



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-YL-2015-0004

**SIĞIRLARIN YAZ MASTİTİSLERİNDEN
TRUEPERELLA PYOGENES'İN İDENTİFİKASYONU VE
ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

HAZIRLAYAN
Uğur ULUIŞIK

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİK-YL-2015-0004

**SIĞIRLARIN YAZ MASTİTİSLERİNDEN
TRUEPERELLA PYOGENES'İN İDENTİFİKASYONU VE
ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

HAZIRLAYAN
Uğur ULUIŞIK

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Uğur ULUIŞIK tarafından hazırlanan “**SIĞIRLARIN YAZ MASTİTİSLERİNDEN *TRUEPERELLA PYOGENES*’İN İDENTİFİKASYONU VE ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**” başlıklı tez, 15/01/2015 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı ve Soyadı :

Üniversitesi :

İmzası:

1- Prof. Dr. Şükrü KIRKAN

ADÜ, Veteriner Fakültesi

2- Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ

ADÜ, Veteriner Fakültesi

3- Yrd. Doç. Dr. Ümit KARADEMİR

ADÜ, Veteriner Fakültesi



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun Sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü 09100- AYDIN
Santral : (256) 218 20 00 Direkt Telefon : 218 20 44 Fax : (256) 218 20 44

ÖNSÖZ

Mastitis tüm dünyada özellikle süt sığırcılık işletmelerinde sıklıkla görülen, süt veren hayvanların meme bezinde yangı ile karakterize, süt veriminin azalmasına, süt kalitesinin bozulmasına ve süt endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara sebep olan meme içi bir enfeksiyondur. Mastitis, memeli hayvanların hepsinde görülmekle beraber sığırların evcilleştirilmesinden bu yana gözlemlenen, süt ineği yetiştiriciliğinin en önemli hastalıklarındandır. Çünkü süt, özellikle insan beslenmesindeki en önemli gıda kaynaklarından birisi olarak bilinmektedir ve sütün başlıca kaynağı olarak ilk sırada süt ineklerinin gelmesi, sığır mastitisini diğer hayvanlarda görülen mastitislere kıyasla daha fazla önemli kılmaktadır. Ancak, bu hastalığın yol açtığı ekonomik kayıpların boyutu, yetiştiriciler tarafından pek anlaşılamamaktadır. Mastitisli ineklerden sağılan sütlerde bulunan etkenler, temiz sütlerle karışınca bunların da kontamine olmasına ve bozulmalarına yol açarak büyük ekonomik kayıplara neden olurlar. Mastitisli sütlerin halk sağlığı açısından da önemi büyüktür. Birçok zoonozlar insanlara bu yolla geçebilir. Mastitise bağlı olarak görülen ekonomik zararlar sütün atılması, tedavi gideri, veteriner hekim ücreti, mastitisin şekillendiği laktasyon ve takip eden sonraki laktasyondaki süt veriminin düşmesi şeklinde sıralanmaktadır.

Sığırların Yaz Mastitislerinden sorumlu tutulan *Trueperella pyogenes*, sığır, koyun, keçi gibi evcil hayvanlardan sıklıkla izole edilebilen gram pozitif, pleomorfik, basil görünümlü, fakültatif anaerobik bir bakteridir.

Mikrobiyal kökenli mastitisler, tüm dünyada sığırcılığın en çok ekonomik kayba neden olan hastalığı olarak kabul edilmektedir. Klinik ve subklinik karakterde, akut ve kronik seyirli olabilen mastitisler, sığırlarda verim düşüklüğü, ürün kaybı ve tedavi masrafları nedeniyle ekonomik kayıplara yol açabildiği gibi, insan sağlığı açısından da risk oluşturmaktadır. Çalışmamızda sığırlarda görülen yaz mastitislerinin bir etkeni olan *Trueperella pyogenes*'in identifikasyonu ve identifiye edilen etkenlerin antibiyotiklere dirençliliklerinin saptanması amaçlanmıştır.

Çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri tarafından VTF-14031 kodlu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
KABUL ONAY SAYFASI.....	i
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Mastitis.....	1
1.2. Mastitis Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi.....	3
1.3. Yaz Mastitisleri.....	7
1.4. <i>Trueperella pyogenes</i>	9
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	11
2.1. Gereç.....	11
2.1.1. Örnekler.....	11
2.1.2. Besiyerleri.....	11
2.1.2.1. İzolasyon Besiyerleri.....	11
2.1.2.2. İdentifikasyon Besiyerleri.....	11
2.1.3. Ayıraçlar.....	14
2.1.3.1. İndol Ayırıcı (Kovaks Ayırıcı)	14
2.1.3.2. Nitrat Ayıraçları	14
2.1.4. Boyalar.....	15
2.1.5. Antibiyotik Diskleri.....	15
2.2. Yöntem.....	15
2.2.1. Mikrobiyolojik Muayene.....	15
2.2.1.1. Örneklerden <i>T. pyogenes</i> İzolasyonu ve identifikasyonu.....	15
2.2.1.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	18
3. BULGULAR.....	20
3.1. Örnekler.....	20
3.1.2. Mikrobiyolojik Bulgular ve Antibiyotik Duyarlılık.....	20
4. TARTIŞMA.....	22
5. SONUÇ.....	26
ÖZET.....	27
SUMMARY.....	28

KAYNAKLAR.....	29
ÖZGEÇMİŞ.....	36
TEŞEKKÜR.....	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1 <i>T. pyogenes</i> ’ in Biyokimyasal Özellikleri.....	18
Çizelge 2.2 Standart Zon Çapları	19
Çizelge 3.1 İzole Edilen <i>T. pyogenes</i> İzolatlarının Antibiyogram Sonuçları ...	21

1. GİRİŞ

1.1. Mastitis

Mastitis tüm dünyada özellikle süt sığırcılık işletmelerinde sıklıkla görülen, süt veren hayvanların meme bezinde yangı ile karakterize, süt veriminin azalmasına, süt kalitesinin bozulmasına ve süt endüstrisinde büyük ekonomik kayıplara sebep olan meme içi bir enfeksiyondur (Jain 1979). Genel anlamda mastitis, meme bezlerinin travmatik etkilere ve meme içerisine çoğunlukla ekzojen veya endojen olarak giren mikroorganizmalara karşı reaksiyon göstermesidir (Blood ve ark 1979). Meme dokusunu oluşturan bütün yapıların ve bu dokuları saran bağ dokunun, sebebi ne olursa olsun yangısına mastitis denilmektedir. Hastalık, meme dokusunun iritan etkilere karşı bir tepkisi olup, meme dokusu ile sütün nitelik ve niceliğini önemli ölçüde etkilemektedir. Mastitis, etiyolojisi, patogenezi, şiddeti, süresi, tedavisi ve kalıcı etkileri açısından karmaşık bir hastalıktır (Harmon 1994, Jain 1979, McDonald 1979).

Mastitis, memeli hayvanların hepsinde görülmekle beraber sığırların evcilleştirilmesinden bu yana gözlemlenen, süt ineği yetiştiriciliğinin en önemli hastalıklarındandır. Çünkü süt, özellikle insan beslenmesinde en önemli gıda kaynaklarından birisi olarak bilinmektedir ve başlıca kaynağı olarak ilk sırada süt ineklerinin gelmesi, sığır mastitisini diğer hayvanlarda görülen mastitislere kıyasla daha fazla önemli kılmaktadır. Mastitis toplam sığır hastalıklarının % 26'sını oluşturmaktadır ve bunun neticesinde ortaya çıkan kaybın diğer infertilite ve reproduktif hastalıklardan yaklaşık iki kat fazla olduğu bildirilmiştir (De Graves ve Fetrow 1993; Philpot ve Nickerson 1991). Ancak, bu hastalığın yol açtığı ekonomik kayıpların boyutu, yetiştiriciler tarafından pek anlaşılamamaktadır (Natzke 1981). Mastitisli ineklerden sağılan sütlerde bulunan etkenler, temiz sütlerle karışınca bunların da kontamine olmasına ve bozulmalarına yol açarak büyük ekonomik kayıplara neden olurlar. Mastitisli sütlerin halk sağlığı açısından da önemi büyüktür. Birçok zoonozlar insanlara bu yolla geçebilir. Mastitise bağlı olarak görülen ekonomik zararlar sütün atılması, tedavi gideri, veteriner hekim ücreti, mastitisin şekillendiği laktasyon ve takip eden sonraki laktasyondaki süt veriminin düşmesi şeklinde sıralanmaktadır (Schroeder 1997).

Ruminantların meme bezi, anatomik yapısı itibariyle birçok mikroorganizmanın istilasına karşı koyan bir organdır. Sağmal ineklerin günlük sağımları ve sağım sonrası meme başı kanalının geçici bir süre kapanmaması, meme dokusunu mikroorganizmalara açık hale getirmekte ve mastitis vakalarının gelişmesine sebep olmaktadır. İnsan sağlığı ve yavruların beslenmesi açısından mastitisli süt kullanımının sakıncalı olması sebebiyle hayvanların bu hastalıktan korunması gerekmektedir (Alaçam ve ark 1986, Ahl ve ark 1989, Alaçam ve ark 1994).

