruyucu amaçlı hem de teşhis edilemeyen

subklinik mastitis vakalarını tedavi etmek amacıyla, kuruya alınan hayvanların tüm meme loblarına antibiyotik uygulanması süt sığırı yönetiminde başarılı sonuçlar alınmasını sağlar (4, 12, 39, 84, 90). Laktasyonun ilk döneminde *Staphylococcus aureus* ve KNS enfeksiyonları sık görüldüğünden kuru dönem tedavilerinin koruyuculuğu önemlidir. Süt sığırı sürüsünde memelerin %15'i enfekte ise ya da sütte SHS 400.000'den yüksek ise kuru dönem sağaltımı yapılmalıdır (12).

Kuru dönem tedavileri rutin olarak İS antibiyotik perfüzyonu ile yapılmalıdır. Bunun yanında parenteral antibiyotik uygulamaları denenmiş ancak gerekli olmadığı kanısına varılmıştır (85).

Kuru dönemde, mastitisten korunmada önemli bir kriter, meme başı kanalının açıklığıdır. Normal şartlarda meme başı kanalında keratin plak oluşarak doğal korunma sağlanır ve bu korunmanın yeni mastitis oluşumunu 1,8 kat engellediği bilinmektedir. Ancak bu keratin plak her zaman yeterli oluşmamaktadır ve koruma sağlayamamaktadır. Bu nedenle kuru dönemde meme başını kaplayan preparatlar kullanılmaktadır. Meme başının dışını film bariyeri ile kaplayan preparatlar (DryFlex[®], Stronghold[®]), meme başı içine sıkmak suretiyle tıkaç oluşumu sağlayan preparatlar ve parafin yapılı bizmut subnitrat bazlı meme başı tıkaçlarının, çevresel mastitislere karşı koruyucu oldukları tespit edilmiştir (67, 84). Ayrıca lacticin 3147 isimli, *Lactococcus lactis* tarafından üretilen bakteriyosin içeren meme başı tıkaçıcılarının diğer tıkaçıcılara göre daha etkili olduğu kanıtlanmıştır (90).

2.6.3. Mastitis Sağaltımında Alternatif Yöntemler

Mastitis sağaltımında sitokinlerden faydalanılmaktadır. Bu anlamda, deneysel *Escherichia coli* mastitislerinde ve *Staphylococcus aureus* mastitislerinde rekombinant interferon- γ uygulamaları başarılı olmuş, İnterlökin-1 β ve *Tumor Necrosis factor-alfa* (TNF- α)'nın bazı antibiyotikleri daha etkili hale getirdikleri tespit edilmiştir. Sitokinler yalnızca koruyucu olarak kullanılmış ve kısa süre etkili olmuşlardır (85).

Nisin ve lizostafin gibi antibakteriyel proteinler, Gram-pozitif bakterilerin oluşturduğu mastitislerde nontoksik maddeler olarak faydalı etkiler göstermektedirler. Laktoferrin, yalnız ya da antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında, özellikle Gram-negatif mastitis patojenlerine karşı in-vitro antibakteriyel etkileri görülmüştür (85).

Farklı bir çalışma da bir bitki kök olan *ginseng* kullanılmış ve *Staphylococcus aureus* mastitisli ineklerde fagositer hücrelerde bazı etkileri tespit edilmiş ancak net bulgular ortaya konmamıştır (85).

Olumlu sonuç görülen çalışmalardan biri ise ozon terapidir. Akut klinik mastitislerde çalışma yapılmış, sütte antibiyotik kalıntısı olmaması avantajıyla güncel alternatif tedavi yöntemleri arasına girmiştir (77, 85).

Perokside benzer bir oksijenasyon maddesi olan *glyoxilide*, mastitis tedavisinde *Koch Sağaltımı* ismi ile im olarak uygulanmaktadır (33). Oksidatif sağaltım yöntemleri arasında yer alan hidrojen peroksit (H_2O_2) uygulamaları ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Subklinik mastitis olan ineklerde İS uygulanan H_2O_2 , özellikle *Corynebacterium* spp. ve KNS mastitisleri üzerinde etkili bulunmuştur (26).

2.7. Mastitisle Mücadele Yaklaşımları

Süt sığırcılığı yetiştiriciliğinde amaç hücre sayısı ve bakteri sayısı düşük olan kaliteli ve yüksek miktarda süt elde etmektir (12). Mastitis kontrol programları; enfeksiyonun eliminasyonunu, yeni enfeksiyonlardan korunmayı ve memelerin mastitis açısından izlenmesini hedefler (12, 45).

Meme enfeksiyonlarından korunmak için sanitasyon, biyolojik olarak etkenler eradike edilemediği için zorunlu olmuştur (100). Birçok enfeksiyöz hastalıkta olduğu gibi profilaksi tedaviden daha önemlidir. Sağaltım masrafları her zaman koruyucu masraflardan çok daha fazladır (12, 85).

Mastitis kontrol programlarında dikkat edilecek hususlar aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Uygun çevre koşulları
2. Uygun sağım yöntemi
3. Sağım ekipmanlarının yapısı, bakım ve fonksiyonu
4. Sağım hijyeni
5. Teat dipping uygulamaları
6. Memelerin mastitis yönünden sürekli takip edilmesi
7. Laktasyon dönemindeki klinik mastitislerin sağaltımı
8. Kuru dönemdeki ineklerin bakımı ve kuru dönem sağaltımı
9. Kronik enfekte ineklerin sürüden çıkarılması

10. Kayıt tutulması ve sonuçlarda veri elde edilmesi

11. Memenin sağlıklı kalabilmesi için gerekli koşulların saptanmasıdır (12, 76).

Ayrıca hayvanların immun sistemlerini güçlendiren sağaltımlar yapılabilir (100).

Süt sığırı işletmelerinde hedef kaliteli ve yüksek süt verimidir (34, 36, 74). Genetik ıslah süt veriminin artması için yapılır (82). Süt verimi ile mastitis arasında doğru bir orantı olduğuna göre de mastitis görülme insidensinde artış da kaçınılmazdır (36, 74, 100). Yüksek süt verimli inekler metabolik hastalıklara da daha duyarlıdır (88). Bu sebeple seleksiyonda bu yatkınlıkların göz ardı edilmesi, uzun dönemde performansı olumsuz yönde etkileyebilir (32).

Mastitis kontrolünde hastalıkların kontrolü için alınan önlemler şunlardır;

1. Kronik enfekte ineklerin sürüden çıkartılması
2. Şüpheli hayvanların karantinaya alınması
3. Sağlık koşullarının geliştirilmesi
4. Aşılama
5. Tedavi ve ilaç uygulamaları

Mastitis korunma önlemlerinin maliyet, süte antibiyotik kalıntısı oluşumu, bakterilerde direnç gelişimi ve hastalıklara karşı hayvanın oluşturduğu doğal dirençte zayıflama, ilaç ve aşılarda daha zayıf etkilerinin olması gibi problemleri vardır. Bu nedenlerle mastitislere karşı direnç ile ilgili yapılan çalışmalar önem arzetmekte ve üretimin ancak direnç gelişimi ile artabileceği düşünülmektedir (27). Mastitise karşı dirençli hayvanlar seleksiyona tabi tutularak, genetik ilerleme stratejileri uygulanabilmektedir (45).

Sütçü inek çiftliklerinde mastitis kontrol programlarında direkt olarak klinik mastitislere göre seleksiyon uygulanabilmektedir. İskandinav ülkelerinde tedavi edilen her hayvan kayıt sistemine işlenmekte ve yetiştiricilik klinik mastitis kayıtlarına göre yapılmaktadır (84). ABD'de ise klinik mastitis veri tabanı olmadığından, seleksiyon için SHS kayıtları, meme özellikleri ve laktasyon yılı kriterleri göz önünde bulundurularak ıslah çalışmaları yapılmaktadır (74).

Somatik hücre sayısına göre genetik ıslah çalışmaları subklinik mastitis verileri üzerinden yapılabilir. SHS'na göre yapılan ıslah çalışmalarının, klinik mastitise göre yapılan ıslah çalışmalarından daha güvenilir olduğu bildirilmektedir (89). KNS ve

çevresel bakteri kökenli klinik mastitislerin, SHS kayıtları ışığında yapılan seleksiyonla azaltılabileceği düşünülmektedir (74).

Kaliteli süt düşük SHS ve mikroorganizma ile ifade edilirken, bazı çalışmalar sütteki SHS azalmasının klinik mastitis riskini arttırdığını belirtmektedir (31, 107). Buna sebep olarak ise düşük SHS olan hayvanlarda nötrofillerin patojenlerle yeterince karşılaşamayacağı ve bu nedenle mastitise daha duyarlı hale gelmesine sebep olduğu düşünülmektedir (102). Düşük somatik hücre sayısına sahip süt üretme yönündeki hedefin, mastitis direncini düşürebileceği ve olumsuz sonuçlar doğurabileceği bildirilmektedir (45, 84, 89). Buna karşın düşük SHS'nın klinik mastitis riskini arttırmadığı görüşleri de bulunmaktadır (11).

Tank sütünde SHS düşük olan sürülerde *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. ile *Pseudomonas* spp. gibi Gram-negatif çevresel bakteriler ile oluşan mastitis insidensinin daha yüksek olduğu görülmüştür (11, 107).

Meme özellikleri ve SHS arasında genetik korelasyon mevcuttur. Meme şekli, büyüklüğü ve ligamentleri ile SHS ve klinik mastitis arasındaki genetik korelasyon -0,29 ile -0,46 arasındadır (56). Meme başı uzunluğu ile laktasyon somatik hücre skoru ve klinik mastitis arasındaki genetik korelasyon düşük düzeyde olmakla birlikte (89), uzun meme başı olan ve yüksek SHS'li ineklerde klinik mastitis insidensinde artış gözlenebilmektedir. Kısa meme ucuna ve düşük SHS'na sahip inekler, genetik olarak, mastitise daha dirençlidir (32). Sağım kolaylığı ile laktasyon somatik hücre skoru arasında ise olumsuz düzeyde bir ilişki tespit edilmiştir (89). Genetik korelasyonlar düşük olsa da meme konformasyon genetiği bakımından seleksiyon yapılması, mastitis insidensini düşürebilir (32).

Mastitis kontrol ve mücadelesinde aşılamanın yeri ve önemi büyüktür. Aşılama ile patojenlere karşı antikor oluşması ve oluşan antikor ile enfeksiyondan korunmak, oluşacak enfeksiyonu kolay tedavi edebilmek ve hastalığı hafif şiddette geçirmek hedeflenir (4, 63). Sütteki antikor konsantrasyonunun büyük çoğunluğu sistemik immun tepki sonrası üretilerek memeye geçen antikorlardan oluşmaktadır ve çok az bir kısmı ise lokal immun tepki sonrası meme bezinde üretilen antikorlardır. Bu nedenle aşılama yoluyla sistemik dolaşımda yeterli düzeyde antikor konsantrasyonu oluşturulması gereklidir.

Aşı üretme çalışmaları, uzun yıllardır süregelen çalışmalardır ve mastitise karşı yapılan aşılamalardaki başarı, diğer hastalıkların aşılarına göre daha sınırlı olmaktadır.

Çünkü mastitis patojenlerinin çok çeşitlilik göstermesi, bakteri fonksiyon ve virulanslarının farklılık göstermeleri aşı başarısını etkilemektedir (12, 37, 119).

Süt sığırlarında mastitis etkenleri çok çeşitlidir. Bir bakterinin çok çeşitli suşları vardır. Aşılama da tek bir suş için hazırlanan içerik, diğer suşlar için koruyuculuk sağlamaz. Bu nedenle her bir suş için ayrı aşı geliştirilmeli ve uygulanmalıdır (4). Örneğin stafilokokların çok çeşitli suşları olduğu için üretilen aşılar, korunma açısından yetersiz kalabilmektedir (12).

Sistemik aşılama kanda yüksek yoğunlukta antikor oluşmasını sağlar. Ancak meme epiteli serum antikorlarına karşı geçirgen değildir. Bu nedenle enfeksiyon sırasında memede antikor titresi yeterli düzeyde olmaz (4, 12). Antikorlar ancak akut mastitis olgusu başladıktan sonra kandan geçiş yapabilir. Böylece aşı, korunmadan ziyade enfeksiyonun şiddetini azaltmakta ve sağaltımını kolaylaştırmaktadır (4, 63).

Mastitis aşıları lokal ve sistemik yolla uygulanabilir (4, 12). Sistemik yolla aşılanmanın mastitis yönünden koruyuculuğunun zayıf olması nedeniyle İS aşılama, memedeki lenf yumrularını hedef alarak sütte daha fazla antikor oluşmasını sağlamaktadır. İntrasisternal aşılama laktasyonda yangıya sebep olduğu için kuru dönemde tercih edilir (4). *Staphylococcus aureus*'tan korunmak için yüksek dozda inaktif mikroorganizma içeren aşı İS olarak kullanılmaktadır. Bu durum meme dokusunda yıkıma yol açar ve takiben laktasyon döneminde süt veriminde azalma görülür. Bu sebeple lokal aşılarda kullanımı daha azdır (12).

