

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ (VETERİNER)
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

AYDIN İLİ SÖKE İLÇESİNDE
SİYAH-ALACA SÜTÇÜ İNEKLERDE SUBKLİNİK MASTİTİS
PREVALANSININ BELİRLENMESİ

ÖZKAN ÇELİK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-18036 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doğum ve Jinekoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Özkan ÇELİK tarafından hazırlanan “Aydın İli Söke İlçesinde Siyah-Alaca Sütçü İneklerde Subklinik Mastitis Prevalansının Belirlenmesi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 16/01/2020

Üye (T.D.)	: Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN	Aydın Adnan Menderes
		Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Güneş ERDOĞAN	Aydın Adnan Menderes
		Üniversitesi
Üye	: Prof. Dr. Mehmet Can GÜNDÜZ	İstanbul Üniversitesi-
		Cerrahpaşa

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cavit KUM
Enstitü Müdürü V.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN'e çok teşekkür ederim. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Bayazıt MUSAL, Prof. Dr. Güneş ERDOĞAN, Prof. Dr. Hakkı Bülent BECERİKLİSOY, Dr. Öğr. Üyesi Bilginer TUNA, Dr. Eyyüp Hakan UÇAR ve Dr. Cevdet PEKER'e; mikrobiyolojik analizler konusunda yardımcı olan Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Prof. Dr. Süheyla TÜRKYILMAZ ve Doktora öğrencisi Erdem SUR'a; istatistik değerlendirmede bilgilerinden faydalandığım Prof. Dr. Erbay BARDAKÇIOĞLU ve Dr. Mehmet KAYA'ya; bu tez projesini maddi olarak destekleyen Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için aileme şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Mastitis.....	4
2.1.1. Mastitislerin Yangısal Reaksiyona Göre Sınıflandırılması.....	4
2.1.1.1. Klinik mastitisler.....	4
2.1.1.1.1. Perakut mastitis.....	4
2.1.1.1.2. Akut mastitis.....	5
2.1.1.1.3. Subakut mastitis.....	5
2.1.1.1.4. Kronik mastitis.....	5
2.1.1.2. Subklinik mastitis.....	5
2.1.1.2.1. Subklinik mastitislerde tanı.....	6
2.1.1.2.1.1. Somatik hücre sayısının belirlenmesi.....	6
2.1.1.2.1.1.1. California mastitis test.....	8
2.1.1.2.1.1.2. Otomatik somatik hücre sayımı.....	10
2.1.1.2.1.1.3. Mikroskopik sayım yöntemi.....	11
2.1.1.2.1.2. Diğer yöntemler ile subklinik mastitisin teşhisi.....	11
2.1.1.2.1.2.1. Biyokimyasal yöntemler.....	11
2.1.1.2.1.2.2. Sütün pH'sını ölçerek subklinik mastitisin teşhisi.....	12
2.1.1.2.1.2.3. Sütün elektriksel iletkenliğinin ölçülmesi.....	12
2.1.2. Mastitislere Neden Olan Mikroorganizmalar.....	13
2.1.2.1. Bulaşıcı mikroorganizmalar.....	13
2.1.2.2. Çevresel mikroorganizmalar.....	14

2.2. Moleküler İdentifikasyon.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
3.1. Gereç.....	16
3.1.1. Besiyerleri.....	16
3.1.1.1. Kanlı agar (Oxoid, CM0271).....	16
3.1.2. Solüsyonlar.....	17
3.1.2.1. EDTA (0,5 M).....	17
3.1.2.2. TBE buffer (pH: 8.0).....	17
3.1.3. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	17
3.1.3.1. Kullanılan cihazlar.....	17
3.1.3.2. Primerler.....	18
3.1.3.3. MgCl ₂ , Taq DNA Polymerase, 10X TaqBuffer, dNTP Set.....	18
3.1.3.4. Marker.....	18
3.1.2.5. Agarose jel hazırlanışı (%1 ve 2'lik).....	18
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. Süt Örneklerinin Alınması.....	19
3.2.2. Bakteriyel İzolasyon.....	19
3.2.3. DNA Ekstraksiyonu, Saflık ve Miktar Tayinleri.....	19
3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	20
3.2.5. Örneklerin Yüklenmesi.....	20
3.2.6. Yürütme ve Görüntüleme.....	20
3.2.7. Moleküler İdentifikasyon.....	21
3.3. İstatistiki Test.....	22
4. BULGULAR.....	23
4.1. California Mastitis Test (CMT) Bulguları.....	23
4.1.1. Yaşa Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirmesi.....	23
4.1.2. Laktasyon Ayına Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirmesi.....	24
4.1.3. İşletmelerin Bulunduğu Mahallelere Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirmesi..	25
4.1.4. İşletmelerin Altlık Yapısına Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	26
4.1.5. İşletmelerin Sağım Sistemine Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirmesi.....	27
4.2. Mikrobiyolojik Bulgular.....	29
4.2.1. Moleküler İdentifikasyon.....	29
4.2.2. İzolasyon Bulguları.....	29