Birçok ülkede süt işletmelerinde yapılan gözlemler göstermiştir ki, inekler arasında mastitisin prevalansı % 50, bir meme lobundaki enfeksiyon oranı ise % 25 civarındadır (Blood ve ark 1979). Mastitis kontrol programlarının uygulanması ve bu programların devamlılığının sağlanması, özellikle kapasiteleri büyük olan süt işletmelerinde, ekonomik verimliliğin en önemli göstergesidir. Ancak ülkemizde özellikle süt yönlü yetiştiricilikte işletme kapasitelerinin küçük olması ve henüz verimlilik merkezli mastitis kontrol programlarının oluşturulmaması nedeniyle, süt üretiminde büyük ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır (Atasever ve Erdem 2008, Topçu 2008). Sağlıklı süt, sağlıklı hayvanlardan elde edildiği için, hayvan sağlığını korumak ve mastitis olgularını erken teşhis etmek temel hedeftir. Süt endüstrisinde mastitis nedenli ekonomik kayıplar, süt kalitesinin ve süt veriminin azalması, buna bağlı olarak da ilaç ve veteriner hizmet kullanımının artması ve yem giderlerinin artışı sonucunda ortaya çıkmaktadır. Aynı zamanda, enfeksiyonun tedavisi için kullanılan antibiyotiklerin sütte kalıntı bırakması, bilinçsiz olarak ilaç kullanımına bağlı gelişen antibiyotik dirençli bakteriler, tedavi olanaklarının sınırlandırılması gibi olumsuz etkiler oluşmaktadır (Meiri-Bendek ve ark 2002). Düzenli ve bilinçli kontrol programlarının uygulanması, klinik mastitis olgularının azaltılmasını ve subklinik enfeksiyonların da erken teşhis edilmesini sağlamaktadır (Østerås ve ark 2006).

Mastitisli hayvanların yılda ortalama 180-200 dolarlık bir kayba yol açtığı; bu kaybın % 70'inin süt üretimindeki azalmadan, % 8'inin tedavi sırasında ve sonrasında atılan süttten, % 8'inin ilaç ve veteriner hekim masraflarından, % 14'ünün de ölüm ve hayvanın zorunlu olarak sürüden uzaklaştırılmasından kaynaklandığı belirtilmektedir (Philpot ve Nickerson 1991).

Türkiye sığır varlığı ile AB ülkeleri içinde 3. sırada, dünyada ise 27. sırada yer almakta ve süt üretimi açısından bakıldığında sığırın payı her geçen yıl artış göstermektedir. Bugün Türkiye ve çoğu ülkede tarımsal ekonomide geniş bir yer kapladığı bilinen süt endüstrisinin ve süt sığırları yetiştiricilerinin karşılaştığı sorunların en başında mastitis gelmektedir. ABD’de geçtiğimiz yıllarda mastitis nedeniyle meydana gelen yıllık zararın 2 milyar dolar, İngiltere’de ise 300 milyon sterlin olduğu tahmin edilmektedir. Türkiye’de ise; mastitisten kaynaklanan yıllık ekonomik zararın 41,5 milyon TL dolayında olduğu fakat etkin bir mastitis kontrol programı için harcanacak her 1 TL’nin sonrasında 5 TL olarak üreticiye geri döneceği düşünülmektedir. Bu nedenle mastitise yol açan etmenlerin bilinmesi ve gerekli önlemlerin alınmasını, hastalıktan kaynaklı zararları azaltmada en önemli adımlar olarak değerlendirmek mümkündür (Atasever ve Erdem 2008).

1.2. Mastitis Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi

Mastitis kompleks etiyolojiye sahip bir hastalıktır. Mastitisin etiyolojisi incelendiğinde nedenleri arasında fiziksel travma, kimyasal irritasyon, enfeksiyon ajanları ve toksinler gibi birçok sebep bulunmaktadır. Ancak çiftlik hayvanlarında mastitisin başlıca sebebi bakteriler ve bunların oluşturduğu toksinlerdir (National Mastitis Council 1996).

Mastitis olgularında çeşitli mikroorganizma cinslerine ait birçok etken izole ve tanımlanmıştır. İnek mastitislerinde *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Trueperella pyogenes* ve koliform gurubu bakteriler en sık izole ve tanımlanmış etkenler olarak bildirilmiştir. Daha seyrek olarak da *Corynebacterium bovis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus spp.*, *Candida albicans*, *Cryptococcus spp.*, *Nocardia spp.* gibi çeşitli bakteri ve mantarların etkili oldukları bildirilmektedir (Alaçam ve ark 1986, Erer ve ark 1996).

Bakteriyolojik sebepler kısaca bulaşıcı mastitis patojenleri ve çevresel patojenler tarafından oluşturulurlar (Oliver ve ark. 1992). Travmatik, viral, bakteriyolojik etkenlerin yanı sıra mastitis oluşumunda hazırlayıcı faktörlerin rolü de çok önemlidir. Bu faktörler; ırk, yaş, süt verim düzeyi, laktasyon dönemi ve sırası, anatomik sebepler, sağım şekli,

mevsimsel ve iklimsel şartlar, beslenme, ahır ve barınak şartları ile hayvanın metabolizma ve hormonal dengesi olarak sınıflandırılabilir (Deveci ve ark 1994).

Anatomik bozukluklara bağlı mastitis olgularında, memelerin doğmasal olarak bozuk anatomik yapısı, hayvanın yaşı, ırkı gibi etkiler, süt veriminin fazla olması, laktasyonun dönemi (aktif involusyon, peripartum periyot, erken laktasyon vb.), beslenme durumları (Se ve Vit. E eksiklikleri), süt ineklerini enfeksiyona duyarlı kılmaktadır (Blowey ve Edmondson 1995b, Tmanova 2003).

Çevresel faktörler arasında, uygun olmayan çevre koşulları, ahır ve barınakların sağlık yönünden uygun olmaması, yetersiz havalandırma koşulları, altlıkların sert ve kirli olması sayılabilir. Çevresel patojenler ineklerin barındığı ve gezindiği ortamlarda normal olarak bulunan etkenlerdir. Enfeksiyon oluşması uygun şartların meydana gelmesi ve meme yapısının bozulması ile olmaktadır. Süt verimini arttırmak amacıyla protein yönünden zengin besleme mastitise yakalanma olasılığını arttırmaktadır. Sağımçıların temizlik ve dezenfeksiyona dikkat etmemeleri de hayvanlar arasında enfeksiyonun yayılmasını hızlandırmaktadır (Botts ve ark 1979).

Mikrobiyel nedenlere bakıldığında, pek çok bakteri, mantar ve viral etken mastitisin oluşumuna neden olmaktadır. Mastitis etkenleri, meme ve meme kanalıyla ilişkileri yanında, özellikleri de dikkate alınarak bulaşıcı ve çevresel patojenler olarak ayrılmıştır. Mikrobiyel patojenler, sığır meme bezine yerleşerek çoğalır ve hayvandan hayvana sağım sırasında bulaşırlar (Sampimon ve ark 2009).

Çevresel mikroorganizmalar sıklıkla perakut veya akut mastitislere neden olup, endotoksin üretirler. Bu bakteriler fırsatçı bakterilerdir. Çevresel patojenlerin enfeksiyon oluşturması hayvanlar arasında sağım esnasında ya da sağım aralarında çevre teması ile meydana gelir. Çoğunlukla kuru dönemde, laktasyonun erken evresinde ve hayvan sıklığının arttığı durumlarda, serbest hayvancılıktan ziyade ahır işletmelerinde, çevresel patojenlerin oluşturduğu enfeksiyonlara daha sık rastlanır (Oliver ve ark 1998).

Bulaşıcı mastitis enfeksiyonları, bir meme bezinin enfeksiyon kaynağı olması ve bu infekte meme bezine sahip hayvandan, sağlıklı başka bir hayvana etkenin taşınması ile gerçekleşir. Meme başı lezyonları, yetersiz bakım koşulları etkenlerin yerleşimini

kolaylaştırır (Blowey ve Edmondson 1995b, Tmanova 2003). Bulaşıcı mastitis olguları sıklıkla akut, kronik veya subklinik formlarda görülebilir. Mikroorganizmanın geçişi sağımçıların elleri, sağım makineleri gibi sağım esnasında yayılma gösterir. Bu şekilde infekte hayvanlardan sağlıklı hayvanlara mikroorganizmaların geçişi gerçekleşir (Tmanova 2003).

İnfeksiyonun klinik formlarına bakıldığında, mikroorganizma meme bezini enfekte ettikten sonra buraya yerleşerek hızlı bir şekilde çoğalmaya başlar ve bunu konak-patojen ilişkisine bağlı olarak çeşitli klinik bulgular takip eder. Konak immun cevabının başarısız, antibiyotik tedavisinin yetersiz olduğu durumda etken meme bezine kolonize olur ve mastitis şekillenir. Sonuç olarak da yangının klinik bulguları olan şişkinlik, renk değişimi, ısı artışı ve ağrı gelişir. Klinik semptomlar perakut, akut, subakut ve kronik formlar halinde karakterize edilir. Klinik mastitis durumlarında sütteki değişimler (pıhtı, renk değişimi, kan görülmesi vb.) açığa çıkar. Ateş, anormal sekresyon, iştah kaybı, süt üretiminin azalması akut mastitis durumlarında görülen ilave klinik bulgulardır (Sandholm 1995, Tmanova 2003). Klinik mastitis bulgularının tersine subklinik infeksiyonlarda meme bezi ve sütteki değişimlere nadiren rastlanır ya da hiç rastlanmaz. Semptom göstermeyen hayvanlar sağlıklı kabul edilir, bu nedenle subklinik infekte hayvanların tespiti zordur (Blowey ve Edmondson 1995a). Klinik belirti göstermeyen infekte hayvanlar diğer sağlıklı hayvanlar için bir rezervuar görevi görür ve sağlıklı hayvanlar arasında infeksiyonun yayılımına neden olurlar (Zadoks 2004).

Ekonomik yönden mastitis infeksiyonları, süt veriminin ve kalitesinin azalması, tedavi masraflarına ek olarak somatik hücre sayısının artışı ve sütün kullanılamaması, laboratuvar hizmet alımları, toksemiye bağlı şekillenen hayvan ölümleri ile üretim maliyetlerini arttırmakta ve yetiştiricilik yönünden önemli problemlere neden olmaktadır (Taponen ve Myllys 1995).

Mastitis infeksiyonlarının gelişebilmesi için, mikroorganizmaların meme kanalına girmesi, infeksiyonun başlaması ve yangısal reaksiyonların oluşması gerekmektedir (Vehmas ve Sandholm 1995).