Sistemik mastitis aşıları, *Staphylococcus aureus*, koliformlar, streptokoklar, *Arcanobacterium pyogenes* ve mikoplazmalara karşı bağışıklık sağlar. Bu aşılar subkutan (sc), intramuskuler (im) yolla uygulanabildiği gibi, tekli aşı ya da kombine aşı şeklinde olabilmektedir. Ancak süte geçen antikor miktarı az olduğu için koruyuculuğu da sınırlıdır (12). Aşılamada monovalan ve polivalan aşılar bulunmaktadır. Monovalan aşılar Stafilokoklara, *Escherichia coli*'ye, *Arcanobacterium pyogenes*'e ve *Mycoplasmalara* karşı üretilmekle birlikte polivalan (kombine) aşılar oldukça yaygındır.

Staphylococcus aureus mastitisi olan hayvanlarda iyileşme sonrası antikor düzeyi yüksek kaldığı ve tekrar edecek enfeksiyona karşı daha dirençli olduğu tespit edilmesi mastitislerde aşılama ile korunma sağlanabileceği düşüncesini ortaya koymuştur (4). *Staphylococcus aureus*'a karşı yapılan saha çalışmalarında aşının

koruma etkinliğinin olduğu ileri sürölürken (55, 66) bazı çalışmalar ise aşının yetersiz kaldığını bildirilmektedir (22, 52).

Polivalan aşılar olarak, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Arcanobacterium pyogenes*'e karşı Lactovac® ve Mastivac® üretilmiştir. *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Arcanobacterium pyogenes*'e karşı ise Hipramastivac® geliştirilmiştir (12, 63). Hipramastivac® ile ilgili yapılan bir çalışmada, polivalan aşının mastitise karşı belirgin bir koruma sağlamadığı ancak saha şartlarında aşılamanın klinik mastitis sayısı ve *Staphylococcus aureus* enfeksiyonunu azaltabileceği bildirilmiştir (63).

2.8. İnaktif *Parapoxvirus ovis* D1701 Suşu ve Mastitis Arasındaki İlişki

Veteriner sahada birçok ürün, radikal tedaviye destek olarak kullanılmaktadır. İmmunstimulanlar bu destek tedavide birçok hastalıkta olumlu yanıt alınan önemli ajanlardır (25, 120).

İnaktif *Parapoxvirus ovis* içeren mikrobiyel kaynaklı nonspesifik immunomodölör, özellikle enfeksiyöz hastalıklara karşı non-spesifik bağışıklığı stimüle eden bir immunomodölördür. Birçok hayvan türünde radikal tedaviye yardımcı ve stres kaynaklı oluşabilecek enfeksiyöz hastalıklardan korunma amacıyla ve aşının etkinliğini arttırabilmek amacıyla kullanılmıştır. İnek, kedi, köpek, at, fare ve kedibalıklarında yapılan çalışmalar ile bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkileri bildirilmiştir (25).

İnaktif *Parapoxvirus ovis* paraimmunité aktivatörünün, lenfositlerin proliferasyonunu stimüle ettiği ve lenfositlerden interferonların ve interlökinlerin salınımını arttırdığı bilinmektedir. İnaktif *Parapoxvirus ovis* paraimmunité aktivatörünün enfeksiyöz hastalıklara yol açan mikroorganizmaların hücreye bağlanması, immun hücrelerin aktivasyonunda, hücreler arası haberleşmede ve hücre tanımlanmasında yer aldığı rapor edilmiştir (44, 115). Nitrik oksit ve reaktif oksijen türleri, sialik asitler, malondialdehit ve kan glutatyon gibi mediyatörlerin seviyesinde regölasyonlar oluşturduğu tespit edilmiş (59) ve immunostimulan etkinin

birçok serbest radikaller ve reaktif oksijen türlerinin düzeylerinde değişiklikler oluşturarak sağladığı bilinmektedir (97). Ayrıca İPPVO insan immün hücrelerinde T hücreleri ve NK hücrelerinden proenflamatuvar ve antienflamatuvar sitokin salınımında rol aldığı ve buna bağlı olarak enflamasyon ve immün cevap üzerinde regülatör olarak da etkili olduğu bildirilmiştir (38).

Kriptosporidiosis ve *Bovine Papüler Stomatitis* tanısı konan buzağılarda yapılan çalışmada spiramisin ile birlikte İPPVO enjeksiyonlarıyla, iki hafta sonunda enfeksiyonun eradike edildiği tespit edilmiştir (99). *Infectious Bovine Rhinotracheitis* (IBR)'li sığırlara İPPVO eneksiyonunu takiben interferon salınımının arttığı, klinik semptomları azaldığı ve virüsün saçılmasının azaldığı ve potansiyel olarak IBR enfeksiyonlarında immunostimulan olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir (12, 35). Enzootik pnömoni tanısı konulan ineklerde koruyucu olarak ve tedaviyi hızlandırmak amacıyla İPPVO kullanımının faydalı olacağı belirtilmiştir (60, 70). Sığırlara postnatal İPPVO uygulaması ile interferon salınımı uyarıldığı, bu etkisini üç hafta devam edebileceği ve bu etkinin meme dokusu immün sistemi uyarabileceği bildirilmiştir (121).

Meme savunma sisteminde rol alan makrofajlar patojen, memeye girdiği andan itibaren kimyasal uyarıcılar olan interferonlar, interlökinler ve tümör nekrozis faktörlerin üretilmesini, yangı mediyatörlerinin devreye girmesini, damar geçirgenliğinin artmasını ve dolayısıyla nötrofillerin memeye göç etmesini sağlar. Bu nedenle meme savunmasında rol alan mediyatörlerin kandaki ve sütteki miktarlarında, İPPVO enjeksiyonunu takip eden süreçte olumlu yönde değişiklikler olacağı ve bu değişikliklerin masitis korunmasında ve tedavisinde etkili olabileceği fikri ortaya çıktı. Bu fikir, çalışmamızın temelini oluşturdu ve çalışmamızda İPPVO D1701 suşunun, mastitis korunması ve tedavisindeki etkinliğini saptamak amaçlandı.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Materyali

Çalışma materyali, Özel Doğa Eğitim Kurumları Tarım ve Hayvancılık İşletmeleri Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi'ne ait süt sığırcılığı yapan, Doğamar Çiftliği'ndeki inekler içerisinde oluşturuldu. Çiftlikte yapılan mastitis tarama işlemleri ile subklinik mastitisli inekler ve sağlıklı ineklerden çalışma kriterlerine uygun olan meme lobları seçildi.

Subklinik mastitisli ineklerden daha önce mastitis tedavisi ya da cerrahi müdahale görmüş meme lobu olan inekler, bir ay içerisinde sistemik enfeksiyon geçirmiş inekler ya da herhangi bir dönemde mastitis aşısı uygulanmış inekler çalışmaya alınmadı. Subklinik mastitis haricinde herhangi bir hastalık yönünden şüphesi bulunan hayvanlar, puerperal dönemde ve gebeliğin son döneminde olan hayvanlar çalışma için tercih edilmedi.

Çalışma materyali olan inekler, Haziran 2016 - Haziran 2017 arasında, 3-6 yaş aralığında, laktasyonun 1-6 aylık döneminde olan Holştayn ırkı hayvanlar arasından seçildi. Bu hayvanlardan; 60 adet mastitis olmayan ineğe ait, 60 adet (CMT (-)), meme lobu ve 90 adet subklinik mastitis olan ineğe ait, 90 adet (CMT (+)) meme lobu üzerinde çalışma yapıldı.

İnekler ile ilgili veriler, muayene bulguları, gözlemler ve işletme kayıtları göz önünde bulundurularak elde edildi.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Alet, Ekipman, Cihaz ve İlaçlar

1. California mastitis test
2. Süt analiz cihazı
3. Süt numune tüpleri
4. Somatik hücre sayım cihazı
5. Mikrobiyolojik besiyerleri
6. İnaktif *Parapoxvirus ovis* D1701 suşu

7. Sefaleksın 200 Mg- Kanamisin Monosülfat 100.000 IU Meme İçi Süspansiyon
8. Sefaperazon dihidrat 100 mg Meme İçi Süspansiyon
9. Antiseptikler
10. Enjektör (Set Inject 5 ml)

3.1.2.1. California Mastitis Test

CMT siyah renkli CMT küreği ve CMT solüsyonu kullanarak yapıldı. CMT ayırıcı olarak hazır preparat olan ve içeriği %3 yüzey aktif madde, izopropil alkol, indikatör ve sudan oluşan solüsyon (Mastest, INOBIO®) kullanıldı.

3.1.2.2. Süt Analiz Cihazı

Sütlerin elektrik iletkenliği süt analiz cihazı (Lactostar Milk Analyzer, Funke Gerber) ile ölçüldü.

3.1.2.3. Süt Numune Tüpleri

Süt numuneleri somatik hücre sayımı için 50 ml'lik plastik numune kaplarına en az 40 ml olacak şekilde alındı. Süt örneklerinin, nakil sırasında somatik hücre sayısı ve süt komponentlerini etkilemeyen, mikrobiyal üremeyi durduran kimyasal tabletler (Board spectrum mikrotabs II) kullanıldı.

Süt numuneleri mikrobiyolojik inceleme için 20 ml'lik steril cam tüplere alındı. Cam tüpler kuru sterilizatörde 120°C'de 2 saat tutularak sterilize edildi.

3.1.2.4. Somatik Hücre Sayım Cihazı

Somatik hücre sayımı için, akım sitometri metoduna bağlı analiz yapan somatik sayım cihazı (Somacount 150) kullanılmıştır. Söz konusu cihaz ve kullandığı analiz yöntemleri ICAR (International Commmittee for Animal Recording) tarafından onaylıdır.

3.1.2.5. Mikrobiyolojik Besi Yerleri, Analiz Cihazı ve Kitler

Laboratuvara gönderilen süt örneklerinden 0,01 ml alınarak %5 Koyun kanlı Columbia Agar, MacConkey Agar'a, Dermatofit test medium (DTM) ve Saboroult dextroz agar (SDA) besi yerlerine çift ekim yapıldı. Ekimler 37°C'de aerob ve

mikroaerob şartlarda 24-72 saat inkube edildi. İnkubasyon sonunda üreyen kolonilerin morfolojileri ve koloni özellikleri incelendi.

Üç veya daha fazla tip koloni görülen örnekler kontamine olarak değerlendirildi. İzolasyon ve identifikasyon için uygun bulunan örneklerde kolonilerden Gram boyama yapıldı ve saf kültür hazırlanarak izole edilen mikroorganizmalar klasik yöntemlere göre ve BD Phonix ticari kitleri kullanılarak identifiye edildi (86).

Patojenlerin antimikrobiyal duyarlılıkları Kirby Bauer disk difüzyon testi ve BD Phonix kombo kit kullanılarak tespit edildi. Ampisilin, ampisilin/sulbaktam, amoksisilin, amoksisilin/klavulonik asit, sefoperazon, seftiofur, enrofloksasin, eritromisin, gentamisin, streptomisin ve tetrasiklin antibiyotik duyarlılık testinde kullanıldı (6).

3.1.2.6. İnaktif *Parapoxvirus ovis* D1701 Suşu

Sulandırılmış ürünün 1 ml'sinde en az 230 ünite IFN inaktif *Parapoxvirus ovis* D1701 suşu (Zylexis[®], Zoetis) ve 2 ml'lik sulandıcısı bulunan immunité aktivatörü, steril koşullarda ve soğuk zincir kırılmadan kas içi (im) uygulandı.

3.1.2.7. Sefalekssin 200 mg- Kanamisin Monosülfat 100.000 IU Meme İçi Süspansiyon

On gr'lık steril plastik enjektör içerisinde, sefalekssin 200 mg ve kanamisin monosülfat 100.000 IU bulunan ilaç (Ubrolexin[®] (Boehringer Ingelheim)) sağım sonrası 24 saat ara ile iki doz intrasisternal (İS) uygulandı.

3.1.2.8. Sefaperazon dihidrat 100 mg Meme İçi Süspansiyon

On ml'lik steril plastik enjektör içerisinde, sefaperazon dihidrat şeklinde 100 mg sefaperazon (Pathozone 100[®] (Zoetis)) bulunan ilaç sağım sonrası 24 saat ara ile iki doz İS uygulandı.

3.1.2.9. Antiseptikler

Memelerden mikrobiyolojik muayene için süt numunesi alma işlemi öncesinde, meme başlarının dezenfeksiyonu amacıyla alkollü tek kullanımlık ıslak mendiller kullanıldı.

Meme başları sağım sonrası *teat dipping* uygulaması için %5,5 aktif iyon, gliserin, lanolin içeren (Masdisin Lobar[®] Royal) solüsyon kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması ve Uygulanan İşlemler

Çalışma iki bölümden oluştuğu için CMT (-) ve CMT (+) hayvanlar ayrı ayrı ele alındı. Toplam 60 adet CMT (-) ve 90 adet CMT (+) hayvan kullanıldı (Tablo 3-1).