5. TARTIŞMA.....	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
KAYNAKLAR.....	41
Ek 1 (ADÜ HADYEK kararı).....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CMT	: California mastitis test
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksinükleosid trifosfat
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
ELİSA	: Enzyme-Linked immunosorbent assay
Hp	: Haptoglobulin
KNS	: Koagulaz negatif stafilokok
LDL	: Laktatdehidrojenaz
NAGase	: N-asetil- β -D-glukozaminidaz
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
rRNA	: Ribozomal ribonükleik asit
SAA	: Serum amiloid A
SHS	: Somatik hücre sayısı
TagDNA	: Thermus aquaticus Deoksiribonükleik asit
TBE	: Tris-Borate-EDTA
TUİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.	Bakterilerin 16S rRNA sekansına dayalı moleküler identifikasyonu.....	21
Resim 2.	16S universal primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR.....	29

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.	Türkiye'de ineklerden elde edilen sütün 2000-2018 yılları arasında karşılaştırılması.....	1
Tablo 2.	Türkiye'deki inek ırklarının 2000-2018 yılları arasındaki karşılaştırılması.....	1
Tablo 3.	Subklinik mastitis durumlarında inek sütündeki SHS değişimi.....	7
Tablo 4.	CMT bulgularının değerlendirilmesi.....	9
Tablo 5.	Subklinik mastitis vakalarında yaş gruplarına göre elde edilen veriler.....	24
Tablo 6.	Subklinik mastitis vakalarının laktasyon gruplarına göre elde edilen verileri.....	25
Tablo 7.	Subklinik mastitis vakalarının buldukları mahallelere göre incelenmesi.....	25
Tablo 8.	Buldukları işletme koşullarına göre Subklinik mastitisin değerlendirmesi.....	26
Tablo 9.	Bulduğu işletmenin koşullarına göre istatistik değerlendirmesi.....	27
Tablo 10.	Sağımhane sistemi gruplandırılarak yapılan subklinik mastitis değerlendirmesi.....	28
Tablo 11.	Sağımhane sistemine göre CMT sonucunun istatistiki değerlendirmesi.	28
Tablo 12.	İzole edilen örneklerdeki mikroorganizma üreme oranları.....	29
Tablo 13.	Mikrobiyolojik izolasyon ve identifikasyon sonucu elde edilen mikroorganizmalar.....	30
Tablo 14.	Çiftlik yapısına göre bakterilerin incelenmesi.....	31
Tablo 15.	Bulaşıcı mastitis etkenlerinin sağım sistemi ve altlık yapısına göre tespit edilen miktarları.....	31
Tablo 16.	Sağım sistemine göre mikroorganizma dağılımı.....	32

ÖZET

AYDIN İLİ SÖKE İLÇESİNDE SİYAH-ALACA SÜTÇÜ İNEKLERDE SUBKLİNİK MASTİTİS PREVALANSININ BELİRLENMESİ

Çelik Ö. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doğum ve Jinekoloji (Veteriner) Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2020.

Bu çalışmada, Aydın ili Söke ilçesinin farklı mahallelerinde bulunan Siyah-Alaca ineklerde subklinik mastitis oranının belirlenmesi ve subklinik mastitise neden olan bakterilerin moleküler (sekans analizi) identifikasyonun yapılması amaçlandı. Materyal olarak 312 baş Siyah-Alaca ineğin 1231 meme lobu kullanıldı. California Mastitis Test (CMT) sonucunda, ineklerin %72.44'ünün ve meme loblarının %46.63'ünün subklinik mastitisli olduğu belirlendi. Subklinik mastitisli inekler, yaş, laktasyon ayı, altlık yapısı, sağım sistemi ve buldukları mahallelere göre değerlendirildi. Yaş ve laktasyon ayının artışı subklinik mastitis için riskli olduğu düşünüldü. Sağım sisteminin subklinik mastitise etkisi yüzdesel olarak farklı bulunsa da istatistiksel olarak önemli olmadığı ($P>0.05$) gözlenirken; kauçuk altlığın kullanıldığı işletmelerde subklinik mastitisin önemli derecede azaldığı kaydedildi ($P<0.001$). CMT pozitif 226 inekten aseptik şartlarda alınan süt numunelerinin 128'inde (%56.64) patojen mikroorganizmalar tespit edilirken 98'inde (%43.36) üreme görülmedi ($P<0.05$). Yüzyirmisekiz numuneden, 178'inde mikroorganizma ürettiği, bunlardan 77'sinin (%43.75) bulaşıcı, 99'unun (%56.25) çevresel mastitis etkeni bakteri, 2'sinin ise maya olduğu tespit edildi. *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Bacillus spp.* ve koliform grubu bakterilerin en çok identifiye edilen türler olduğu görüldü. Altlık materyali olarak gübrenin kullanıldığı işletmelerde, çevresel mastitis etkenlerinin subklinik mastitiste başlıca risk faktörü olduğu tespit edildi. Farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda olduğu gibi Aydın ili Söke ilçesinde de subklinik mastitisin önemli bir sorun olduğu, ayrıca yetiştiricilerin hastalığın tanı, tedavi ve daha önemlisi koruma-kontrol yolları hakkında yeterli bilgiye sahip olmadıkları belirlendi. Belirli aralıklarla subklinik mastitis taraması yapılması, etken izolasyonu ve identifikasyonu ile mastitise karşı alınacak tedbirlerin işletmelerin karlılığı ve sürdürülebilirliği için önemli olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: California Mastitis Test, Moleküler identifikasyon, Subklinik mastitis