Mastitise neden olan etkenlerin bulaşıcı ve çevresel olarak gruplandırılmasıyla ayırım yapılarak etkenlerin patogenezi bu gruplama ile izlenmiştir. Bulaşıcı mastitis etkenlerinin

meme bezinde yaşayarak çoğalması ve sağım esnasında hayvandan hayvana geçişi şekillenmiştir. Çevresel patojenlerin ise özellikle işletmelerin fazla ve işletme içi hayvan popülasyonunun yoğun olduğu yerlerde enfeksiyon oluşturduğu görülmüştür (Çetinkaya 2011).

Travmatik mastitis nedenleri ise; inek dinlenme alanlarının yetersiz ve dar olması, sağım sistemlerinin dengeli ve standart olmaması, sık emzirme şeklinde sayılabilir (Alaçam ve ark 1997). Memede yangı oluşmasına rağmen süt örneklerinden mikroorganizma izole edilemeyen mastitis formudur. Bu formu enfeksiyöz olmayan nedenler oluşturabilir. Bu form klinik ya da subklinik seyir izleyebilir (National Mastitis Council 1996).

Mevsim ve iklim şartlarındaki ani değişimler hayvanlardaki mastitis oranlarını etkileyebilmektedir. Ani ısı ve nem değişiklikleri bir takım kronik meme enfeksiyonlarının akut hale veya subklinik şekilde enfeksiyonların klinik şekle dönüşmesine sebep olabilir (Schalm ve ark 1971, Devenci 1994). Hava şartlarındaki ani değişikliklerin hayvanlarda strese sebep olması da hayvanlardaki mastitis oranlarını artırmaktadır. Mevsim ve iklim şartlarındaki değişikliklerle mastitis arasındaki ilişkinin incelendiği birçok araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalarda mastitis oranlarının, sıcak ve nemin yükseldiği dönemlerde olduğu kadar, yağışlı ve soğuk kış aylarında da arttığı bildirilmektedir (Bishop ve ark 1980, Keefe 1997).

Sıcak ve nemli çevre şartları, hayvan sayısının fazlalığı, sinekler ve yetersiz havalandırma strese sebep olarak, ineklerde mastitisin yayılımını arttırabilir. İneklerin çevresindeki sıcaklığın 24°C'den ve nemin de % 80 den fazla olması hayvanlardaki stresin artmasına sebep olur. Hayvanlardaki bu stres şartları özellikle kandaki kortkosteroidleri artırır. Bu hormonların kanda yükselmesi de lökositlerin mikroorganizmaları fagosite etme kabiliyetini azaltır. Yine bu hormonlar, aynı hücrelerin meme dokusuna girişini de yavaşlatır. Bu durum hayvanları mastitise karşı duyarlı hale getirir (Guidry 1985, Jain 1979, Philpot ve Nickerson 1991).

Bazı mastitis tiplerinin yılın belirli mevimlerinde ortaya çıktığı bilinmektedir. Çevresel mastitisler genellikle kış aylarında artış göstermektedir. Sıcak mevsimlerde ortaya çıkan

ve *Strp. uberis* ve *T. pyogenes* (*C. pyogenes*)'in sebep olduğu yaz mastitisleri ise yaz aylarında artış göstermektedir. (Deveci ve ark 1994, Philpot ve Nickerson 1991).

1.3. Yaz Mastitisleri

Düvelerde klinik mastitis “yaz mastitisi sendromu” olarak da bilinmektedir ve yaz mastitisi ile düve mastitisi eş anlamlı kullanılmaktadır. Sıcak mevsimlerde akut formda seyreden yaz mastitisleri, meradaki hayvanlarda görülmekte ve kuru dönemdeki inekler ile düveleri etkilemektedir. Bu hastalık şiddetli mastitise neden olur ve genellikle etkilenen meme dokusunun kaybıyla sonuçlanır. Avrupa’da ki sürülerin % 60’ı bu enfeksiyonu yaşar ki bu da yaklaşık olarak 20000 veya % 1,5’luk kısmı etkiler. Danimarka gibi diğer ülkelerde ise % 5 oranına ulaşmaktadır. Yaz mastitisi, İngiltere’de tüm sürülerin % 36-46’sını etkilemekte fakat sürü içinde etkilenen hayvan oranı % 2’den az olmaktadır (Shearer ve ark 1993, Berry ve Booth 1999).

Hastalığa genelde *Truperella* (*Arcanobacterium* - *Corynebacterium*) *pyogenes* neden olup, şiddetli doku hasarı ve nekrozdan sorumlu olarak izole edilir. Yaz mastitisi ile ilişkili diğer bakteriler içinde *Peptococcus indolicus*, *Bacteroides melaminogenicus*, *Fusobacterium necrophorum* ve *Streptococcus dysgalactiae* bulunur. *Peptococcus* sütte fermentasyona yol açar ve yaz mastitisiyle ilişkili karakteristik kötü kokunun sorumlusudur. Ancak birçok etken de hastalığı oluşturabilirken her olayda izole edilmeyebilir. Sadece bir çift etkenin izole edilebildiği durumlarda vardır (Anonim 2013).

Yaz mastitisi yaz sonu ve sonbahar ile ilişkilidir fakat yılın diğer zamanlarında da ortaya çıkabilir. Bu mevsimsellik yavrulama ve koyun baş sineğinin (*Hydrotaea irritans*) en aktif olduğu zamanla alakalıdır. Bu sineklerin hastalık etkenlerini taşıdığı gösterilmiş hatta hastalığın yokluğunda bile başlıca bulaştırıcı olduğuna inanılmaktadır. Sinekler ağaçlık nemli yerleri, durgun suları, rüzgardan korunaklı yerleri tercih ederler, çalılarda ve ağaçlarda yaşarlar, sadece rüzgarın az olduğu zamanlarda sığırlar üzerinde beslenmek için uçarlar ve genellikle de rüzgarın 20 km’den az estiği ve yağmurun yağmadığı zamanlardır. Bu sinekler genellikle bacak, karın ve memenin olduğu kısımlara inerler. Yaz mastitis enfeksiyonlarının % 60’ı ön iki meme lobunda oluşur ve bu bölgeye kolayca ulaşırlar. Arka meme uçlarında ise kuyruğun hareket esnasında çıkardığı ses sinekler üstünde etkili olabilmektedir (Anonim 2013).

Meme lobunun klasik görünümü sıcak, sert, şişmiş ve gerginleşmiştir. Durum son derece acı verici ve memeden gelen salgı yoğunlaşmış ve pıhtılaşmış olup karakteristik kötü bir koku halindedir. Genellikle topallık görülür. Etkilenen birçok hayvanda vücut sıcaklığı yüksektir ki buda enfeksiyonun toksin üretmesindendir. Kurudaki inek ve düveleri kontrol ederken ayakta ve hareket halindeki düzenleri hastalığı erken teşhis etmekte önemlidir. Yaz mastitisi nedeniyle abort oluşabilir. Eğer hasta olanlar derhal tedavi edilmezse ölüme dahi yol açabilir (Anonim 2013).

Genel olarak meme içi tüp kullanımı ve antibiyotik enjeksiyonunun tedavi başarısı için yeterli olduğunu düşünülmektedir. Kuru dönemdeki ineklere antibiyotik kullanılması yaz mastitisini azaltmada kesinlikle yararlı bir etki sağlar ama sütün memeden çekilmesi uzun bir dönem devam ettiği için bu 3-4 hafta yeterli olabilir. Yüksek riskli dönemlerde ve alanlarda bazı üreticiler 3-4 hafta sonra kurudaki ineklerin tedavisini tekrarlamaktadırlar (Anonim 2013).

Aynı zamanda düveler içinde kuru dönem tedavisi uygulanır. Bu uygulama esnasında çok dikkatli olunmalı ve ilaç memenin ucuna yerleştirilip daha ileri kısma hareket ettirilmeden uygulama sonlandırılmalıdır. Kanal içine tüp yerleştirmek tavsiye edilmez, bu yarardan çok zarar verebilir (Anonim 2013).

Çoğu yetiştirici ve yaz mastitisini en aza indirmek kuru dönemde bulunan hayvanlar için bir yönetim şekli uygulamaktadır. Hayvanlar meralarda kapalı tutulur ve günde iki kere kontrol edilirler. Kuru dönemde antibiyotik uygulaması bu dönem boyunca koruma sağlar, eğer hasta olanlar varsa belirlenip sürünün geri kalanından izole edilerek hemen tesis de tedavi altına alınır. Yaz mastitisinin ekonomik etkileri ciddi olabilir özellikle düveler için, sadece iki meme lobunun aktif olması elden çıkarılmasına neden olabilir (Anonim 2013).

Hastalıkta en sıklıkla izole edilen mikroorganizma olan *Trueperella pyogenes* daha çok kurudaki ineklerde ve düvelerde yaz mastitisine sebep olan etkenlerden en önemlisi olarak bilinmektedir (Anonim 2013).

1.4. *Trueperella pyogenes*

Trueperella pyogenes, sığır, koyun, keçi gibi evcil hayvanlardan sıklıkla izole edilebilen gram pozitif, pleomorfik, basil görünümlü, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Etken, önceleri *Corynebacterium pyogenes*, sonraları ise *Actinomyces pyogenes* olarak isimlendirilmiştir (Narayanan ve ark 1998, Silva ve ark 2008). Son zamanlarda ise özellikle yaz aylarında görülen mastitislerin nedeni olan bu bakteri tekrar klasifiye edilerek *Trueperella pyogenes* olarak adlandırılmıştır (Zastempowska ve Lassa 2012). Bununla birlikte, etkenin ismi veteriner sahada hala *Corynebacterium pyogenes* veya *Actinomyces pyogenes* olarak kullanılmaktadır. *T. pyogenes*, sığır, koyun, keçi gibi evcil hayvanların üst solunum ve ürogenital sistemlerin muköz membranların kommensal bir bakterisi olarak karşımıza çıkmaktadır. Aynı zamanda, çeşitli evcil hayvanlarda suppuratif enfeksiyonlardan sorumlu önemli bir fırsatçı patojendir. Etken, mastitis, abortlar, pyometra, artritis, orşitis vakalarından, evcil hayvanların ve kanatlıların ayak apselerinden tek başına ya da karışık kültürler olarak izole edilmektedir (Simpson ve ark 1995, Miller ve ark 2007). Aynı zamanda, ineklerin karaciğer apselerinden ve solunum sisteminden *Fusobacterium necrophorum* ile birlikte en sık izole edilen sekonder bir patojendir (Narayanan ve ark 1998, Seimiya ve ark 2004). Sığırlarda karaciğer apselerinde % 2-50 oranında izole edildiği belirtilmektedir. Etkenin sığır rumeninden ve domuzların midesinden izole edilmesi, aynı zamanda bu tür hayvanların sindirim sistemlerinin de yaygın yerleşik bir bakterisi olabileceğini göstermiştir (Nagaraja ve Chengappa 1998). Kurudaki ineklerde ve düvelerde yaz mastitisine sebep olan etken olarak ta bilinmektedir.