Tablo 3-1: Çalışma Gruplarının Oluşturulması

<u>Holstein Irkı İnek (n=150)</u>				
Profilaksi Grubu		Tedavi Grubu		
<u>A Grubu CMT (-) n=60</u>		<u>B Grubu CMT (+) n=90</u>		
A1 Grubu	A2 Grubu	B1 Grubu	B2 Grubu	B3 Grubu
n=30	n=30	n=30	n=30	n=30

3.2.1.1. Subklinik Mastitis Olmayan CMT (-) İneklerden Deney ve Kontrol Grupları Oluşturulması (A1 ve A2 Grupları)

Beş yüz elli adet inekte tarama yapılarak, klinik sistemik muayene, meme muayenesi ve süt muayenesi yapıldı. Muayenesi yapılan hayvanlardan 3-6 yaş aralığında, laktasyonun 1-6 aylık döneminde ve CMT (-) olan sağlıklı Holştayn ırkı ineklerden 30 adet seçilerek deney grubu ve 30 adet seçilerek kontrol grubu oluşturuldu. Deney grubu=A1 (n=30) ve kontrol grubu=A2 (n=30) olarak rastgele ayrıldı. A1 ve A2 gruplarında karşılaştırmalı olarak İnaktif *Parapoxvirus ovis* D1701 suşunun mastitis profilaksisindeki etkinliği araştırıldı. Bunun için;

A1 deney grubuna (n=30) 0, 2 ve 9. günlerde 2 ml im *Parapoxvirus ovis* paraimmunité aktivatörü uygulandı. A2 kontrol grubuna (n=30) 0, 2 ve 9. günde serum izotonik (plasebo) 2 ml im uygulandı.

A1 ve A2 gruplarından 0, 9, 15 ve 30. günlerde süt numuneleri alındı. Numuneler ilk sağım sütü atıldıktan sonra 50 ml'lik plastik numune kaplarına en az 40 ml olacak şekilde alındı (Tablo 3-2).

Tablo 3-2: A Grupları Çalışma Planı

	A1 Grubu (Deney Grubu)					A2 Grubu (Kontrol Grubu)				
	0.gün	2.gün	9.gün	15.gün	30.gün	0.gün	2.gün	9.gün	15.gün	30.gün
İPPVO Enjeksiyonu	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Serum İzotonik Enjeksiyonu	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Süt Numunesi Toplama	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+

3.2.1.2. Subklinik Mastitis Olan CMT (+) İneklerden Grupların Oluşturulması (B1, B2 ve B3 Grupları)

Beş yüz elli adet inekte tarama yapılarak, klinik sistemik muayene, meme muayenesi ve süt muayenesi yapıldı. Muayenesi yapılan hayvanlardan 3-6 yaş aralığında, laktasyonun 1-6 aylık döneminde ve CMT (+) subklinik mastitis olan Holştayn ırkı ineklerden 30'ar adet seçilerek B1, B2 ve B3 grupları oluşturuldu. B1, B2 ve B3 gruplarında karşılaştırmalı olarak İnaktif *Parapoxvirus ovis* D1701 suşunun (İPPVO) subklinik mastitis tedavisindeki etkinliği araştırıldı.

B1 (n=30) grubuna 0, 2 ve 4. günlerde İPPVO 2 ml im uygulandı.

B2 (n=30) grubuna, 0, 2 ve 4. günlerde İPPVO 2 ml im uygulandı. Antibiyogram sonuçlarına göre, 12 ineğe sefalekssin 200 mg- kanamisin monosülfat 100.000 IU ve 18 ineğe sefaperazon dihidrat 100 mg, İS yolla 24 saat ara ile iki kez uygulandı.

B3 (n=30) sadece antibiyotik uygulandı. B3 grubunda antibiyogram sonuçlarına göre 17 ineğe sefalekssin 200 mg-kanamisin monosülfat 100.000 IU ve 13 ineğe sefaperazon dihidrat 100 mg, İS yolla 24 saat ara ile iki kez uygulandı. Ayrıca plasebo amacıyla 0, 2 ve 4. günlerde serum fizyolojik 2 ml im uygulandı.

B1, B2 ve B3 gruplarından 0, 9 ve 15. günlerde süt numuneleri alındı. Numuneler ilk sağım sütü atıldıktan sonra 50ml'lik plastik numune kaplarına en az 40 ml olacak şekilde alındı (Tablo 3-3).

Tablo 3-3: B Grupları Çalışma Planı

<u>B1 Grubu</u>			<u>B2 Grubu</u>			<u>B3 Grubu</u>		
İPPVO	Süt		İPPVO	Meme İçi	Süt	Serum	Meme İçi	Süt
Enjeksiyonu	Numunesi		Enjeksiyonu	Antibiyotik	Numunesi	İzotonik	Antibiyotik	Numunesi
	Toplama				Toplama	Enjeksiyonu		Toplama
0.gün	+	+	+	+	+	+	+	+
1gün	-	-	-	+	-	-	+	-
2.gün	+	-	+	-	-	+	-	-
4.gün	+	-	+	-	-	+	-	-
9.gün	-	+	-	-	+	-	-	+
15.gün	-	+	-	-	+	-	-	+

3.2.2. Muayeneler

Beş yüz elli adet ineğin tekrarlayan sağlık taramaları için sistematik genel muayeneler, özel meme muayeneleri ve süt muayeneleri yapıldı.

3.2.2.1. Sistemik Genel Muayene

Sistemik muayenesinde metritis tanısı konulan 4 inek, ovaryum kistleri tanısı konulan 2 inek, klinik mastitis bulunan 18 inek, dermatit bulunan 3 inek ve tırnak bozuklukları tespit edilen 22 inek çalışmaya alınmadı. Bunların yerine çalışma prensibine uygun başka hayvanlar seçildi.

Çalışmaya alınan subklinik mastitisli ve sağlıklı inekler arasında çalışma ve takip sürecinde genel durumları bozulanlar ve hastalık teşhis edilenler deney grupları dışına alınarak yerine deney prensibine uygun yeni hayvanlar seçildi.

3.2.2.2. Özel Meme Muayenesi

Klinik olarak muayenede özellikle memelerde ve meme başlarında oluşan lezyonlar, ülserler, travmalar, kızarıklık ve şişkinlik, sıcaklık artışı ve ağrı gibi yangısal semptomlar, memelerdeki şekil bozuklukları, fizyolojik veya patolojik meme ödemi, meme apseleri, atrofik memeler ve meme başlarına ek olarak eklenti meme başları gözlemlendi.

Sağım sonrasında sütü boşalan memelerde patolojiler daha net saptanabildiği için süt boşalmadan ve boşaldıktan sonra ayrı ayrı muayene yapıldı. Memelerin palpasyonunda iki el ile meme kavranarak derin dokulardaki kronik bağ doku

oluşumları, kitle, ödem tespit edildi. Meme uçları baş ve işaret parmağı arasında palpe edilerek sinüslerde sertleşme, daralma, tıkanma, kitle, şişkinlik ve ağrı hissedildi.

Hastalık yönünden şüpheli ineklere CMT ve SHS bakıldı. Bunlardan klinik mastitis teşhisi konulanlar, çalışma grupları haricinde değerlendirilerek ayrı olarak ele alındı. Subklinik mastitis ve sağlıklı olduğu tespit edilen inekler ise çalışma gruplarına alındı. Çalışmaya alınan ineklerde meme muayeneleri sürekli takip edildi. Çalışma süresince grup özellikleri haricinde bir patoloji gösteren inekler ise grup dışına alındı.

3.2.2.3. Sütün Fiziksel Muayenesi

Sütün muayenesi klinik strip cup testi olarak bilinen siyah kürek ile yapıldı. İlk birkaç ml süt kürek dışına sağıldıktan sonra, kürek uygun meme başlarına gelecek şekilde tutulup birkaç ml süt sağıldı. Sütün renginde kokusunda anormallik tespit edilen, flakon, pıhtı, kan, irin görülen sütler klinik mastitis olarak değerlendirildi.

SCT (-) yani normal görünümü olan beyaz renkli kendine has kıvamı olan sütler ise CMT solüsyonu ile test edildi. CMT (+) olan gruplara ise mikrobiyolojik analiz yapıldı. Alınan tüm süt numunelerinde ise SHS ve Eİ bakıldı.

3.2.2.4. California Mastitis Test

Süt muayenelerinde SCT’de klinik bir bozukluk saptanmayan ineklerdeki meme loblarının sütleri CMT muayenesine tabi tutuldu. CMT için özel kaplar kullanıldı. CMT kapları üzerinde 4 adet yuvarlak bölmeli olmak üzere A bölümü, sağ ön meme lobuna; B, sağ arka meme lobuna; C, sol ön meme lobuna; D, sol arka meme lobuna denk gelecek şekilde yerleştirildi. Birkaç ml dışarı sağılan süt daha sonra 2 ml kadar test kabına sağıldıktan sonra hazır preparat olan CMT solüsyonu 1-2 ml kadar eklendi. Dairesel hareketlerde sütte oluşan değişimler gözlemlendi.

Sütte şekillenen değişimler Philpot ve Nickerson (2007) tanımlamalarına göre CMT skoru 0 ve şüpheli olan sütler CMT (-) kabul edildi ve SHS yapıldıktan sonra A1, A2 grupları oluşturuldu (81).

CMT (+1), (+2) ve (+3) tespit edilen sütler subklinik mastitis olarak CMT (+) kabul edildi ve SHS yapıldıktan sonra B1, B2, B3 grupları oluşturuldu.

3.2.2.5. Somatik Hücre Sayısı

Süt numuneleri somatik hücre sayımı için 50 ml'lik plastik numune kaplarına en az 40 ml olacak şekilde alındı. Süt örneklerinin, nakil sırasında somatik hücre sayısı ve süt komponentlerini etkilemeden, mikrobiyal üremeyi durduran kimyasal tabletler (Board spectrum mikrotabs II (Bronopol Koruyucu)) kullanıldı. Her tüpün içine bir tablet atılarak, tablet eriyinceye kadar numune kapları hafifçe çalkalandı. İstanbul Üniversitesi Zootekni Anabilim Dalı Süt Analiz Laboratuvarı'na getirilen süt örnekleri su banyosunda 40 °C'ye kadar ısıtıldıktan sonra analizleri yapıldı. Analiz sistemi, akım sitometri metoduna bağlı olarak çalışan, somatik hücre sayım cihazı (Somacount 150) ile yapıldı.

A1 ve A2 gruplarından 0, 9, 15 ve 30. günlerde, B1, B2 ve B3 gruplarından 0, 9 ve 15. günlerde somatik hücre sayımı tekrarlandı.

3.2.2.6. Sütün Mikrobiyolojik Muayenesi

Çalışma materyalini oluşturan süt örnekleri, aseptik şartlar altında toplandı. Süt örneklerinin toplanmasına başlamadan önce meme başları alkollü tek kullanımlık ıslak mendiller ile dezenfekte edildi. On beş ml'lik steril plastik tüplere 10'ar ml süt örnekleri alındı. Örnekleme sırasında ilk sağım sütü dışarı sağıldıktan sonra, çevresel kontaminasyonu engellemek için tüpler memeye yaklaşık 45°'lik eğimle yaklaştırıldı. Alınan numuneler bekletilmeden mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı.

Laboratuvara getirilen süt örneklerinden 0,01 ml alınarak %5 Koyun kanlı Columbia Agar, MacConkey Agar'a, Dermatofit test medium (DTM) ve Saboroult dextroz agar (SDA) besi yerlerine yapılan ekimler, 37°C'de aerob ve mikroaerob şartlarda 24-72 saat inkube edildi.

Kolonilerin morfolojileri incelendi ve üç veya daha fazla tip koloni görülen örnekler kontamine olarak değerlendirildi. İzolasyon ve identifikasyon için uygun bulunan örneklerde kolonilerden Gram boyama yapıldı ve saf kültür hazırlanarak izole edilen mikroorganizmalar klasik yöntemlere göre ve BD Phonix ticari kitleri kullanılarak identifiye edildi (86).

Kirby Bauer disk difüzyon testi ve BD Phonix kombo kit kullanılarak antibiyotik duyarlılıkları tespit edildi. Ampisilin, ampisilin/sulbaktam, amoksisilin,

amoksisilin/klovulonik asit, sefoperazon, seftiofur, enrofloksasin, eritromisin, gentamisin, streptomisin ve tetrasiklin antibiyotik duyarlılıkları incelendi (6).

Mikrobiyolojik analizler; İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda yapıldı.

3.2.2.7. Sütlerde Elektriksel İletkenliğin Ölçülmesi

Sütlerin elektrik iletkenliği A1 ve A2 gruplarında 0, 9, 15 ve 30. günlerde, B1, B2 ve B3 gruplarından 0, 9 ve 15. günlerde alınan taze sütlerde, süt analiz cihazı (Lactostav Milk Analyzer, Funke Gerber) ile ölçüldü.