Canlıların normal florasında bulunan etkenin zaman zaman ekonomik olarak ciddi kayıplı enfeksiyonlar oluşturmaya rağmen, etkenin patojenitesi, patogenezi ve mücadele yollarının yeterince bilinmemektedir. Dolayısıyla, laboratuvarlarda rutin teşhiste göz ardı edilebilmektedir. Çeşitli hayvan türlerinde abort, mastitis, pyometra, artritis, ayaklar, karaciğer ve böbreklerdeki apselerden *T. pyogenes*'in izole edilmesi konunun ciddiyetini göstermektedir (Jousimies-Somer ve ark 1996, Nolte ve ark 2001). *T. pyogenes*'in teşhisi, çoğunlukla kültür sonuçlarına dayanmaktadır. Jousimies-Somer ve ark. (1996) yılında yaptıkları bir araştırmada yaz mastitisine yakalanan 20 inek ve 3 düve den 32 aerobik, 37 de anaerobik bakteri izole etmişler, bunlardan da 16 sının *T. pyogenes* olduğunu ortaya koymuşlardır.

Mikrobiyal kökenli mastitisler, tüm dünyada sığırcılığın en çok ekonomik kayba neden olan hastalığı olarak kabul edilmektedir. Klinik ve subklinik karakterde, akut ve kronik seyirli olabilen mastitisler, sığırlarda verim düşüklüğü, ürün kaybı ve tedavi masrafları nedeniyle ekonomik kayıplara yol açabildiği gibi, insan sağlığı açısından da risk oluşturabilmektedir.

Çalışmamızda sığırlarda görülen yaz mastitislerinin bir etkeni olan *Trueperella pyogenes*'in identifikasyonu ve identifiye edilen etkenlerin antibiyotiklere dirençliliklerinin saptanması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Örnekler

Araştırmada, 150 adet mastitisli süt örneği [CMT (3 +) değerinde] incelenmiştir. İncelenecek örnekler 2014 yılı Haziran, Temmuz ve Ağustos aylarında 50'şer adet olarak toplamda 150 adet alınarak oluşturulmuştur. Alınan örnekler incelenmek üzere Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına soğuk zincir altında getirildiler. Araştırmanın yapılmasına Hayvan Deneyleri Yerel Etik kurulunun 2013 yılı IX. Oturumu 64583101/2013/090 sayılı kararı ile sakınca görülmemiştir.

2.1.2. Besiyerleri

2.1.2.1. İzolasyon Besiyeri

Kanlı agar (Oxoid)

'Lab-Lemco' Beef Extract	10 gr.
Peptone (Oxoid l 37)	10 gr.
Sodium chlorid	5 gr
Agar	15 gr
Distile su	1000 cc.

Karışım 15 dakika otoklavlanmayı takiben, yaklaşık 45-50 °C' ye kadar soğutulup, içine % 7 –10 defibrine koyun kanı ilave edilerek hazırlandı.

2.1.2.2. İdentifikasyon Besi yerleri

Tripticase Soy Broth (TSB) (Oxoid)

Pancreatic digest of caseing USB	17.0 gr
----------------------------------	---------

Pancreatic digest soybean meal	3.0gr
NaCl	5.0 gr
K ₂ HPO ₄	2.5 gr
D-Glucose	2.5 gr
Distile su	1000ml

Karışım hazırlandı ve tüplere dağıtılıp, otoklavlandı (Bilgehan H 1995).

Mueller Hinton Medium (Difco)

Beef infusion	300 gr
Bacto-Casamino Acids Technical	17.5 gr
Starch	1.5 gr
Bacto-Agar	17 gr

38 gr besi yeri 1000 ml distile suda eritilerek hazırlanır ve 116 °C 10 dak. Otoklavlandı (Bilgehan H 1995).

Oksidasyon- Fermentasyon Besi yeri (O/F)

Peptone	2 gr
Sodium kloride	5 gr
K ₃ HPO ₄	0.3 gr
Bromthymol blue	0.3 gr
Agar	3.0 gr
Distile su	1000 cc

Karışımın pH' sı 7.2 'ye ayarlandıktan sonra, 15 dakika otoklav edildi. Daha sonra yaklaşık 50 °C'ye kadar soğutulup, % 10' luk steril glukoz solusyonundan, son konsantrasyonu % 1 olacak şekilde ilave edildi ve aseptik koşullarda steril tüplere 5' er ml. dağıtıldı (Koneman ve ark 1997).

Bile Aesculin Azide Agar

Peptone from Casein	17,0 g/L
Peptone	3,0 g/L
Yeast extract	5,0 g/L
NaCl	5,5 g/L
Aesculin	1,0 g/L

Ammonium iron(III) citrate	0,5 g/L
Ox bile	10,0 g/L
Sodium azide	0,15 g/L
Agar	13,0 g/L

(Bilgehan H 1995)

Casein Agar

Casein	10g
Meat extract	3g
NaCl	5g
Disodium phosphate	2g
Agar	15g
Bromo thymol blue	0.05g

Karışımın Ph'sı 7.3-7.5'e ayarlandı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi
(Bilgehan H 1995)

Lassen'in 3'lü tüp Besi Yeri

Tüp I

Pepton	20 gr
Lactose	10 gr
Glucose	1.0 gr
Sodium thiosulphate	0.2 gr
Ferric amonium sulphate	0.3 gr
NaCl	6.0 gr
Agar	17.0 gr
Phenol red (%0.2'lik)	12.5 ml
Distile su	1000ml

Karışımın Ph'sı 7.6'ya ayarlandı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Tüp II

Pepton	5.0 gr
Neopepton	5.0 gr
Mannitol	2.0 gr
Agar	2.5 gr

Potassium nitrat	1.7 gr
Phenol red (%0.2 'lik)	20 ml
Distile su	1000ml

Karışımın pH'sı 7.6'ya ayarlandı ve 121 °C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edildi.

Tüp III

L-Tryptophan	0.3 gr
Potassium dihydrogen phosphate	0.1 gr
Potassium hydrogen phosphate	0.1 gr
Üre	2.0 gr
Ethanol	1.0 gr
Phenol red (%0.2 'lik)	20 ml
NaCl	0.5 gr
Distile su	1000ml

Besi yerinin sterilizasyonu 0.2 mikronluk milipor filtreler kullanılarak yapıldı. (Lassen J 1975).

Nitrat Buyyonu

Sığır eti özütü	3.0 gr
Pepton	5.0 gr
Potassium nitrate	1.0 gr
Distile su	1000 ml

Karışım 121 °C'de otoklavlanarak steril hale getirildi (Bilgehan H 1995).

2.1.3. Ayıraçlar

2.1.3.1. İndol Ayırıcı (Kovaks Ayırıcı) (Koneman ve ark 1997)

P- Dimethylaminobenzaldehyde	10.0 gr
İsoamyl alcohool	150.0 ml
HCl (Konsantre)	50 ml

2.1.3.2. Nitrat Ayıraçları (Koneman ve ark 1997)

Solüsyon A

Sulphanilic Acid	0.8 gr
------------------	--------

5 N Asetik acid	100 ml
-----------------	--------

Solüsyon B

Dimethyl-alpha-naphthylamine	0.6 gr
------------------------------	--------

5 N Asetik acid	100 ml
-----------------	--------

2.1.4. Boyalar

Gram boyama yapıldı.

2.1.5 Antibiyotik Diskleri

Ticari firmalardan temin edilen; Trimethoprim- Sülfamethoksazol (STX), Florfenikol (FFC), Ceftiofur (CFT), Eritromisin (E), Colistin Sülfat (CT), Cefaperazon (CFP), Linkomisin Neomisin (LN), Kanamisin Sefaleksim (KCX), Oksitetrasiklin (OT), Amoksisilin klavulonik asit (AMC), Danofloksasin (DFX), Penisillin/Novobiosin (Pen/Novo), etken maddelerini içeren antibiyotik diskleri kullanıldı.

2.2. Yöntem

2.2.1. Mikrobiyolojik Muayene

2.2.1.1. Örneklerden *T. pyogenes* İzolasyonu ve identifikasyonu

Soğuk zincir altında laboratuara getirilen örnekler % 5 koyun kanlı agarlara steril öze yardımı ile ekildi. Petri kutuları %5 CO₂'li ortamda 37 °C'de 48 saat inkübe edildiler. İnkübasyon sonrası küçük, iğne ucu büyüklüğünde, B-hemoliz yapan koloniler seçilerek Gram boyama metodu ile boyandı. Gram pozitif, gram değişken veya pleomorfik görünümlü koloniler şüpheli kabul edildi. Rutin biyokimyasal testler; katalaz ve oksidaz, nitrat redüksiyon, eskülin, jelatin hidroliz, üreaz üretimi, glikoz, maltoz, mannitol, sukroz ve ksiloz fermentasyonu, kazein agarda sınırlama görünümü, oksidasyon-fermentasyon yönünden incelendi (Gouletsou ve ark 2006, Nagaraja ve ark 1998, Ertaş ve ark 2005, Billington ve ark 2002).