3.2.2.8. İstatistiksel Yöntemler

CMT sonuçlarının karşılaştırılmasında Ki-kare (χ^2) testi kullanıldı. CMT (-) olan A gruplarının karşılaştırılmasında t- testi, CMT (+) olan B gruplarının karşılaştırılmasında Oneway ANOVA testi uygulandı. Gruplar arası önemlilik kontrolünde Duncan testi kullanıldı. Analizlerin yapılmasında SPSS 13.0 paket programından yararlanıldı.

İstatistiksel çalışmalar İstanbul Üniversitesi Zootekni Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.2.3. Etik Kurul Onayı

Bu çalışma için gerekli olan etik kurul onayı İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 18.11.2015 tarihinde 2015/99 sayı numarası ile alındı.

4. BULGULAR

Çalışma programına uygun şekilde, A1, A2 ve B1, B2, B3 grupları olmak üzere toplam 150 ineğin 150 meme lobundan toplanan süt numunelerinden yapılan testlerden elde edilen bulgular derlendi.

4.1. California Mastitis Testi Skoru Bulguları

4.1.1. CMT (-) A Grubu İneklerde CMT Skoru Bulguları

A1 deney grubu ve A2 kontrol grubu için, CMT skoru 0 ve şüpheli olan inekler seçildi. Buna göre seçilen inek ve meme loblarından çalışma süresince 0, 9, 15 ve 30. günlerde alınan süt örneklerinin CMT skorları saptandı. Buna göre sonuçlar tablo haline getirilerek ortalamaları alındı (Tablo 4-1).

Tablo 4-1: A Grupları California Mastitis Test Skoru Oranları

		CMT skoru											
		0		Şüpheli		+1		+2		+3		Toplam	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
A1 deney grubu	0.gün	18	60	12	40	0	0	0	0	0	0	30	100
	9. gün	21	70	9	30	0	0	0	0	0	0	30	100
	15. gün	22	73,3	8	26,7	0	0	0	0	0	0	30	100
	30. gün	23	77,3	4	13,3	3	10	0	0	0	0	30	100
A2 kontrol grubu	0.gün	20	66,6	10	33,3	0	0	0	0	0	0	30	100
	9. gün	18	60	8	26,6	2	6,7	2	6,7	0	0	30	100
	15. gün	14	46,6	11	36,7	2	6,7	3	10	0	0	30	100
	30. gün	13	43,3	12	40	2	6,7	3	10	0	0	30	100

A gruplarında yapılan CMT sonuçlarına göre; 0. günde A1 grubunda %60 (18/30) oranında CMT (0), %40 oranında (12/30) CMT (şüpheli), A2 grubunda %66,6

(20/30) oranında CMT (0), %33,3 (10/30) oranında CMT (şüpheli) tespit edildi (Tablo 4-1).

Dokuzuncu günde A1 grubunda %70 (21/30) oranında CMT (0), %30 oranında (9/30) CMT (şüpheli), A2 grubunda %60 (18/30) oranında CMT (0), %26,6 (8/30) oranında CMT (şüpheli), %6,7 (2/30) oranında CMT (+1), %6,7 (2/30) oranında CMT (+2) tespit edildi (Tablo 4-1).

Onbeşinci günde A1 grubunda %73,3 (22/30) oranında CMT (0), %26,7 oranında (8/30) CMT (şüpheli), A2 grubunda %46,6 (14/30) oranında CMT (0), %36,7 (11/30) oranında CMT (şüpheli), %6,7 (2/30) oranında CMT (+1), %3 (10/30) oranında CMT (+2) tespit edildi (Tablo 4-1).

Otuzuncu günde A1 grubunda %77,3 (23/30) oranında CMT (0), %13,3 oranında (4/30) CMT (şüpheli), %10 (3/30) oranında CMT (+1), A2 grubunda %43,3 (13/30) oranında CMT (0), %40 (12/30) oranında CMT (şüpheli), %6,7 (2/30) oranında CMT (+1), %10 (3/30) oranında CMT (+2) tespit edildi (Tablo 4-1).

Tablo 4-2: A Grupları California Mastitis Test Skorları Sayısal Dağılımları

	CMT skoru (n)										P
	A1 Grubu					A2 Kontrol Grubu					
	0	Şüpheli	+1	+2	+3	0	Şüpheli	+1	+2	+3	
0.gün	18	12	0	0	0	20	10	0	0	0	ÖD
9.gün	21	9	0	0	0	18	8	2	2	0	ÖD
15.gün	22	8	0	0	0	14	11	2	3	0	ÖD
30.gün	23 ^a	4 ^x	3	0	0	13 ^b	12 ^y	2	3	0	**

ÖD (önemli değil): $P > 0,05$

** : $P < 0,01$

A1 ve A2 gruplarında, 0. 9. ve 15. gün yapılan CMT sonuçlarına göre gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmadı ($P > 0,05$). Otuzuncu gün yapılan karşılaştırmalara göre ise CMT (0) ve CMT (şüpheli) sonuçları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($P < 0,01$) (Tablo 4-2).

4.1.2. CMT (+) B Grubu İneklerde California Mastitis Test Skoru Bulguları

B1, B2 ve B3 grupları için, CMT skoru (+1), (+2) ve (+3) olan inekler seçildi. Buna göre seçilen inek ve meme loblarından 0, 9 ve 15. günlerde toplanan süt örneklerinin CMT skorları saptandı. Sonuçlar tablo haline getirilerek ortalamaları alındı (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: B Grupları CMT Skoru Oranları

		CMT skoru											
		0		Şüpheli		+1		+2		+3		Toplam	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
B1 Grubu	0.gün	0	0	0	0	19	63,4	10	33,3	1	3,3	30	100
	9. gün	2	6,7	11	36,7	7	23,3	10	33,3	0	0	30	100
	15.gün	7	23,3	6	20	4	13,3	11	36,7	2	6,7	30	100
B2 Grubu	0.gün	0	0	0	0	10	33,3	19	63,4	1	3,3	30	100
	9. gün	2	6,7	12	40	7	23,3	8	26,7	1	3,3	30	100
	15.gün	6	20	15	50	3	10	4	13,3	2	6,7	30	100
B3 Grubu	0.gün	0	0	0	0	16	53,3	14	46,7	0	0	30	100
	9. gün	1	3,3	11	36,7	9	30	6	20	3	10	30	100
	15. gün	4	13,3	12	40	2	6,7	12	40	0	0	30	100

B gruplarında yapılan CMT sonuçlarına göre; sütler; 0. günde B1 grubunda %63,4 (19/30) oranında CMT (+1), %33,3 oranında (10/30) CMT (+2), %3,3 (1/30) oranında CMT (+3), B2 grubunda %33,3 (10/30) oranında CMT (+1), %63,4 oranında (19/30) CMT (+2), %3,3 (1/30) oranında CMT (+3), B3 grubunda %53,3 (16/30) oranında CMT (+1), %46,7 oranında (14/30) CMT (+2) tespit edildi (Tablo 4-3).

Dokuzuncu günde B1 grubunda %6,7 (2/30) oranında CMT (0), %36,7 (11/30) oranında CMT (şüpheli), %23,3 (7/30) oranında CMT (+1), %33,3 oranında (10/30) CMT (+2), B2 grubunda %6,7 (2/30) oranında CMT (0), %40 (12/30) oranında CMT (şüpheli), %23,3 (7/30) oranında CMT (+1), %26,7 (8/30) oranında CMT (+2), %3,3 (1/30) oranında CMT (+3), B3 grubunda %3,3 (1/30) oranında CMT (0), %36,7 (11/30)

oranında CMT (şüpheli), %30 (9/30) oranında CMT (+1), %20 (6/30) oranında CMT (+2), %10 (3/30) oranında CMT (+3) tespit edildi (Tablo 4-3).

Onbeşinci günde B1 grubunda %23,3 (7/30) oranında CMT (0), %20 (6/30) oranında CMT (şüpheli), %13,3 (4/30) oranında CMT (+1), %36,7 oranında (11/30) CMT (+2), %6,7 (2/30) oranında CMT (+3), B2 grubunda %20 (6/30) oranında CMT (0), %50 (15/30) oranında CMT (şüpheli), %10 (3/30) oranında CMT (+1), %13,3 (4/30) oranında CMT (+2), %6,7 (2/30) oranında CMT (+3), B3 grubunda %13,3 (4/30) oranında CMT (0), %40 (12/30) oranında CMT (şüpheli), %6,7 (2/30) oranında CMT (+1), %40 (12/30) oranında CMT (+2) tespit edildi (Tablo 4-3).

Tablo 4-4: B Grupları California Mastitis Test Skorları Sayısal Dağılımları

	CMT Skoru (n)															P
	B1 Grubu					B2 Grubu					B3 Grubu					
	0	Şüpheli	+1	+2	+3	0	Şüpheli	+1	+2	+3	0	Şüpheli	+1	+2	+3	
0.gün	0	0	19	10	1	0	0	10	19	1	0	0	16	14	0	ÖD
9.gün	2	11	7	10	0	2	12	7	8	1	1	11	9	6	3	ÖD
15.gün	7	6	4	11	2	6	15	3	4	2	4	12	2	12	0	ÖD

ÖD: $P > 0,05$

B gruplarında, CMT sonuçlarına göre, gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmadı ($P > 0,05$) (Tablo 4-4).

4.2. Somatik Hücre Sayısı Bulguları

4.2.1. CMT (-) A Grubu İneklerde Somatik Hücre Sayısı Bulguları

Tablo 4-5: A Grupları Somatik Hücre Sayısı Ortalamaları

		A1 (Deney Grubu)		A2 (Kontrol Grubu)		P
		n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	
S H S	0. gün	30	67,47 $\pm$ 11,12	30	65,67 $\pm$ 10,18	(ÖD)
	9. gün	30	62,73 $\pm$ 9,34	30	153,70 $\pm$ 9,34	(ÖD)
	15. gün	30	60,17 $\pm$ 10,88	30	248,93 $\pm$ 81,77	(**)
	30. gün	30	64,47 $\pm$ 18,59	30	315,67 $\pm$ 104,54	(**)

ÖD: $P > 0,05$

** : $P < 0,01$

Çalışmamızda A1 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin SHS sonuçları sırasıyla 0. gün 67,47 $\pm$ 11,12; 9. gün 62,73 $\pm$ 9,34; 15. gün 60,17 $\pm$ 10,88 olarak tespit edilmiştir. Otuzuncu gün SHS sonuçları ise 64,47 $\pm$ 18,59 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4-5).

A2 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin SHS sonuçları sırasıyla 0. gün 65,67 $\pm$ 10,18; 9. gün 153,70 $\pm$ 9,34; 15. gün 248,93 $\pm$ 81,77 olarak tespit edilmiştir. Otuzuncu gün SHS sonuçları ise 315,67 $\pm$ 104,54 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4-5).

A1 ve A2 gruplarında SHS sonuçlarına göre yapılan istatistik analiz çalışmalarında 0. ve 9. gün gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmadı ($P > 0,05$). On beş ve 30. günlerde SHS sonuçlarına göre ise gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($P < 0,01$) (Tablo 4-5).

4.2.2. CMT (+) B Grubu İneklerde Somatik Hücre Sayısı Bulguları

Tablo 4-6: B Grupları Somatik Hücre Sayısı Ortalamaları

		B1 Grubu		B2 Grubu		B3 Grubu		P
		n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	
S	0. gün	30	1169 $\pm$ 182	30	1306 $\pm$ 137	30	939 $\pm$ 111	(ÖD)
H	9. gün	30	787 $\pm$ 140	30	704 $\pm$ 138	30	924 $\pm$ 181	(ÖD)
S	15. gün	30	947 $\pm$ 167	30	513 $\pm$ 137	30	738 $\pm$ 143	(ÖD)

ÖD: $P > 0,05$

Çalışmamızda B1 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin SHS sonuçları sırasıyla 0. gün 1169 $\pm$ 182,12; 9. gün 787 $\pm$ 140; 15. gün 947 $\pm$ 167 olarak tespit edildi (Tablo 4-6).

B2 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin SHS sonuçları sırasıyla 0. gün 1306 $\pm$ 137,12; 9. gün 704 $\pm$ 138; 15. gün 513 $\pm$ 137 olarak tespit edildi (Tablo 4-6).

B3 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin SHS sonuçları sırasıyla 0. gün 939 $\pm$ 111; 9. gün 924 $\pm$ 181 ; 15. gün 738 $\pm$ 143 olarak tespit edildi (Tablo 4-6).

B grupları arasında SHS analiz sonuçları karşılaştırıldığında gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmadı ($P > 0,05$) (Tablo 4-6).

4.3. Elektiriksel İletkenlik Bulguları

4.3.1. CMT (-) A Grubu İneklerde Elektrik İletkenliği Bulguları

California Mastitis Test (-) A grubu ineklerden alınan süt numunelerinde 0, 9, 15 ve 30. günler Eİ ölçülerek kayıt altına alındı. Tabloda ortalama ve standart hataları belirtildi (Tablo 4-7).