Katalaz Testi

Gram boyamada negatif olarak görünen bakterilerin katalaz aktiviteleri hidrojen peroksit (H_2O_2) ile ölçüldü. Lam üzerinde O_2 açığa çıkmasından dolayı gaz oluşturan koloniler katalaz pozitif olarak değerlendirildi (Bilgehan H 1995)

Oksidaz Testi

Gram boyamada negatif görünen bakterilerin oksidaz aktiviteleri, oksidaz çubukları (Oxoid) ile bakıldı. Şüpheli bakterinin 18-24 saatlik saf kültürüne oksidaz çubuğunu daldırmak ve 25-30 saniye bekleyip, çubuğun eflatun mor renk alması (+) reaksiyon olarak değerlendirildi.

İndol Testi

İndol test ortamına şüpheli bakterinin saf kültürlerinden inokule edildikten sonra 37 °C'de 24 saat inkube edildi. İnkubasyondan sonra indol test ayracından 3-5 damla tüpün yan tarafından akıtılıp, üst tarafta bir katman oluşturması sağlandı. Besi yeri ve ayraç arasında kırmızı bir renk oluşmaması negatif reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan H 1995).

Üreaz Testi

Lassen'in III. Tüpüne bakterinin saf kültüründen, bir koloni geçerek 18-22 saat 37 °C' de inkube edildi. İnkubasyondan sonra besi yerinin kırmızıya dönmesi üreaz (+) olarak değerlendirildi (Bilgehan H 1995).

Nitrat Testi

İçinde nitratlı buyyon bulunan tüplere, şüpheli mikroorganizmanın saf kültürlerinden birkaç koloni inokule edildi ve 37 °C'de 5 gün inkube edildi. Daha sonra buyyonun üzerine nitrat ayraçlarından (Sol.A ve Sol.B), 1' er ml dökülerek besi yerinin renginin kırmızı olması (+) reaksiyon olarak değerlendirildi (Bilgehan H 1995).

Eskülin Ayrışması Testi

Üremiş mikroorganizmalardan sıvı ve katı besiyerlerine ekimler yapılarak 37 °C 1-7 gün kadar inkube edilir. Kültürler her gün gözle kontrol edilirler. Katı besiyerinde koloni etrafında oluşan siyahlanma eskulinin hidrolize olduğunu ifade eder (pozitif reaksiyon). Negatif durumlarda, hiçbir değişiklik görülmez. Pozitif olgularda eskulinli brothda siyah-kahverengi renk meydana gelir (Bilgehan H 1995).

Jelatin Hidrolizasyon Testi

Mikroorganizma kültürüne değdirilmiş olan iğne, dik olarak jelatinli besi yerlerine daldırılır. Tüpler 37 °C de 15 gün kadar inkube edilir. Bu süre sonunda kontrollerle birlikte buzdolabı sıcaklığında 1-2 saat bırakılır. Erimenin olup olmadığına dikkat edilir. Jelatinin hidrolize edildiği durumlarda, buzdolabından çıkarılınca, jelatinli ortamın sıvı halinde ve katılaşmadığı görülür (pozitif jelatin hidrolizasyonu). Negatif durumlarda tüpteki sıvı jelatinli besi yeri katılaşır(Bilgehan H 1995).

Kazein Hidrolizasyon Testi

Kazein agar besi yerine çizgi tarzında mikroorganizmalar ekilir ve petri kutusu 37 °C de 2-14 gün kadar inkubasyona bırakılır. Petri kutuları her gün, kontrollerle karşılaştırılarak, muayene edilirler. Süre sonunda koloniler etrafında oluşan açık alan, sütteki kazeinin hidrolize olduğunu ifade eder (pozitif reaksiyon). Negatif durumlarda koloni etrafında hafif opaklaşma görülür (Bilgehan H 1995).

Çizelge 2.1. *T. pyogenes*' in Biyokimyasal Özellikleri (Billington ve ark 2002).

Hareket	-
B – Hemoliz	+
Katalaz	-
Oksidaz	-
Nitrat redüksiyonu	-
Eskülin	-
Jelatin hidroliz	+
Üreaz üretimi	-
Glukoz	+
Maltoz	+
İndol	-
Mannitol	-
Sukroz	-
Ksiloz fermentasyonu	+
Casein agarda sınılaşma	+

2.2.1.2. Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İzole edilen suşların antibiyotik duyarlılık testleri Kirby Bauer Disk Diffüzyon yöntemine göre yapıldı. İçinde 1 ml TSB bulunan tüplere McFarland No:1 yoğunluğunda ekilerek 37 °C'de inkube edildi. Mueller Hinton agar petrilere bu buyyon kültürlerinden 0,1 ml pipet aracılığı ile aktararak cam bagetle yayıldı ve kurumaya bırakıldı. Standart antibiyotik diskleri (Oxoid) steril bir pens yardımı ile eşit aralıklarla petri üzerine yerleştirildi. Petriler 37 °C'de 18 saat inkube edildi. İnkubasyon sonrasında her diskin çevresinde bulunan inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçüldü ve standartları ile karşılaştırıldı (Bilgehan H 1995).

Çizelge 2.2- Standart Zon Çapları (CLSI 2002, 2003).

Antimikrobiyal Madde	Disk İçeriği (mcg)	İnhibisyon Zon Çapları / mm		
		Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Penisillin/Novobiosin (Pen/Novo)	10U/30 µg	≤ 16	-	≥ 17
Danofloksasin (DFX)	5 µg	-	-	≥ 22
Amoksisilin klavulonik asit (AMC)	20/10 µg	≤13	14 - 17	≥ 18
Oksitetrasiklin (OT)	30 µg	≤ 14	15 - 18	≥ 19
Kanamisin Sefalekssin (KCX)	75 µg	≤ 18	18 – 20	≥ 20
Linkomisin Neomisin (LN)	75 µg	≤ 12	13 – 16	≥ 17
Cefaperazon (CFP)	75 µg	≤15	16 - 20	≥ 21
Colistin Sülfat (CT)	10 µg	< 10	-	≥ 11
Eritromisin (E)	15 µg	≤13	14 - 22	≥ 23
Ceftiofur (EFT)	30 µg	≤17	18 - 20	≥ 21
Florfenikol (FFC)	30 µg	≤14	15 – 18	≥ 19
Trimethoprim- Sülfamethoksazol (STX)	1.25+ 23.75	≤10	11-15	≥16

3. BULGULAR

3.1. Örnekler

Araştırmada 2014 yılı yaz aylarında (Haziran – Temmuz - Ağustos) Aydın ili ve çevresinde bulunan çeşitli odaklardan toplam 150 adet mastitisli süt örneği incelenmiştir. Alınan örnekler incelenmek üzere Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Rutin Teşhis Laboratuvarına soğuk zincir altında getirildi ve *T. pyogenes* yönünden incelendi. Yapılan testler neticesinde *T. pyogenes* olarak izole ve identifiye edilen bakterilere Kirby Bauer disk difüzyon yöntemi yardımı ile antibiyotik duyarlılık testleri yapıldı.

3.2. Mikrobiyolojik Bulgular ve Antibiyotik Duyarlılık

Araştırmada toplam 150 mastitisli süt örneğinden 12 (% 8) adet *T. pyogenes* suşu izole ve identifiye edilmiştir.

İzole ve identifiye edilen *T. pyogenes* suşlarına yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda 12 adet suşun tamamı Penisilin/Novobiosin, Danofloksasin, Oksitetrasiklin, Kanamisin/Sefalekssin ve Sülfamethaksasol-Timethoprim'e dirençli bulunmuştur. Sefaperazon ve Kolistin sülfat'a 9 ar suş dirençli, 3'er suş duyarlı, Linkomisin'e 3 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 6 suş duyarlı, Amoksisilin klavulanik asit'e 3 suş dirençli, 6 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş duyarlı, Eritromisin'e 9 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı, Seftifor'a 6 suş dirençli, 6 suş duyarlı ve Florfenikol'e ise 6 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş ise duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Elde edilen antibiyogram sonuçları Çizelge 3.1' de gösterilmiştir.

Çizelge3.1- İzole Edilen *T. pyogenes* İzolatlarının Antibiyogram Sonuçları

	A N T İ B İ Y O T İ K L E R																																			
	PEN/ NOVO			DFX			AMC			OT			KCX			LN			CFP			CT			E			EFT			SXT			FFC		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S			
<i>T.pyogenes</i> n = 12	12	-	-	12	-	-	3	6	3	12	-	-	12	-	-	3	3	6	9	-	3	9	-	3	9	3	-	6	-	6	12	-	-	6	3	3

PEN/NOVO : Penisilin/ Novobiosin DFX : Danofloksasin AMC : Amoksisilin klovulonik asit OT : Oksitetrasiklin KCX : Kanamisin/Sefaleksin LN : Linkomisin/Neomisin CFP : Sefaperazon CT :Colistin Sülfat E : Eritromisin EFT : Seftiofur SXT :Timethoprim-Sülfamethaksasol FFC :Florfenikol	S = Duyarlı I = Orta Duyarlı R = Dirençli
---	--

4. TARTIŞMA

Mastitis; belki de sığırların evcilleştirilmesinden bu yana gözlemlenen, süt ineği yetiştiriciliğinin en önemli hastalıklarından biridir. Çünkü süt, özellikle insan beslenmesindeki en önemli gıda kaynaklarından birisi olarak bilinmektedir ve sütün başlıca kaynağı olarak ilk sırada süt ineklerinin gelmesi, sığır mastitisini diğer hayvanlarda görülen mastitislere kıyasla daha fazla önemli kılmaktadır.

Düvelerde klinik mastitis “yaz mastitisi sendromu” olarak da bilinmektedir ve yaz mastitisi ile düve mastitisi eş anlamlı kullanılmaktadır. Sıcak mevsimlerde akut formda seyreden yaz mastitisleri, meradaki hayvanlarda görülmekte ve kuru dönemdeki inekler ile düveleri etkilemektedir. Hastalığa genelde *Trupeerella* (*Arcanobacterium* - *Corynebacterium*) *pyogenes* neden olup, şiddetli doku hasarı ve nekrozdan sorumlu olarak izole edilir (Shearer ve ark 1993).