Tablo 4-7: A Gruplarının Elektrik İletkenliği Bulguları

		A1 (Deney Grubu)		A2 (Kontrol Grubu)		P
		n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	
Eİ	0. gün	30	2,84 $\pm$ 0,065	30	2,66 $\pm$ 0,055	*
	9. gün	30	2,84 $\pm$ 0,065	30	2,65 $\pm$ 0,057	ÖD
	15. gün	30	2,80 $\pm$ 0,067	30	2,67 $\pm$ 0,061	ÖD
	30. gün	30	2,79 $\pm$ 0,069	30	2,67 $\pm$ 0,055	ÖD

ÖD: P> 0,05

*: P< 0,05

Çalışmamızda A1 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin Eİ sonuçları sırasıyla 0. gün 2,84 $\pm$ 0,065; 9. gün 2,84 $\pm$ 0,065; 15. gün 2,80 $\pm$ 0,067; 30. gün 2,79 $\pm$ 0,069 olarak tespit edildi (Tablo 4-7).

A2 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin Eİ sonuçları sırasıyla 0. gün 2,66 $\pm$ 0,055; 9. gün 2,65 $\pm$ 0,057; 15. gün 2,67 $\pm$ 0,061; 30. gün 2,67 $\pm$ 0,055 olarak tespit edildi (Tablo 4-7).

A grupları arasındaki Eİ sonuçları karşılaştırıldığında 0. gün önemli fark görüldü (P< 0,05). Ancak gruplar rastgele seçildiği için fark dikkate alınmadı. Diğer günler ve gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmadı (P>0,05) (Tablo 4-7).

4.3.2. CMT (+) B Grubu İneklerde Elektrik İletkenliği Bulguları

CMT (+) B grubu ineklerden alınan süt numunelerinde 0, 9 ve 15. günler Eİ ölçülerek kayıt altına alındı. Tabloda ortalama ve standart hataları belirtildi (Tablo 4-8).

Tablo 4-8: B Gruplarının Elektrik İletkenliği Bulguları

		B1 Grubu		B2 Grubu		B3 Grubu		P
		n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	n	Ortalama değer ($\pm$ Std. hata)	
Eİ	0. gün	30	3,95 ^b $\pm$ 0,097	30	4,05 ^b $\pm$ 0,114	30	4,45 ^a $\pm$ 0,104	**
	9. gün	30	3,84 ^b $\pm$ 0,096	30	3,97 ^b $\pm$ 0,115	30	4,39 ^a $\pm$ 0,112	***
	15. gün	30	3,86 ^b $\pm$ 0,094	30	3,94 ^b $\pm$ 0,106	30	4,35 ^a $\pm$ 0,118	**

**: P < 0,01

***: P < 0,001

Çalışmamızda B1 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin Eİ sonuçları sırasıyla 0. gün $3,95^b \pm 0,097$; 9. gün $3,84^b \pm 0,096$; 15. gün $3,86^b \pm 0,094$ olarak tespit edildi (Tablo 4-8).

B2 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin Eİ sonuçları sırasıyla 0. gün $4,05^b \pm 0,114$; 9. gün $3,97^b \pm 0,115$; 15. gün $3,94^b \pm 0,106$ olarak tespit edildi (Tablo 4-8).

B3 grubu ineklerden toplanan süt örneklerinin Eİ sonuçları sırasıyla 0. Gün $4,45^a \pm 0,104$; 9. gün $4,39^a \pm 0,112$; 15. gün $4,35^a \pm 0,118$ olarak tespit edildi (Tablo 4-8).

B grupları arasındaki Eİ sonuçları karşılaştırıldığında 9. gün B3 grubu ile diğer gruplar arasında istatistiki açıdan önemli fark bulundu ($P < 0,001$). Onbeş gün B3 grubu ile diğer gruplar arasında istatistiki açıdan önemli fark bulundu ($P < 0,01$) (Tablo 4-8).

4.4. Mikrobiyolojik Analiz Bulguları

B grupları CMT (+) olan 90 adet inekten aseptik şartlar altında toplanan süt numunelerinden yapılan bakteri identifikasyonu (Tablo 4-10)' da gösterildi. Ayrıca bakterilere karşı antibiyotik duyarlılık testi (ADT) yapıldı. Testte ampisilin, ampisilin/sulbaktam, amoksisilin, amoksisilin/klavulonik asit, sefoperazon, seftiofur, enrofloksasin, eritromisin, gentamisin, streptomisin ve tetrasikline karşı direnç (R) ve duyarlılık (S) bakıldı. Buna göre antibiyotiklere karşı oluşturulan direnç ve duyarlılık oranları tablo haline getirildi (Tablo 4-9). A grupları subklinik mastitis açısından negatif olduğu için mikrobiyolojik yönden değerlendirilmedi.

Tablo 4-9: Antibiyotik Duyarlılık Test Sonuçları

Antibiyotik	B1		B2		B3		Toplam		Oran	
	n		n		n		n		%	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
Ampisilin	25	5	17	13	16	14	58	32	%64	%36
Ampisilin/Sulbaktam	3	27	3	27	5	25	11	79	%12	%88
Amoksisilin	20	10	11	19	13	17	44	46	%49	%51
Amoksisilin/Klavulonik Asit	19	11	8	22	8	22	35	55	%39	%61
Sefaperazon	4	26	5	25	1	29	10	80	%11	%89
Seftiofur	15	15	12	18	10	20	37	53	%41	%59
Enroflaksasin	7	23	8	22	11	19	26	64	%29	%71
Eritromisin	23	7	11	19	13	17	47	43	%52	%48
Gentamisin	14	16	11	19	11	19	36	54	%40	%60
Streptomisin	19	11	12	18	11	19	42	48	%47	%53
Tetrasiklin	20	10	17	13	21	9	58	32	%64	%36

R: Dirençli

S: Duyarlı

B gruplarındaki 90 adet CMT (+) inekten alınan süt numuneleri üzerinde yapılan ADT sonucuna göre; hayvanlar ampisiline karşı %64 oranında dirençli, %36 oranında duyarlı, ampisilin/sulbaktama karşı %12 oranında dirençli, %88 oranında duyarlı, amoksisiline karşı %49 oranında dirençli, %51 oranında duyarlı, amoksisilin/klavulanik asite karşı %39 oranında dirençli, %51 oranında duyarlı, sefaperazona karşı %11 oranında dirençli, %89 oranında duyarlı, seftiofura karşı %41 oranında dirençli, %59 oranında duyarlı, enroflaksasine karşı %29 oranında dirençli, %71 oranında duyarlı, gentamisine karşı %40 oranında dirençli, %60 oranında duyarlı, streptomisine %47 oranında dirençli, %53 oranında duyarlı ve tetrasikline karşı %64 oranında dirençli, %36 oranında duyarlı olduğu tespit edildi. İdentifikasyonu yapılan bakterilerin en çok duyarlı olduğu antibiyotiklerin sırasıyla; sefaperazon, ampisilin/sulbaktam, ve enroflaksasin olduğu görüldü (Tablo 4-9).

Tablo 4-10: İzole Edilen Bakterilerin Oranları

İzole Edilen Mikroorganizma	B1 (n)	B2 (n)	B3 (n)	Toplam	Oran
-----------------------------	--------	--------	--------	--------	------

				(n)	%
<i>Corynebacterium</i> spp.	1	–	1	2	%2
<i>Escherichia coli</i>	13	3	1	17	%19
<i>Escherichia coli</i> - <i>Staphylococcus warneri</i>	–	–	1	1	%1
<i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	1	–	1	%1
<i>Escherichia coli</i> - <i>Staphylococcus auricularis</i>	–	–	1	1	%1
<i>Escherichia coli</i> - <i>Staphylococcus hominis</i>	–	1	1	2	%2
<i>Escherichia coli</i> - <i>Staphylococcus</i> spp.	1	1	–	2	%2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–	1	–	1	%1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Escherichia coli</i>	–	1	–	1	%1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Staphylococcus sciuri</i>	–	2	–	2	%2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> - <i>Staphylococcus</i> spp.	2	–	–	2	%2
<i>Malassezia</i> spp. - <i>Escherichia coli</i>	–	–	1	1	%1
<i>Malassezia</i> spp. - <i>Proteus</i> spp.	–	1	1	2	%2
<i>Proteus</i> spp. - <i>Escherichia coli</i>	–	–	1	1	%1
<i>Staphylococcus auricularis</i> - <i>Streptococcus pyogenes</i>	–	1	1	2	%2
<i>Staphylococcus capitis</i>	–	1	–	1	%1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	–	–	1	1	%1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> - <i>Staphylococcus</i> spp.	–	1	1	2	%2
<i>Staphylococcus hyicus</i>	–	1	–	1	%1
<i>Staphylococcus hyicus</i> - <i>Staphylococcus caseolyticus</i>	–	1	–	1	%1
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	–	–	1	1	%1
<i>Staphylococcus sciuri</i>	–	–	1	1	%1
<i>Staphylococcus sciuri</i> - <i>Staphylococcus xylosus</i>	–	1	–	1	%1
<i>Staphylococcus</i> spp.	3	3	10	16	%18
<i>Staphylococcus</i> spp. - <i>Streptococcus agalactiae</i>	2	1	–	3	%3
<i>Staphylococcus warneri</i> - <i>Staphylococcus</i> spp.	–	2	1	3	%3
<i>Staphylococcus xylosus</i>	–	2	4	6	%7
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	–	2	–	2	%2
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> - <i>Staphylococcus auricularis</i>	–	–	1	1	%1
<i>Streptococcus</i> spp.	–	–	1	1	%1
<i>Streptococcus uberis</i>	3	2	–	5	%6
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	1	–	3	%3
<i>Streptococcus agalactiae</i> - <i>Escherichia coli</i>	3	–	–	3	%3

B gruplarında yapılan mikrobiyolojik izolasyon ve identifikasyon sonuçlarına göre tek başına en çok üreyen mikroorganizmalar %19 oranında *Escherichia coli*, %7 oranında *Staphylococcus xylosus* ve %6 oranında *Streptococcus uberis* olarak tespit edildi. Yapılan ekimler sonucuna göre Stafilocoklar tüm bakterilerin %46'sını, *Escherichia coli* %33'ünü ve Streptokoklar %21'ini oluşturdu. İdentifikasyon sonuçlarına göre tek bir mikroorganizmanın ürediğı besiyeri %64 iken, iki mikroorganizmanın ürediğı besiyeri %36 olarak tespit edildi (Tablo 4-10).



5. TARTIŞMA

Veteriner hekimliği alanında radikal tedaviye ek olarak, iyileşme süresini hızlandırmak, uygulanan tedavinin etkinliğini arttırmak ve hayvanı hastalıktan korumak amacıyla çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır (14, 25, 26, 108, 120). Son yıllarda mastitisten korunmak amacıyla ve etkin tedavi için immunstimulan etkileri olan ilaçlar ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır (14, 25, 108).

İnaktif *Parapoxvirus ovis* D1701 suşu içeren ticari preparat, nonspesifik bağışıklığı uyarıcı özellikte olup, enfeksiyöz hastalıklara karşı doğal bağışıklığı stimüle eder. İnaktif *Parapoxvirus ovis* paramünite aktivatörü, lenfositlerin proliferasyonunu stimüle eder, lenfositlerden interferonların ve interlekinlerin salınımını artırır. İPPVO'nun enfeksiyöz hastalıklara yol açan mikroorganizmaların hücreye bağlanmasında, immun sistemde yer alan hücrelerin aktivasyonunda, hücreler arası haberleşmede, hücre tanımlanmasında ve antioksidan seviyelerinin düşürülmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (1, 38, 44, 59, 96, 115). Ayrıca İPPVO, immunmodülasyon amacıyla çeşitli hayvanlarda kullanılmış; inek, kedi, köpek, at, fare ve kedi balıklarında bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkileri tespit edilmiştir (25). Bunun yanında İPPVO'nun immunstimulan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, ajanın interferon salınımını uyardığı, etkisinin üç hafta sürebileceği ve meme bağışıklık sistemini de uyurabileceği bildirilmiştir (121). Bu nedenle İPPVO'nun subklinik mastitislerin tedavisinde antibiyotik ile birlikte kullanıldığında tedaviyi olumlu yönde etkileyeceği ve subklinik mastitisten korunma sağlayacağı düşünülerek bu çalışma planlandı. Çalışma iki bölümde yürütüldü. Birinci bölümde A1 ve A2 gruplarına İPPVO D1701 suşu uygulanarak, ajanın mastitis profilaksisindeki etkileri araştırıldı. İkinci bölümde ise B1, B2 ve B3 gruplarına İPPVO D1701 suşu uygulanarak, ajanın subklinik mastitis tedavisindeki etkileri araştırıldı. Bunun için hayvanlardan toplanan süt numunelerinde CMT skorları, SHS verileri ve Eİ sonuçları değerlendirildi.

A1 ve A2 gruplarında, 0. 9. ve 15. gün yapılan CMT sonuçlarına göre gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmazken ($P>0,05$), otuzuncu gün yapılan karşılaştırmalara göre CMT (0) ve CMT (şüpheli) sonuçları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($P<0,01$). Sütte enfeksiyon varlığında artan hücrelerin, parçalanarak açığa çıkan DNA ve RNA'nın jelatinöz hale geçmesi CMT skorunu

arttırmaktadır, CMT'in artması enfeksiyonun belirticidir (4, 13, 56, 81). Dokuzuncu ve 15. günler her iki grupta da CMT sonuçları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemsiz oluşu enfeksiyon etkeni ile karşılaşılmadığını ya da karşılaşılsa bile koruma sağlandığını düşündürürdü. 30. gün iki grup arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli bulunması A1 grubunda İPPVO'in profilaktik etki göstermesine bağlandı.

A grupları SHS sonuçlarına göre 0. ve 9. gün gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmazken ($P>0,05$), 15 ve 30. günlerdeki fark, istatistiksel açıdan önemli bulundu ($P<0,01$). Bakteriyel mastitislerde sütteki SHS'nın birkaç saat içinde ml'de 1 milyona ulaşabildiği bildirilmiştir (102, 105). Buna göre 9. gün istatistiksel farkın önemsiz bulunması, enfeksiyon etkeni ile karşılaşılmadığını ya da korunma sağlandığını gösterirken, 15 ve 30. günlerdeki A2 grubundaki SHS artışı, memede enfeksiyon oluşumunu gösterdi. Buna göre her iki grup arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli bulunmasının A1 grubunda kullanılan İPPVO'in profilaktik etkisi sayesinde olabileceği yorumlandı. SHS sonuçları, CMT sonuçları ile paralellik göstererek 30. gün bulguları birbirini doğruladı.

A grupları arasında Eİ sonuçları değerlendirildiğinde gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmadı ($P>0,05$). Sütün Eİ sonuçlarının, özellikle subklinik mastitis teşhisinde tek başına değerlendirilmesinin şüpheli olduğu bildirilmiştir (111). Bu nedenle çalışmamızda da sadece Eİ sonuçlarına bakılarak subklinik mastitis teşhisi konulmayarak, diğer ileri analiz metotları ile birlikte değerlendirilmeye alındı.

İşcan (1993), Philpot ve Nickerson (2000) CMT sonuçları ve SHS sonuçlarının birbiriyle örtüşebileceğini ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da, A grupları arasındaki verilerin karşılaştırılmasına göre; CMT skorları ile SHS verileri arasında paralellik olduğu görüldü. Bu durum, elde edilen verilerin, mastitis teşhisinde ve takibinde güvenli olarak yorumlanabileceğini gösterdi.

A gruplarında, SHS ve CMT skoru ile Eİ sonuçları birlikte değerlendirildiğinde; Eİ sonuçları arasında uyumsuzluk tespit edildi. Eİ değerleri, sütteki Na^+ ve Cl^- oranının artmasına bağlı olarak iletkenliğin artışı olarak açıklanmıştır (4, 8, 12, 48, 56). Küplülü ve ark.'nın (1995) yaptığı çalışmaya göre CMT sonuçları ve Eİ sonuçları paralellik gösterirken, Timurkan (2014) araştırmasına göre; CMT ve Eİ sonuçlarının uyumsuz olduğunu belirtmiş ve tek başına Eİ sonuçlarının subklinik mastitis teşhisinde

kullanılmasının şüpheli olduğunu ifade etmiştir. Çalışmamızda Eİ değerleri ile CMT ve SHS değerleri arasındaki uyumsuzluk Timurkan (2014)'ın çalışmasıyla benzerdi ve bizim çalışmamızda da Eİ değerlerinin, mastitis teşhisine gidebilmek ve İPPVO'nin etkinliğinin araştırılması için tek başına yetersiz olduğu kanaatine varıldı.

B gruplarında mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre; 90 adet subklinik mastitisli hayvanda, 22 farklı türde bakteri tespit edildi. Farklı çalışmalarda da mastitisin oluşmasında çok sayıda mikroorganizmanın etkili olduğu ifade edilmiştir (9, 13, 57, 88). Çalışmamızda en çok üreyen bakteriler sırasıyla; %46 ile *Stafilokoklar*, %33 ile *Escherichia* ve %21 oranında *Streptokoklar* olarak tespit edildi. Tür bazında en çok tespit edilen bakteriler ise sırasıyla; *Escherichia coli*, *Staphylococcus xylosus* ve *Streptococcus uberis* olarak belirlendi. Mastitisli sütlerden en sık izole edilen bakteriler sırasıyla; Aydın (1995)'in yaptığı çalışmaya göre; *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactia*, *Streptococcus uberis*, Batu (1991) *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactia* olarak, Rişvanlı (2001) yaptıkları çalışmada *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve mayalar olarak belirtilmişlerdir. Çalışmamızla diğer çalışmalar arasındaki farkın, bölgesel koşullardan kaynaklanabileceği düşünüldü. Çalışmamızda bakterilerin en çok duyarlı olduğu antibiyotikler ise sırasıyla; sefaperazon, ampisilin/sulbaktam, ve enroflaksasin olarak belirlendi.

B grupları arasındaki CMT sonuçları değerlendirildiğinde; gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadı ($P>0,05$). Fark bulunamamış olması antibiyotik kullanılmayan B1 grubunda İPPVO'nin antibiyotikler kadar etkili olabileceğini düşündürdü. Ancak bu sonuç İPPVO'ü antibiyotikler kadar değerli kılamaz. Çünkü çalışmamızda, CMT skorunu destekleyecek bakteriyolojik iyileşme sonuçları bulunmamaktadır.

B grupları arasında SHS sonuçlarına göre değerlendirme yapıldığında; 0, 9 ve 15. günlerde, gruplar arası istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadı ($P>0,05$). SHS ve CMT skorlarına göre İPPVO uygulanması sonucu B2 ve B3 grupları arası istatistiksel fark olmaması İPPVO kullanımının subklinik mastitis sağaltımında, antibiyotik ile birlikte kullanıldığında etkisiz olduğunu gösterdi. Ancak B2 ve B3 grubu ile B1 grubu arasında istatistiksel fark olmaması İPPVO'nin tek başına kullanıldığında antibiyotiklerin yerine kullanılabileceği ve antibiyotikler kadar tedavi etme özelliği olduğu düşüncesini

oluşturdu. Ancak bir memenin mastitis yönünden tedavi edilmiş olması, mikrobiyolojik iyileşmenin de olmasını gerektirir (8, 46, 122). Bu nedenle sadece CMT ve SHS bulguları göz önünde bulundurularak, mastitisin iyileşmesi tespit edilemez.

B grupları arasındaki Eİ sonuçları karşılaştırıldığında, 9. gün B3 grubu ile diğer gruplar arasında istatistiki açıdan önemli fark bulundu ($P<0,001$). On beşinci gün B3 grubu ile diğer gruplar arasında istatistiki açıdan önemli fark bulundu ($P<0,01$). İPPVO uygulamalarının çeşitli hayvanlarda yangı belirtilerini azalttığı ve hasta hayvanların daha kısa sürede iyileşmesini sağladığı bildirilmiştir (25). Mastitislerde yangı nedeniyle artan damar geçirgenliği ve buna bağlı olarak sütte Na^+ ve Cl^- artışını takiben iletkenlik artışı olmaktadır (4, 8, 12, 48, 56). B1 ve B2 grubunda İPPVO kullanıldığı için yangının gerilediği, B3 grubunda ise İPPVO kullanılmadığı için yangının gerilemediği ve damar geçirgenliğinin devam ederek Eİ değerlerinde artışa sebep olup istatistiki farka neden olduğu yorumlandı. Ancak yalnızca Eİ değerleri sonuçlarının mastitis değerlendirilmesinde kullanılmasının şüpheli olduğu da ifade edilmiştir (4, 111).

B gruplarında; CMT skorları ile SHS sonuçlarının birbirine paralel olduğu görüldü. Farklı çalışmalar da CMT sonuçları ve SHS sonuçlarının birbiriyle örtüşebileceğini ifade edilmiştir (4, 56, 81). B gruplarında, SHS ve CMT skoru ile Eİ sonuçları birlikte değerlendirildiğinde; sonuçlar arasında uyumsuzluk tespit edildi. Çalışmamızda bu uyumsuzluğun nedeninin, Eİ değerleriyle mastitis yorumlanmasının güvenilir olmamasından kaynaklandığı düşünüldü. Benzer uyumsuzluk; Timurkan'ın (2014) yaptığı çalışmaya göre, Eİ değerlerinin mastitis konusunda yorum yapabilmek için yetersiz olduğu ile açıklanmıştır .

Bu çalışma; bağışıklık desteklenerek, subklinik mastitisten korunmak ve subklinik mastitis tedavisinde başarıyı arttırmak amacıyla yapıldı.

Sonuç olarak; subklinik mastitis tedavisinde İPPVO D1701 suşunun, antibiyotik kullanımına ek olarak uygulandığında etkisiz olduğu ve antibiyotik yerine kullanılabilme ihtimalinin olduğu ancak çalışmamızda mikrobiyolojik iyileşme sonuçları ile birlikte değerlendirilmediğinden bu ihtimalin farklı çalışmalarla desteklenmesi gerektiği anlaşıldı. Subklinik mastitisten korunmak için ise İPPVO'nun kullanılabilmesi kanaatine varıldı. İPPVO tarafından oluşturulan profilaksinin ne kadar süre devam edeceği ve etkili olacağı bilinemediğinden daha uzun süreli çalışmaların yapılması gerekliliği açığa çıktı. İmmun aktivatörlerin maliyetleri ile mastitis olan

hayvanların tedavi maliyetleri ve verim kaybı kıyaslandığında uzun vadede ekonomik kayıpların yaşanmaması için hayvanın, birkaç laktasyon süresi boyunca izlenmesi gerektiği düşünöldü. Gelecekte mastitis kontrol programlarında yer verilebileceği düşünölen immunmodölatör ilaçların, süt sığırcılığında gelişime açık olduğu fikri gelişti.



KAYNAKLAR

1. Abu-El-Saad AA, Abdel-Moneim AS. Modulation of macrophage functions by *sheeppox virus* provides clues to understand interaction of the virus with host immune system. *Virol J* 2005; **2** (1): 22.
2. Ai-Jabri AA. Honey, milk and antibiotics. *AJB* 2005; **4** (13): 1580-1587.
3. Ai-Qumber M, Tagg JR. Commensal bacilli inhibitory to mastitis pathogens isolated from the udder microbiota of healthy cows. *J Appl Microbiol* 2006; **101**: 1152-1160.
4. Alaçam E. Meme Hastalıkları. İçinde Editörler: Alaçam E, Şahal M, editörler. *Sığır Hastalıkları*. Ankara: Medisan; 1997. pp. 389-420.
5. Anaya-Loper JL, Contreras-Guzman OE, Carabez-Trejo A., Baizabal-Aguirre VM, Lopez-Meza JE, Valdez-Alarcon JJ, Ochoa-Zarzosa A. Invasive potential of bacterial isolates associated with subclinical bovine mastitis. *Res Vet Sci* 2006; **81** (3): 358-361.
6. Apley M, Bade DJ, Brown SD, Gray JT, Heine H, Hunter RP, Mevius DJ, Papich MG, Silley P, Zurenko GE. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard-third edition. *CLSI Document* 2008; **28** (8): 1-73
7. Arda M, Minbay A, Leloğlu N, Aydın N, Kahraman M, Akay Ö, Ilgaz A, İzgür M, Diker KS, editörler. *Özel Mikrobiyoloji*. Ankara: Medisan; 1997.
8. Atasever S, Erdem H. Süt sığırlarında mastitis ile sütün elektriksel iletkenliği arasındaki ilişkiler. *Anadolu J Agr Sci* 2008; **23** (2): 131-136.
9. Aydın F, Leloğlu N, Şahin M, Çolak A, Otlı S. Kars yöresi süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitislere neden olan mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine araştırmalar. *Pendik Vet Mikrobiyol Derg* 1995; **26**: 55-65.
10. Barber MR, Yang TJ. Chemotactic activities in nonmastitic and mastitic mammary secretions: presence of interleukin-8 in mastitic but not nonmastitic secretions. *Clin Vaccine Immunol* 1998; **5** (1): 82-86.