Truepeerella pyogenes; sığır, koyun, keçi gibi evcil hayvanlardan sıklıkla izole edilebilen gram pozitif, pleomorfik, basil görünümlü, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Etken, önceleri *Corynebacterium pyogenes*, sonraları ise *Actinomyces pyogenes* olarak isimlendirilmiştir (Narayanan ve ark 1998, Silva ve ark 2008). Son zamanlarda ise özellikle yaz aylarında görülen mastitislerin nedeni olan bu bakteri tekrar klasifiye edilerek *Truepeerella pyogenes* olarak adlandırılmıştır (Zastempowska ve Lassa 2012). Bununla birlikte, etkenin ismi veteriner sahada hala *Corynebacterium pyogenes* veya *Actinomyces pyogenes* olarak kullanılmaktadır.

T. pyogenes, sığır, koyun, keçi gibi evcil hayvanların üst solunum ve ürogenital sistemlerin muköz membranların kommensal bir bakterisi olarak karşımıza çıkmaktadır (Jost ve Billington 2005). Aynı zamanda, çeşitli evcil hayvanlarda suppuratif infeksiyonlardan sorumlu önemli bir fırsatçı patojendir. Etken, mastitis, atıklar, pyometra, artritis, orşitis vakalarından, evcil hayvanların ve kanatlıların ayak apselerinden tek başına ya da karışık kültürler olarak izole edilmektedir (Simpson ve ark 1995, Miller ve ark 2007). Aynı zamanda, ineklerin karaciğer apselerinden ve solunum sisteminden *Fusobacterium necrophorum* ile birlikte en sık izole edilen sekonder bir patojendir (Narayanan ve ark 1998, Seimiya ve ark 2004). Sığırlarda karaciğer apselerinde % 2-50

oranında izole edildiği belirtilmektedir. Etkenin sığır rumeninden ve domuzların midesinden izole edilmesi, aynı zamanda bu tür hayvanların sindirim sistemlerinin de yaygın yerleşik bir bakterisi olabileceğini göstermiştir (Nagaraja ve Chengappa 1998).

Canlıların normal florasında bulunan etkenin zaman zaman ekonomik olarak ciddi kayıplı enfeksiyonlar oluşturmalarına rağmen, etkenin patojenitesi, patogenezi ve mücadele yollarının yeterince bilinmemektedir. Dolayısıyla, laboratuarlarda rutin teşhiste göz ardı edilebilmektedir. Çeşitli hayvan türlerinde abort, mastitis, pyometra, artrit, ayaklar, karaciğer ve böbreklerdeki apselerden *T. pyogenes*'in izole edilmesi konunun ciddiyetini göstermektedir (Jousimies-Somer 1996, Nolte 2001). *T. pyogenes*'in teşhisi, çoğunlukla kültür sonuçlarına dayanmaktadır.

Adnan Menderes Üniversitesi'nin bulunmuş olduğu Aydın ilinde de Türkiye ve diğer ülkelerde olduğu gibi mastitis hastalığı önemli bir problem teşkil etmekle birlikte ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir. Yapılmış olan bu çalışmada Aydın ilindeki sığırlarda görülen yaz mastitislerinin bir etkeni olan *Trueperella pyogenes*'in identifikasyonu ve identifiye edilen etkenlerin antibiyotiklere dirençliliklerinin saptanması amaçlanmıştır.

Araştırmamız sonuçlarına göre toplam 150 mastitisli süt örneğinden 12 (% 8) adet *T. pyogenes* suşu izole ve identifiye edilmiştir.

İzole ve identifiye edilen *T. pyogenes* suşlarına yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda 12 adet suşun tamamı Penisilin/Novobiosin, Danofloksasin, Oksitetrasiklin, Kanamisin/Sefaleksim ve Sülfamethaksazol-Timethoprim'e dirençli bulunmuştur. Sefaperazon ve Kolistin sülfat'a 9 ar suş dirençli, 3'er suş duyarlı, Linkomisin'e 3 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 6 suş duyarlı, Amoksisilin klovulanik asit'e 3 suş dirençli, 6 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş duyarlı, Eritromisin'e 9 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı, Seftifor'a 6 suş dirençli, 6 suş duyarlı ve Florfenikol'e ise 6 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş ise duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Bademkiran ve ark (2005) günlük sağım sayısının süt verimine üzerine etkilerini inceledikleri bir çalışmada mastitis vakalarını değerlendirmişler ve araştırma sonuçlarında

klirik mastitis olgularının etkenleri göz önüne alındığında bunların % 47.45'i *S. aureus*, % 15.25'i *S. epidermis*, % 3.38'i *Strep. agalactiae*, % 10.16'i *Strep. dysgalactiae*, % 5.08'i *Strep. uberis*, % 5.08'i *T. pyogenes* ve % 8.47'sinin *E. coli* tarafından oluşturulduğunu bildirmişlerdir.

Trakya bölgesinde 77 mastitisli süt örneği ile yürütölen bir çalışmada 105 etken izole edilmiş, bu örneklerin % 2,9'u *T. pyogenes* olarak tanımlanmıştır (Ak 2000).

Tel ve ark (2009) Şanlıurfa yöresinde bulunan ineklerde, subklinik mastitis olgularının prevalansının belirlenmesi, mastitise neden olan etkenlerin izolasyonu, identifikasyonu ve bunların antibiyotiklere duyarlılıklarının saptanması amaçladıkları çalışmalarında izole ettikleri diğör bakterilerin yanı sıra 15 adet (% 5.8) *T. pyogenes* izole etmişlerdir. Türütöğlu ve ark (1995) ise Marmara bölgesinde incelemiş oldukları 1126 süt örneğinden % 0.6 oranında *T. pyogenes* tespit etmişlerdir. Konya yöresinde yapılan bir çalışmada CMT pozitif 125 meme lobundan alınan süt örneklerinden % 16.3 (Ateş ve ark 1991), Elazığ'da yapılan bir çalışmada (Muz ve ark. 1992) mastitisli 94 süt numunesinden % 5.3 *T. pyogenes* izole ve identifiye edilmiştir.

Norveç'te 1040 klinik mastitisli sütçü sığır üzerinde yapılan bir çalışmada izole edilen etkenler arasında *T. pyogenes*'in yüzdesi 3.5 olarak tespit edilmiştir. Waage'nin yaptığı çalışma sonuçlarına göre doğumdan önce görölen mastitlerde *T. pyogenes*'in görölme sıklığı % 8,2 iken doğumdan sonra bu yüzde % 2,7 seviyelerine gerilemektedir. Yaptıkları çalışma sonuçlarına göre *Staphylococcus aureus* ve *T. pyogenes*'e bağıli mastitler ağıustos sonundan kışa geçiş aylarına kadar görölmektedir (Waage ve ark 1999).

Araştırma sonuçlarımıza göre elde edile % 8'lik izolasyon oranının, ölkemizde yapılan diğör araştırmalar ile karşılaştırıldığında yüksek olmasının sebebi, Bölgemiz hava koşullarında yaz aylarının diğör yörelere oranla daha sıcak ve nemli geçmesinden kaynaklanmaktadır.

Jousimies-Somer 1996 yılında yaptıkları bir araştırmada yaz mastitisine yakalanan 20 inek ve 3 düve den 32 aerobik, 37 de anaerobik bakteri izole etmişler, bunlardan da 16 sının *T. pyogenes* olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmalarında izole ettikleri tüm aerobik bakteriler yapmış oldukları antibiyotik duyarlılık testlerinde penisilin G, amoksisilin,

amoksisilin-klovulanat, sefositin, klindamisin ve kloramfenikol'e karşı duyarlı bulunmuşlardır.

Zastempowska ve Lassa (2012) Yaz mastitis etkeni olan *T. pyogenes*'in genotipik karakterizasyonu ve antimikrobiyallere karşı dirençliliklerini inceledikleri araştırmalarında kullandıkları 55 izolatın % 74.5'i (41 izolat) tetrasiklin'e karşı dirençli bulunmuş, eritromisin'e karşı % 9.1'i (5 izolat) tam dirençli, 1 izolat ise orta düzey dirençli olarak tespit edilmiştir. Bunun yanında araştırmada kullanılan izolatlardan hiçbirisinin penisilin, ampisilin, sefalotin, ceftiofur ve penisilin-novobiosin kombinasyonu gibi β -lactam grubu antibiyotiklere karşı direnç göstermediği rapor edilmiştir. İzolatlardan 6 tanesinin (% 10.9) ise eritromisin-pirilmisin-tetrasiklin çoklu ilaç direncine sahip olduğu bildirilmiştir.

Araştırmamız sonuçlarına göre ise 12 adet suşun tamamı Penisilin/Novobiosin, Danofloksasin, Oksitetrasiklin, Kanamisin/Sefaleksim ve Sülfamethaksazol-Timethoprim'e dirençli bulunmuştur. Sefaperazon ve Kolistin sülfat'a 9 ar suş dirençli, 3'er suş duyarlı, Linkomisin'e 3 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 6 suş duyarlı, Amoksisilin klovulanik asit'e 3 suş dirençli, 6 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş duyarlı, Eritromisin'e 9 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı, Seftifor'a 6 suş dirençli, 6 suş duyarlı ve Florfenikol'e ise 6 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş ise duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Literatür incelemesi yapıldığında araştırmamızda odaklandığımız ve yaz mastitislerinden sorumlu tutulan *T. pyogenes* bakterisinin direkt olarak incelenerek antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirildiği çalışma sayısı oldukça azdır. Bunun nedeninin etkene çok fazla miktarlarda rastlanılmamış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Hayvan sağlığı açısından değerlendirildiğinde etkene az sayıda rastlanılsa bile hastalık nedeni olduğu için önemsenmektedir.

5. SONUÇ

Araştırmada toplam 150 mastitisli süt örneğinden 12 (% 8) adet *T. pyogenes* suşu izole ve identifiye edilmiştir.