11. Barkema HW, Schukken YH, Lam TJGM, Beiboer ML, Wilmink H, Benedictus G, Brand A. Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. *J Dairy Sci* 1998; **81**: 411-419.
12. Baştan A. *İneklerde Meme Hastalıkları*. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi; 2007.
13. Batu A. *Hayvanlarda Meme Hastalıkları ve Mastitis*. İstanbul: Kuşak Ofset; 1991.
14. Baydan E, Salmanoğlu B, Vural R, Öge H, Çakmak N. Subklinik Mastitisli İneklerde Levamizolün Bazı Kan Değerlerine Etkileri. *Turk Vet Hekim Derg* 1995; **8**: 53-62.
15. Benkerroum N, Mekkaoui M, Bennani N, Hidane K. Antimicrobial activity of camel's milk against pathogenic strains of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Int J Dairy Technol* 2004; **57 (1)**: 39-43.
16. Bishop JR, Bodine AB, Janzen JJ. Sensitivities to antibiotics and seasonal occurrence of mastitis pathogens. *J Dairy Sci* 1980; **63**: 1134-1137.
17. Blecha F. Cytokines: applications in domestic food animals. *J Dairy Sci* 1991; **74**: 328-339.
18. Blecha F. Immunomodulation: A Means of Disease Prevention in Stressed Livestock. *J Anim Sci* 1988; **66**: 2084-2090.
19. Bradley AJ, Green MJ. An investigation of the impact of intramammary antibiotic dry cow therapy on clinical coliform mastitis. *J Dairy Sci* 2001; **84**: 1632-1639.
20. Bradley AJ. Immunization against *E. coli* mastitis-a cost benefit analysis. The British Mastitis Conference, Garstang, 2001; 93.
21. Brightling P, Dyson RD, Hope AF, Penry J. A National Programme for mastitis control in Australia: Countdown Downunder. *Ir Vet J* 2009; **62 suppl**: 52-58.
22. Brock JH, Shell ED, Retter B. The effect of intramuscular and intramammary vaccination of cows on antibody levels and resistance to intramammary infection by *Staphylococcus aureus*. *Res Vet Sci* 1975; **19**: 152-158.
23. Burvenich C, Paape MJ, Hill AW, Miller RH, Heyneman R, Kremer WD, Brand A. Role of the neutrophil leucocyte in the local and systemic reactions during

- experimentally induced *E. coli* mastitis in cows immediately after calving. *Vet Q* 1994; **16 (11)**: 45-50.
24. Concha C. Cell types and their immunological functions in bovine mammary tissues and secretions-a review of the literature. *Nord Vet Med* 1986; **38 (5)**: 257-272.
25. Coşkun D. Veteriner Destek Tedavi: Tarantula Cubensis Alkolik Ekstraktı, *İnaktif Parapoxvirüs Ovis ve Corynebacterium Cutis* Lizatı. *Dicle Univ Vet Derg* 2017; **10 (1)**: 30-37.
26. Çalışkan Ç. (2010). Laktasyondaki İneklerde Nonrezidüel H₂O₂'nin İntrasisternal Uygulamasının Subklinik Mastitiste Sağaltıcı Etkinliği. Erişim tarihi: 10.09.2017, <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>, Doktora Tezi, Bursa, 1-126.
27. Detilleux JC, Koehler KJ, Freeman AE, Kehrlı ME, Kelley DH. Immunological parameters of periparturient Holstein cattle: genetic variation. *J Dairy Sci* 1994; **77**: 2640-2650.
28. Diker KS. *İmmunoloji*. Ankara: Medisan; 1998.
29. Djabri B, Bareille N, Beaudeau F, Seegers H. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Vet Res* 2002; **33**: 335-357.
30. Dohoo IR, Meek AH. Somatic cell counts in bovine milk. *Can Vet J* 1982; **23**: 119-125.
31. Dosogne H, Vangroenweghe F, Barrio B, Rainard P, Burvenich C. Decreased number and bactericidal activity against *Staphylococcus aureus* of the resident cells in milk of dairy cows during early lactation. *J Dairy Res* 2001; **68**: 539-549.
32. Drop Te VAN, Dekkers JCM, Martin SW, Noordhuizen JPTM. Genetic parameters of health disorders and relationships with 305 - day milk yield and conformation traits of registered Holstein cows. *J Dairy Sci* 1998; **81**: 2264-2270.
33. Duval J. *Treating mastitis without antibiotics [web page on the Internet]*. Erişim 10.02.2017, Food and Agriculture Organization of United Nations: <http://agris.fao.org/agris-search/serach.do?recordID=US201300152365> .

34. Emanuelson U, Danell B, Philipsson J. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell counts and milk production estimated by multiple-trait restricted maximum likelihood. *J Dairy Sci* 1988; **71**: 467-476.
35. Erskine RJ, Walker RD, Bolin CA, Bartlett PC, White DG. Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *J Dairy Sci* 2002; **85**: 1111-1118.
36. Fleischer P, Metzner M, Beyerbach M. The relationship between milk yield and the incidence of some disease in dairy cows. *J Dairy Sci* 2001; **84**: 2025-2035.
37. Fontaine MC, Perez-Casal J, Song XM, Shelford J, Willson PJ, Potter AA. Immunisation of dairy cattle with recombinant *Streptococcus uberis* GapC or a chimeric CAMP antigen confers protection against heterologous bacterial challenge. *Vaccine* 2002; **20**: 2278-2286.
38. Friebe A, Siegling A, Friedrichs S, Volk HD, Weber O. Immunomodulatory effects of inactivated *Parapoxvirus ovis* (ORF virus) on human peripheral immune cells: induction of cytokine secretion in monocytes and Th1-like cells. *J Virol* 2004; **78** (17): 9400-9411.
39. Funk DA, Freeman AE, Berger PJ. Environmental and physiological factors affecting mastitis at drying off and postcalving. *J Dairy Sci* 1982; **65**: 1258-1262.
40. Gıda Mevzuatı Türk Gıda Kodeksi. *Çiğ Süt Ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği*, Ankara. Tebliğ No: 2000/6 [web page on the Internet]. Erişim: 14.11.2017, TC Sağlık Bakanlığı İstanbul İl Sağlık Müdürlüğü: http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/mev/mev_teb/tebl_temel_saglik/cig_sut.pdf.
41. Gonzalez RN, Jasper DE, Kronlund NC, Farver TB, Cullor JS, Bushnell RB, Dellinger JD. Clinical mastitis in two california dairy herds participating in contagious mastitis control programs. *J Dairy Sci* 1990; **73**: 648-660.
42. Gruet P, Maincent P, Berthelot X, Kaltsatos V. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; **50** (3): 245-259.
43. Gunne H, Tenhagen BA, Kutzer P, Forderung D, Heuwieser W. Do lactoferrin, lysozyme and the lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide-system cause

negative microbiological results in mastitis secretions? *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2002; **109 (7)**: 300-305.

44. Guzik T, Korbut R, Adamek GT. Nitric oxide and superoxide in inflammation. *J physiol pharmacol* 2003; **54 (4)**: 469-487.

45. Haas Y, Barkema HW, Veerkamp RF. Genetic parameters of pathogen-specific incidence of clinical mastitis in dairy cows. *Anim Sci* 2002; **74 (2)**: 233-242.

46. Hamann J. *Milk quality and udder health in relation to modern milking technique* [web page on the Internet]. Erişim 11.09.2017, Research Gate: https://www.researchgate.net/publication/319879787_Milk_quality_and_udder_health_in_relation_to_modern_milking_technique .

47. Hansen PJ, Soto P, Natzke RP. Mastitis and fertility in cattle-possible involvement of inflammation or immun activation in embryonic mortality. *Am J Reprod Immunol* 2004; **51**: 294-301.

48. Harmon RJ. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci* 1994; **77**: 2103-2112.

49. Hazıroğlu R, Milli ÜH, editörler. *Veteriner Patoloji*. Ankara: Medisan; 2001.

50. Hillerton JE, Walton AW. Identification of subclinical mastitis with a handheld electrical conductivitymeter. *Vet Rec* 1991; **128**: 513-515.

51. Hillerton JE, Berry EA. Treating mastitis in the cow-a tradition or an archaism. *J Microbiol* 2005; **98**: 1250-1255.

52. Hoedemaker M, Korff B, Edler B, Emmert M, Bleckmann E. Dynamics of *Staphylococcus aureus* infections during vaccinations with an autogenous bacterin in dairy cattle. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2001; **48 (5)**: 373- 383.

53. Holtenius K, Waller KP, Essén-Gustavsson B, Holtenius P, Sandgren CH. Metabolic parameters and blood leukocyte profiles in cows from herds with high or low mastitis incidence. *Vet J* 2004; **168 (1)**: 65-73.

54. Hospido A, Sonesson U. The environmental impact of mastitis: a cause study of dairy herds. *Sci Total Environ* 2005; **343**: 71-82, 2005.

55. Hwang CY, Pak SL, Han HR. Effects of autogenous toksoid-bacterin in lactating cows with *Staphylococcus aureus* subclinic mastitis. *J Vet Med Sci* 2000; **62 (8)**: 875-880.
56. İşcan D. Mastitiste somatik hücre sayımı yöntemleri ve somatik hücre sayısının önemi. *Veterinarium*, 1993; **4(2)**: 47-56.
57. Jain N. C. Common mammary pathogens and factors in infection and mastitis. *J Dairy Sci* 1979; **62 (1)**: 128-134.
58. Jones GM, Bailey TL. *Understanding the basics of mastitis. Virginia Cooperative Extension* 2009; 1-5.
59. Kart A, Uzlu E, Karapehlivan M, Öğün M, Merhan O. Buzağlarda İmmunomodülatör Zylexis' in Kan Glutasyon, Malondialdehit, Nitrik Oksit, Toplam ve Lipit Bağlı Sialik Asit Seviyelerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 2010; **5 (2)**: 43-48.
60. Kaymaz A, Bakırel U, Bilal T. A Study Concerning the Therapeutic Effectiveness of The Enrofloxacin and *Parapoxvirus* D1701 Combination in Calves With Enzootic Pneumonia. *J Fac Vet Med Istanbul Univ* 2001; **27 (1)**:1-6.
61. Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A, editörler. *Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları*. Malatya, Türkiye: Medipres; 2016
62. Kehrli MEJR, Nonnecke BJ, Roth JA. Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period. *Am J Vet Res* 1989; **50 (2)**: 207-214.
63. Keskin A. (2005). Bursa bölgesindeki süt sığırı işletmelerinde mastitise karşı Hipramastivac ile aşılanmanın profilaktik etkisi. Erişim tarihi: 10.09.2017, Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonucYeni.jsp>, Doktora tezi, 1-79.
64. Kossaibati MA, Esslemont RJ. The costs of production diseases in dairy herds in England. *Vet J* 1997; **154 (1)**: 41-51.
65. Küplülü Ş, Vural R, İzgür H, Kılıçoğlu C, Baştan A, Kaymaz M, Erdeğer J. Subklinik mastitislerin Tanısında Milk Checker'ın Kullanılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1995; **42**: 281-284.

66. Leitner G, Yadlin N, Lubashevsky E, Ezra E, Glickman A, Chaffer M, Winkler M, Saran A, Trainin Z. Development of a *Staphylococcus aureus* vaccine against mastitis in dairy cows. II. Field trial. *Vet Immunol Immunopathol* 2003; **93**: 153-158.
67. Leslie KE, Dingwell T. Mastitis control: where are we and where are we going. İçinde Kaske M, Scholz H, Höltershinken M, editors. XXII. World Buiatrics Congress. Germany: Hannover; 2002. pp.370-382.
68. Mehrzad J, Dosogne H, Meyer E, Heyneman R, Burvenich C. Respiratory burst activity of blood and milk neutrophils in dairy cows during different stages of lactation. *J Dairy Res* 2001; **68**: 399-415.
69. Mehrzad J, Dosogne H, Vangroenweghe F, Burvenich C. A comparative study of bovine blood and milk neutrophil functions with luminol-dependent chemiluminescence. *Luminescence* 2001; **16**: 343-356.
70. Metzner M, Behrmann K, Opfer DD, Klee W. Efficacy of an immune modulator in enzootic pneumonia of dairy calves. *Transbond Emerg Dis* 1999; **46 (5)**: 293-299.
71. Minbay A. *İmmunoloji ve Seroloji*. Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi 1995.
72. Morse D, Delorenzo MA, Wilcox CJ, Collier RJ, Natzke RP, Bray DR. Climatic Effects on Occurrence of Clinical Mastitis. *J Dairy Sci* 1988; **71**: 848-853.
73. Mukherjee R. Assessment of reactive oxygen species and phagocytosis of milk leukocytes by alfa-tocopherol and enrofloxacin in bovine mastitis. *Veterinarski Arhiv* 2006; **76 (1)**: 1-9.
74. Nash DL, Rogers GW, Cooper JB, Hargrove GL, Keown JF, Hansen LB. Heritability of clinical mastitis incidence and relationships with sire transmitting abilities for somatic cell score, udder type traits, productive life, and protein yield. *J Dairy Sci* 2000; **83**: 2350-2360.
75. Nickerson SC. Control of heifer mastitis: Antimicrobial Treatment- An Overview. *Vet Microbiol* 2008; **134**: 128-135.
76. Nickerson SC, Owens WE, Boddie RL. Mastitis in dairy herds: initial studies on prevalence and control. *J Dairy Sci* 1995; **78**: 1607-1618.
77. Ogata A, Nagahata H. Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cows. *J Vet Med Sci* 2000; **62 (7)**: 681-686.