İzole ve identifiye edilen *T. pyogenes* suşlarına yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda 12 adet suşun tamamı Penisilin/Novobiosin, Danofloksasin, Oksitetrasiklin, Kanamisin/Sefaleksine ve Sülfamethaksazol-Timethoprim'e dirençli bulunmuştur. Sefaperazon ve Kolistin sülfat'a 9 ar suş dirençli, 3'er suş duyarlı, Linkomisine 3 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 6 suş duyarlı, Amoksisilin klovulanik asit'e 3 suş dirençli, 6 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş duyarlı, Eritromisine 9 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı, Seftifor'a 6 suş dirençli, 6 suş duyarlı ve Florfenikol'e ise 6 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş ise duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak yapılan araştırma ile sığırlarda yaz aylarında görülen ve inatçı mastitis vakalarına sebep olan *T. pyogenes* bakterisinin ilimizde görülme oranı hakkında fikir elde edilmiş olup, yapılan antibiyogramlarda izole edilen etkenlerin veteriner sahada kullanılan birçok antibiyotiğe karşı oldukça dirençli olduğu ortaya konmuştur.

ÖZET

Sığırların Yaz Mastitislerinden *Trueperella pyogenes*'in İdentifikasyonu ve antibiyotiklere dirençliliklerinin belirlenmesi

Bu çalışmada Aydın ilinde görülen sığırların yaz mastitislerinden *Trueperella pyogenes*'in identifikasyonu ve antibiyotiklere dirençliliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada Aydın ili ve çevresinde bulunan çeşitli odaklardan yaz aylarında (Haziran-Temmuz-Ağustos) toplanan 150 adet mastitisli süt örneği incelenmiştir. Alınan örnekler soğuk zincir altında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Rutin Teşhis laboratuvarına getirilmiş ve besiyerlerine ekimleri yapılmıştır. Daha sonra 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Daha sonra yapılan Gram boyama sonrası Gram pozitif bakteriler ayırt edilmiş ve izole edilen bu bakterilerin biyokimyasal yöntemlere göre identifikasyonu yapılmıştır. Araştırmada kullanılan toplam 150 mastitisli süt örneğinden 12 (% 8) adet *P. aeruginosa* suşu izole ve identifiye edilmiştir. İzole ve identifiye edilen *T. pyogenes* suşlarına yapılan antibiyotik duyarlılık testleri sonucunda 12 adet suşun tamamı Penisilin/Novobiosin, Danofloksasin, Oksitetrasiklin, Kanamisin/Sefaleksim ve Sülfamethaksazol-Timethoprim'e dirençli bulunmuştur. Sefaperazon ve Kolistin sülfat'a 9 ar suş dirençli, 3'er suş duyarlı, Linkomisin'e 3 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 6 suş duyarlı, Amoksisilin klavulanik asit'e 3 suş dirençli, 6 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş duyarlı, Eritromisin'e 9 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı, Seftifor'a 6 suş dirençli, 6 suş duyarlı ve Florfenikol'e ise 6 suş dirençli, 3 suş orta düzey duyarlı ve 3 suş ise duyarlı olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak Aydın ilinde görülen yaz mastitislerinden *T. pyogenes*'in izolasyonu ve identifikasyonları yapılmıştır. Yapılan antibiyogram testleri sonucu etkenin bir çok antibiyotiğe karşı direnç geliştirdiği tespit edilmiştir. Bu tip mastitis olgularında sağaltımda başarı elde edilebilmesi için antibiyogram testlerinin yapılıp, bilinçli bir antibiyotik seçimine gidilmesinin doğru bir yaklaşım olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Yaz Mastitisi, *Trueperella pyogenes*, antibiyotik dirençliliği

SUMMARY

Identification of *Trueperella pyogenes* from Bovine Summer Mastitis and Detection of Antibiotic resistances

The aim of this study were isolation of summer mastitis factor *Trueperella pyogenes* from mastitic cattles in Aydin and determination of antibiotic resistances of that isolated factors.

In this study, 150 mastitic milk samples were analyzed in Aydin province in summer season (Jun-July-August). Collected samples were brought to The Routine Diagnostic Laboratory of Microbiology Department, Veterinary Faculty, Adnan Menderes University under cold chain. Then was allowed to incubate for 24 hours at 37 °C. After that, Gram positive bacterias are separated by using Gram Staining and isolated bacterias were identified based on biochemical assays. Of the 150 analyzed mastitic milk samples, 12 *Trueperella pyogenes* strains (% 8) were isolated and identified. All the studied strains were found resistant to Penicillin/Novobiocin, Danofloxacin, Oxytetracycline, Kanamycin/Cephalexin and Sulfamethoxazole-Trimethoprim (100 %). Nine strains were found resistant to Cefoperazone and Colistin sulphate, while three strains were sensitive. Resistant 3 strains, moderately sensitive 3 strains and sensitive 6 strains were present against Linmycine/Neomycin. Resistance to Amoxycillin Clavulanic Acid, Erythromycin, Ceftiofur and Florphenicol occurred in 3, 9, 6 and 6 strains, respectively. As 6, 3 and 3 strains were determined moderately sensitive to Amoxycillin Clavulanic Acid, Erythromycin and Florphenicol, in the same order. Sensitive strains were also existing to Amoxycillin Clavulanic Acid, Ceftiofur and Florfenikol in the amount of 3, 6 and 3.

As a result of this study, isolation and identification of *T. pyogenes* from summer mastitis cases were performed in Aydin province. Antibigram tests showed that *T. pyogenes* were developed resistance to many antibiotics. It is concluded that for the success in mastitis treatment, antibiogram tests should be performed before antibiotic decision.

Key words: Summer Mastitis, *Trueperella pyogenes*, antibiotic resistance

KAYNAKLAR

Ahl AS, Gibson CD, Kirk JH, Kaneene JB, Ahl JG. Cost of mastitis and its prevention in four dairy cattle herds on St. Croix, US Virgin Islands. Food Animal Economics, Journal of American Veterinarian Medicine Association, 1989; 194 (10), 1418-1421. 1989

Ak S. Trakya Yöresinde Sığır Mastitisinden Sorumlu Bulaşıcı ve Çevresel Bakteriyel Etkenler ve. Antibiyotiklere Duyarlılıkları. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2000; 26(2), 353-365

Alaçam E, Dinç, DA, Erganiş O, Tekeli T, Uçan US. Sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde kuru dönemde antibiyotik uygulamalarının etkisi. Journal of Veterinarian Animal Science, 1994; 18, 241-250

Alaçam E, Tekeli T, Sezen Y, Erganiş O. Sütçü İneklerin Subklinik Mastitislerinde Cefoperazone'un Etkisi Üzerinde Çalışma. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 1986; 2: 65-74

Anonim. Summer mastitis, <http://www.dairyco.org.uk/technical-information/animal-health-welfare/mastitis/working-arena-prevention-of-infection/summer-mastitis-the-warmer-months/> (Erişim Tarihi, 15.01.2013)

Atasever S, Erdem H. An investigation on the determination of mastitis risk levels and milk production traits in Holstein cows. Journal of Applied Animal Research, 2008; 34: 13-16

Atasever S, Erdem H. Süt sığırlarında mastitis ile sütün elektriksel iletkenliği arasındaki ilişkiler, OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi/ J. of Fac. Of Agric., 2008; 23(2): 131-136

Ateş M, Erganiş O, Çorlu M, Serpek B. Konya yöresindeki mastitisli ineklerden elde edilen süt örneklerinin mikrobiyel florası ve LDH aktivitesi. Turkish Journal of Veterinary Animal Science. 1991; 16: 19-29

Bademkıran S, Yeşilmen S, Gürbulak K. Sütçü İneklerde Günlük sağım sayısının Klinik Mastitis ve Süt Verimi Üzerine Etkisi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2005; 16(2): 17-21

Berry E, Booth J. Summer mastitis in England and Wales: 1992-1997. Veterinary Record., 1999; 145, 469

Bilgehan H. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Fakülteler Kitapevi, 1995; 2. Basım

Billington SJ, Post KW, Jost BH. Isolation of Arcanobacterium (Actinomyces) pyogenes from cases of feline otitis externa and canine cystitis. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2002; 14:159–162

Bishop JR, Bodine AB, Janzen JJ. Sensivities to Antibiotics and Seasonal Occurence of Mastitis Pathogens. Journal of Dairy Science. 1980; 63, 7, 1134-1137

Blood DC, Henderson JA, Radostits OM. Veterinary Medicine: A Textbook of The Diseases of Cattle, Sheep, Pigs and Horses. Bailliere Tindall, London 1979

Blowey R, Edmondson P. Mastitis-Causes, Epidemiology and Control. In: Mastitis Control in Dairy Herds. Publish.Farming Press. Books. 1995a NY. USA. p.:27-35

Blowey R, Edmondson, P. Diseases of the Udder and Teat. In: *Mastitis Control in Dairy Herds*. Publish.Farming Press. Books. NY. USA. 1995b p:176-181

Botts RL, Hemken RW, Bull LS. Protein reserves in the lactating dairy cow. Journal of Dairy Science. 1999; 62:433–440

Bramley AI, Dodd FH. Reviews of the progres of dairy science : mastitis control-progress and prospects. Journal of Dairy Research. 1984; 51, 481-512

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. Approved Standard, CLSI Document M31-A2, second ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002; Wayne, PA

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard CLSI Document M2-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2003; Wayne, PA

Çetinkaya B, Açık N, Karahan M, Taşdemir M, Kalın R, Koç O. *Mastitisli İnek Sütlerinde Önemli Patojenlerin Direkt Tespiti İçin Bir Multipleks Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemini Geliştirilmesi*, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Hayvan sağlığı Araştırmaları Program Değerlendirme Toplantısı, sonuçlanmış projeler:132-147 Dakota State University NDSU Extension Service. 2011; 7: 1–6

De Graves FJ, Fetrow J. Economics of mastitis and mastitis control. Veterinary Clinic North American Food and Animal Practice. 1993; 9:421–434

Deveci H, Apaydın A.M, Kalkan C, Öcal H. Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları (1. Baskı) Fırat Üniversitesi Basımevi, 1994; Elazığ

Erer H, Ateş M, Kıran MM, Çiftçi MK, Kaya O. İneklerde Mastitislerin Patolojik ve Bakteriyolojik İncelenmesi. Veteriner Bilimleri Dergisi 1996; 12: 123-133

Ertaş HB, Kılıç A, Özbey G, Muz A. Isolation of Arcanobacterium (Actynomyces) pyogenes from abcessed kidney and identification by PCR. Turkish Journal of Veterinary Animal Science. 2005; 29, 455-459

Gouletsou PG, Ethenakis GC, Tzora A, Cripps PJ, Saratsis P. Isolation of Arcanobacterium pyogenes from the scrotal skin and the prepuce of healthy rams or from rams with testicular abnormalities. Small Ruminant Research. 2006; 63, 177-182, 2006.