78. Oliver SP, Gillespie BE, Headrick SJ, Moorehead H, Lunn P, Dowlen HH, Johnson DL, Lamar KC, Chester ST, Moseley WM. Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; **87**: 2393-2400.
79. Oliver SP, Mitchell BA. Prevalence of mastitis pathogens in herds participating in a mastitis control program. *J Dairy Sci* 1984; **67**: 2436-2440.
80. Paape M, Mehrzad J, Zhao X, Detilleux J, Burvenich C. Defense of the bovine mammary gland by polymorphnuclear neutrophil leukocytes. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002; **7 (2)**: 109-121.
81. Philpot WN, Nickerson SC. *Winning the fight against mastitis*. Canada: Westfalia Surge; 2000.
82. Podpecan O, Pengov A, Hrastnik U. Treatment of subclinical staphylococcal mastitis. *Slov Vet Res* 2004; **41 (1)**: 31-34.
83. Pyörälä S, Taponen S. Coagulase-negative-staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol* 2009; **134**: 201.
84. Pyörälä S. New strategies to prevent mastitis. *Reprod Dom Anim*. 2002; **37(4)**: 211-216.
85. Pyörälä S. Trends and advances in mastitis therapy. İçinde Kaske M., Scholz H., Höltershinken M., editors. XXII. World Buiatrics Congress. Germany: Hannover; 2002. pp.360-368.
86. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Hartigan PJ, Fannig S, FitzPatrick ES. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Dublin: Willey-Blackwell; 2011. p.928.
87. Rasmussen MD, Frimer ES, Galton DM, Petersson LG. The influence of premilking teat preparation and attachment delay on milk yield and milking performance. *J Dairy Sci* 1992; **75 (8)**: 2131-2141.
88. Rişvanlı A. Elazığ bölgesi süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitislerin dağılımı, mastitislere sebep olan mikroorganizmaların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine çalışma. Doktora Tezi, Elazığ, 2001.

89. Rupp R, Boichard D. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, production, udder type traits, and milking ease in first lactation Holsteins. *J Dairy Sci* 1999; **82**: 2198-2204.
90. Ryan MP, Flynn J, Hill C, Ross RP, Meaney WJ. The natural food grade inhibitor, lactacin 3147, reduced the incidence of mastitis after experimental challenge with *Streptococcus dysgalactiae* in nonlactating dairy cows. *J Dairy Sci* 1999; **82**: 2108-2114.
91. Rysanek D, Babak V, Sladek Z, Toman M. Variations among unbred heifers in the activities of polymorphonuclear leucocytes from the mammary gland and blood. *J Vet Med Sci* 2001; **48**: 31-41.
92. Sandgren CH, Waller KP, Emanuelson U. Therapeutic effects of systemic or intramammary antimicrobial treatment of bovine subclinical mastitis during lactation. *Vet J* 2008; **175**: 108-117.
93. Sargeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabenk BJ, Lim GH. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California mastitis test for identifying intramammary infection in early lactation. *J Dairy Sci* 2001; **84**: 2018-2024.
94. Savill J. Recognition and phagocytosis of cells undergoing apoptosis. *Br Med Bull* 1997; **53 (3)**: 491-508.
95. Schrick FN, Hockett ME, Saxton AM, Lewis MJ, Dowlen HH, Oliver SP. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. *J Dairy Sci* 2001; **84**: 1407-1412.
96. Schütze N, Raue R, Büttner M, Alber G. Inactivated *Parapoxvirus ovis* activates canine blood phagocytes and T lymphocytes. *Vet Microbiol* 2009; **137**: 260-267.
97. Schütze N, Raue R, Büttner M, Köhler G, McInnes CJ, Alber G. Specific antibodies induced by inactivated *Parapoxvirus ovis* potentially enhance oxidative burst in canine blood polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *Vet Microbiol* 2010; **140**: 81-91.
98. Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 2003; **34**: 475-491.

99. Sentürk S, Çatık S, Temizel EM, Özyiğit Ö. Outbreak of Bovine Papular Stomatitis With Concurrent *Cryptosporidiosis* in a Dairy Herd in Turkey. *Bulg J Vet Med* 2016; **19 (1)**: 78-83.
100. Shook GE. Selection for disease resistance. *J Dairy Sci* 1989; **72**: 1349-1362.
101. Shpigel NY, Winkler M, Ziv G, Saran A. Clinical, bacteriological and epidemiological aspects of clinical mastitis in Israeli dairy herds. *Prev Vet Med* 1998; **35**: 1-9.
102. Shuster DE, Lee EK, Kehrli ME Jr. Bacterial growth, inflammatory cytokine production, and neutrophil recruitment during coliform mastitis in cows within ten days after calving, compared with cows at midlactation. *Am J Vet Res* 1996; **57 (11)** : 1569-1575.
103. Smith KL, Harrison JH, Hancock DD, Todhunter DA, Conrad HR. Effect of vitamin E selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *J Dairy Sci* 1984; **67**: 1293-1300.
104. Smith KL, Weiss WP, Hogan JS. *Role of nutrition in mammary immunity and mastitis control [web page on the Internet]*. Erişim 01.10.2017, Resarch Gate: https://www.researchgate.net/profile/William_Weiss8/publication/268053420_ROLE_OF_NUTRITION_IN_MAMMARY_IMMUNITY_AND_MASTITIS_CONTROL/links/54ec71c50cf27fbfd7708399.pdf
105. Sordillo LM, Shafer, Weaver K, Derosa D. Immunobiology of the mammary gland. *J Dairy Sci* 1997; **80** : 1851-1865.
106. Sordillo LM, Streicher KL. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002; **7 (2)**: 135-146.
107. Suriyasathaporn W, Schukken YH, Nielen M, Brand A. Low Somatic Cell Count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. *J Dairy Sci* 2000; **83**: 1248-1255.
108. Şimşek H, Aksakal M. Subklinik mastitisli ineklerde kan ve sütte lipit peroksidasyon ve bazı antioksidanlar üzerine E vitamininin etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Der* 2005; **52**: 71-76.

109. Tekeli T. *AB Sürecinde Kaliteli Süt Üretimi ve Somatik Hücre Sayısı*. Konya: Güzelış Matbaası; 2006
110. Thorberg BM, Danielsson ML, Emanuelson U, Waller KP. Bovine subclinical mastitis caused by different types of *coagulase-negative Staphylococci*. *J Dairy Sci* 2009; **92**: 4962-4970.
111. Timurkan H. İneklerde california mastitis testi ve sütün elektrik iletkenliğinin karşılaştırılması. *F Ü Sağ Bil Vet Derg* 2014; **28 (3)**: 135-136.
112. Todhunter DA, Smith KL, Hogan JS. Environmental *streptococcal* intramammary infections of the bovine mammary gland. *J Dairy Sci* 1995; **78**: 2366-2374.
113. Tsenkova R, Atanassova S, Kawano S, Toyoda K. Somatic cell count determination in cow's milk by near-infrared spectroscopy: A new diagnostic tool. *J Anim Sci* 2001; **79**:2550-2557.
114. Vandeputte-Van Messom G, Burvenich C, Roets E, Devriese L, Haesebrouck F. Effects of *Staphylococcus aureus* mastitis after endotoxin application on milk yield and composition during subsequent lactation of guinea-pigs. *Zentralblatt Veterinarmedizin Reihe B* 1995; **42 (2)** :118-126.
115. Varki A. Sialic acids in human health and disease. *Trends Mol Med* 2008; **14 (8)** : 351-360.
116. Watson DL, Mccoll ML, Davies HI. Field trial of a *staphylococcal* mastitis vaccine in dairy herds: clinical, subclinical and microbiological assessments. *Aust Vet J* 1996; **74 (6)**: 447-450.
117. Wellenberg GJ, Wan Der Poel WHM, Van Oirschot JT. Viral infections and bovine mastitis. *Vet Microbiol* 2002; **88 (1)**: 27-45.
118. Yalçın C. Cost of mastitis in Scottish dairy herds with low and high subclinical mastitis problems. *Turk J Vet Anim Sci* 2000; **24**: 465-472.
119. Yancey RJ. Recent advances in bovine vaccine technology. *J Dairy Sci* 1993; **76**: 2418-2436.
120. Yılmaz Ö, Kaşıkçı G. Factors affecting colostrum quality of ewes and immunostimulation. *Turk J Vet Anim Sci* 2013; **37 (4)**: 390-394.

121. Zecconi A, Bronzo V, Casula A, Luzazago C, Moroni P, Piccinini R, Spreafico G. Efficacy of a biological response modifier in preventing *Staphylococcus aureus* intramammary infections after calving. *J Dairy Sci* 1999; **82 (10)**: 2101-2107.
122. Zecconi A, Piccinini R. Intramammary infections: epidemiology and diagnosis. İçinde Kaske M, Scholz H, Höltershinken M, editors. *XXII. World Buiatrics Congress*. Germany: Hannover; 2002. pp.334-345.



ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayı: 2015/ 99

24/11/2015

Sayın: Doç. Dr. Ahmet SABUNCU
İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Karar No 2015/99

Başvuru : 18.11.2015

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen **Doktora Öğrencisi Tuğçe DEMİRLEK**'e ait "İneklerde inaktif parapoxvirus ovis paraimmun aktivatörünün, mastitis profilaksisi ve subklinik mastitis tedavisindeki etkinliği" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Sığır
	Cinsiyeti	Dişi
	Sayısı	120
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	04.01.2016/04.07.2016	

Prof. Dr. Alev AKDOĞAN KAYMAZ
İÜ HADYEK Başkanı

Prof. Dr. Mehmet YALTIRIK
Üye

Prof. Dr. Ufuk ÇAKATAY
Üye

Prof. Dr. İlhan İLKILIÇ
Üye

Doç. Dr. Alper OKYAR
Üye

Yard. Doç. Dr. Altan ARMUTAK
Üye

Uzm. Vet. Hek. Fatma TEKELİ
Üye

Dr. Burak OLGUN
Mak. Yük. Müh.
Üye

Avukat Selma DEMİR
Üye

İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dekanlık katı A 221 nolu Oda Avcılar -İSTANBUL TEL : (0 212) 4737070/ 17031 E mail : hadyek@istanbul.edu.tr

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

İNEKLERDE İNAKTİVE PAROPOXVİRUS OVİS PARAIMMUN
AKTİVATÖRÜNÜN MASTİTİS PROFLAKSİSİ VE SUBKLİNİK
MASTİTİS TEDAVİSİNDEKİ ETKİNLİĞİ

ORIJINALLIK RAPORU

%2

BENZERLİK
ENDEKSİ

%2

İNTERNET
KAYNAKLARI

%1

YAYINLAR

%0

ÖĞRENCİ
ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

abs.kafkas.e
du.tr 1
İnternet Kaynağı

<%1

www.aku.e
du.tr 2
İnternet Kaynağı

<%1

acikarsiv.ankara.e
du.tr 3
İnternet Kaynağı

<%1

www.alkenet
.com 4
İnternet Kaynağı

<%1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Tuğçe	Soyadı	Demirlek
Doğ.Yeri	Fatih	Doğ.Tar.	14.11.1988
Uyruğu	TC	TC Kim No	22211169598
Email	tugcedemirlek@hotmail.com	Tel	555 370 8073

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Lisans	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2011
Lise	Özel Asfa Ahmet Mithat Lisesi	2005

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Veteriner Hekim	İstanbul Büyükşehir Belediyesi	2011-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	Orta	55	

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	82	84	76

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	İyi
Autocad	Orta
Photoshop	Orta

Sertifikaları:

- Dermatolojide Alerji Testleri Kasım 2017
- Hizmet İçi Eğitim Kasım 2017
- Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Sürekli Eğitim Kongresi Kasım 2017
- İleri Ms Office Eğitimi Ekim 2017
- Etkili Sunum Teknikleri Eylül 2017
- Proje Yönetimi Eğitimi Eylül 2017
- 2.Sahipsiz Hayvan Rehabilitasyonu Çalıştayı Mayıs 2017
- Ultrasonografinin Temel İlkeleri Nisan 2017
- Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Sürekli Eğitim Kongresi Kasım 2016

- Hayat Kurtaran Uygulamalar Kasım 2016
- 657 Devlet Memurları Kanunu Eğitimi Mayıs 2016
- 1.Sahipsiz Hayvan Rehabilitasyonu Çalıştayı Mayıs 2016
- Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Sürekli Eğitim Kongresi Kasım 2015
- Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Sürekli Eğitim Kongresi Kasım 2014
- Küçük Hayvan Veteriner Hekimleri Derneği Sürekli Eğitim Kongresi Kasım 2013
- Pet Hayvanlarında Dermatolojik Vakalara Yaklaşım ve Beslenmenin Önemi Nisan 2011
- Kedi ve Köpeklerde Üriner Sistem & Böbrek Rahatsızlıkları Mart 2011
- Gastrointestinal Problemler, Akut ve Kronik Pankreatit Mart 2011
- Türkiye Köpek Irkları Çalıştayı Mart 2011
- İlaçlama ve Pest Kontrol Mart 2011
- Ülkemizde Hayvancılık Paneli Şubat 2011
- Açlığa Karşı Birleşelim Temalı Dünya Gıda Günü Etkinlikleri Ekim 2010
- Kurban Hijyeni Eğitimi Ekim 2010
- FLUTH Vakalarında Beslenmenin Rolü Ekim 2010
- Uluslararası Katılımlı Veteriner Hekimliği Kongresi Haziran 2010
- 12. Uluslararası Veteriner Hekimliği Öğrencileri Bilimsel Araştırma Kongresi Mayıs 2010
- Fako Cerrahisi ile Kedi ve Köpeklerde Katarakt Tedavisi Mart 2009

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kültür ve tarih gezileri yapmak, motosiklete ve bisiklete binmek