Guidry AJ. Mastitis and the Immun system of the Mammary Gland. 229-258. Ed. B. L. Larson. In: “Lactation”. 1985; The Iowa State Univesty Press/Ames.

Harmon RJ. Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science*. 1994; 77,7, 2103-2112

Jain NC. Common Mammary Pathogenes and FACTORS in Infection and Mastitis. *Journal of Dairy Science*. 1979; 62,1, 128-134

Jousimies-Somer H, Pyorala S, Kanervo A. Susceptibilities of bovine summer mastitis bacteria to antimicrobial agents. *Antimicrobial Agent Chemotherapy*. 1996; 40, 157-160

Keefe GP. *Streptococcus agalactia* mastitis: A Review. *Canadian Veterinay Journal*. 1997; 38, July, 429-437

Koneman E, Allen WM, Jonda PC, Schreckenberger WC, Winn JR. *Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology*. 1997; 5. Edi., pp. 268

Lassen J. Rapid Identification of Gram Negative Rods Using Three Tube Methods Combined with Dictiomic key. *Acta Pathology Microbiology Scandinavica*. 1975; 83, 525-532

McDonald JS. Bovine Mastitis: Introductory Remarks. *Journal of Dairy Science*. 1979; 62,1, 117-118

Meiri-Bendek I, Lipkin E, Friedman A, Leitner G, Saran A, Friedman S, Kashi YA. PCR-Based Method for the Detection of *Streptococcus agalactiae* in Milk, *Journal of Dairy Science*. 2002; 85, 1717-1723

Miller A, Williams EJ, Sibley K, Herath S, Lane EA, Fishwick J, Nash DM, Rycroft AN, Dobson H, Bryant CE, Sheldon IM. The effects of *Arcanobacterium pyogenes* on endometrial function in vitro, and on uterine and ovarian function in vivo. *Theriogenol*. 2007; 68, 972-980

Muz A, Gülcü HB, Ertaş H.B, Kalender H. Mastitisli inek sütlerinden izole edilen mikroorganizmaların identifikasyonları ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerinde bir araştırma. F.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi. 1992; 6: 113-121

Nagaraja TG, Beharka AB, Chengappa MM, Carroll LH, Raun AP, Laudert SB, Parrott JC. Bacterial flora of liver abscesses in feedlot cattle fed tylosin or no tylosin. Journal of Animal Science. 1999; 77, 973-978.

Nagaraja TG, Chengappa MM. Liver abscesses in feedlot cattle: A review. Journal of Animal Science. 1998; 76, 287-298

Narayanan S, Nagaraja TG, Staats J, Chengappa MM, Obersts RD. Biochemical and biological characterizations and ribotyping of *Actinomyces pyogenes* and *Actinomyces pyogenes*-like organisms from liver abscesses in cattle. Veterinary Microbiology. 1998; 61, 289-303

National Mastitis Council. Current concepts of bovine mastitis. Fourth Edition. NMC 2820 Walton Commons West Madison. 1996; WI 53704

Natzke RP. Elements of Mastitis Control. Journal of Dairy Science. 1981; 64, 6 ,1431-1442

Nolte O, Morscher J, Weiss HE, Sonntag HG. Auto-vaccination of dairy cows to treat post partum metritis caused by *Actinomyces pyogenes*. Vaccine 2001; 19, 3146-3153.

Oliver SP, Gillespie BE, Jayarao BM. Detection of new and persistent *Streptococcus uberis* and *Streptococcus dysgalactiae* Intramammary Infections by polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. FEMS Microbiology Letters 1998; 160: 69-73

Oliver SP, Lewis MJ, Gillespie BE, Dowlen HH. Influence of prepartum antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers during early lactation. Journal of Dairy Science. 1992; 75:406-414

Østeras O, Solverod L, Reksen O. Milk culture results in a large norwegian survey-effects of season, parity, days in milk, resistance, and clustering milk culture results in a large Norwegian. *Journal of Dairy Science*. 2006; 89: 1010-1023

Philpot WN, Nickerson SC. *Mastitis : Caunter attack*, published and distributed by Babson Bros Co. 1880, Country Farm Driv, Naperville, Illinois 60563, 1991; USA

Pyorala S, Syvajarvi J. Bovine acute mastitis. Part I. Clinical aspects and parameters of inflammation in mastitis caused by different pathogens. *Journal of Veterinary Medicine B*. 1987; 34: 373-584

Sampimon OC, Barkema HW, Berends IMGA, Sol J, Lam TJGM. Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Dutch dairy herds. *Veterinary Microbiology*. 2009; 134, 37–44

Sandholm M. A critical view on antibacterial mastitis therapy. In: Sandholm,M., Honkanen-Buzalski, T., Kaartinen, L. and Pyörälä, S. (Eds.), *The bovine udder and mastitis*. University of Helsinki, Finland, 1995; pp. 169-186

Schalm OW, Carroll EJ, Jain NC. *Bovine Mastitis*. First Ed., Lea-Febiger, 1971; London

Schroeder JW. Clinical Mastitis can Affect Reproductive Performance. North Dakota State University NDSU Extension Service. 1997; 7 (4):1–6.

Seimiya YM, Takahashi M, Tamura T, Murakumi R, Haritani M, Kimura KM. Fibrinonecrotic rhinitis caused by a concurrent infection of *Fusobacterium necrophorum* and *Arcanobacterium pyogenes* in a cow. *Journal of Veterinary Medicine Science*. 2004; 66, 985-987

Shearer JK, Harmon RJ. Mastitis in heifers. *Veterinary Clinic North America Food and Animal Practice*. 1993; 9, 583-595

Silva EM, Gaivão SL, Jost BH, Carneiro C, Vilela CL, Lopes da Costa L, Mateus L. “Genomic Characterization of *Arcanobacterium pyogenes* Isolates Recovered from the

Uterus of Dairy Cows with Normal Puerperium or Clinical Metritis.” Veterinary Microbiology. 2008; 132: 111-8

Simpson RB, Wesen DP, Anderson KL, Armstrong JD, Harvey RW. Subclinical mastitis and milk production in primiparous simmental cows. Journal of Animal Science. 1995; 73, 1552-1558

Tel OY, Keskin O, Zonturlu AK, Kaya NBA. Şanlıurfa Yöresinde Subklinik Mastitislerin Görülme Oranı, Aerobik Bakteri İzolasyonu ve Duyarlı Antibiyotiklerin Belirlenmesi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2009; Cilt 23, Sayı 2, Sayfa(lar) 101-106.

Tmanova L. Detection of Mycoplasma bovis, Staphylococcus aureus, and Streptococcus agalactiae by PCR directly from milk. MS. Thesis, The Pennsylvania State University. 2003; University Park, PA 16802

Topçu Y. Süt sığırcılığı işletmelerinde başarıyı etkileyen faktörlerin analizi: Erzurum ili örneği. OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi. 2008; 23, 17-24

Türütoğlu H, Ateşoğlu A, Salihoğlu H, Öztürk M. Marmara bölgesi süt ineklerinde mastitise neden olan aerobik etkenler. Pendik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi. 1995; 26: 125-137

Vehmas T, Sandholm M. The bovine udder and mastitis: Balance between bacteria and host-The bacteria's point of view. Univ. of Helsinki, Faculty of vet. Med. ISBN: 951-834-047-1. 1995; pp 49-74

Waage S, Mork T, Roros A, Aasland D, Hunshamar, A, Odegaard S.A. Bacteria Associated with Clinical Mastitis in Dairy Heifers, Journal of Dairy Science. 1999; 82(4): 712-719

Zadoks R. Environmental Mastitis. Part 1. Nodpa News. 2004; 4: 13-14

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Samsun'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Samsun'da tamamladım. 2009 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldum. Aydın Gıda Tarım ve Hayvancılık İl Müdürlüğüne 2011 yılında Veteriner Hekim olarak atandım. 2012 yılının ocak ayında Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım.

Sunulan tezden elde edilen yayınlar:

Uluışık U, Erbaş G (2014). Sığırların Yaz Mastitislerinde *Trueperella pyogenes*'in İdentifikasyonu ve Antibiyotiklere Dirençliliklerinin Belirlenmesi. 11. Ulusal Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı). 21-24 Ekim 2014 Antalya.

TEŞEKKÜR

Tez konusunun seçimi ve çalışmalarımın yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, çalışma süresince bana olan güveni ve eşsiz yardımları için tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Göksel ERBAŞ'a, laboratuvar çalışmalarımda her türlü olanağı bana sunan ve çalışmamın titizlikle yürütülmesinde yardımcı olan Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Osman KAYA ve Prof. Dr. Şükrü KIRKAN, Doç. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ, Doç. Dr. Serap SAVAŞAN, Yrd. Doç. Dr. Uğur PARIN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez sürecinde yükümü alan, ilgi ve sevgisini esirgemeyerek bana destek olan Ezgi OCAK'a; hayatımda her zaman yanımda hissettiğim kıymetli annem, babam, kardeşim ve abime teşekkür ediyorum.

Ayrıca; çalışmalarımındaki katkıları için Veteriner Hekim Neşe UÇAN'a teşekkür ederim.