ABSTRACT

DETERMINATION OF SUBCLINICAL MASTITIS INCIDENCE IN HOLSTEIN DAIRY COWS IN SOKE SUBPROVINCE OF AYDIN

Çelik Ö. Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Obstetrics and Gynecology (Veterinary) Program, Master Thesis, Aydın, 2020.

The aim of this study was to determine the rate of subclinical mastitis in Holstein cows in different districts of Söke, Aydın and to identify molecular (sequence analysis) of bacteria causing subclinical mastitis. Materials and Methods: 1231 mammary lobes of 312 Holstein cows were used as material. California Mastitis Test (CMT) revealed that 72.44% of cows and 46.63% of mammary lobes had subclinical mastitis. Cows with subclinical mastitis were evaluated according to age, month of lactation, floor type, milking system and their location. The increase in age and month of lactation suggested that it was risky for subclinical mastitis. Although the effect of milking system on subclinical mastitis was found to be different in percentage, it was not statistically significant ($P > 0.05$). Subclinical mastitis was found to be significantly reduced in the barns where rubber (latex) mat was used as floor material ($P < 0.001$). Pathogens were detected in 128 (56.64%) of the milk samples taken from 226 CMT positive cows under aseptic conditions, whereas 98 (43.36%) of them had negative result ($P < 0.05$). It was determined that 178 microorganisms were produced from 128 samples, 77 (43.75%) of them were infectious, 99 (56.25%) of them were bacteria of environmental mastitis and 2 of them were yeast. *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. and coliform group were the most identified species. It was concluded that environmental mastitis agents were risk factors for subclinical mastitis in the dairy farms where fertilizer was used as a floor material. As in other studies, subclinical mastitis is an important problem in Söke district of Aydın and the breeders do not have enough information about the diagnosis, treatment and more importantly protection and control of the disease. It was concluded that subclinical mastitis screening at certain intervals, agent isolation and identification and measures to be taken against mastitis are important for the profitability and sustainability of the dairy farms.

Keywords: California Mastitis Test, Molecular identification, Subclinical mastitis

1.GİRİŞ

Süt sığırı işletmelerinde karlı bir üretim yapmak için kaliteli ve sağlıklı sütün elde edilmesi gerekmektedir (Atasever ve Erdem, 2008).

Sağlıklı ineklerden elde edilen sütün, insan beslenmesinde önemli besin değeri vardır (Tekeli, 2005). Dünya nüfusunun artmasıyla süt ve süt ürünlerine olan talep de artmaktadır. Bu talebi karşılamak için süt sığırı yetiştiricileri ve bilim adamları, hayvanlardan elde edilecek sütün birim hayvan başına olan miktarını, hayvan sayısını ve hastalıklar ile mücadelede daha verimli hayvanlar geliştirmek için birçok ıslah çalışmaları gerçekleştirmektedir. Türkiye'de 2018 yılı süt üretim verilerine göre elde edilen toplam 22.120.716 ton sütün, 20.036.716 (%90.6) tonu inek sütü olduğu ve süt veriminde olan yüzdelik düşüşlerin aslında önemli derecede ekonomik kayıplara karşılık geleceği dolayısıyla sütün üretim yeri olan meme dokusu sağlığının ne derecede önemli olduğunu ortaya koymaktadır (TUİK, 2019).

TUİK (2019) verilerinden yararlanılarak hazırlanan Tablo 1 ve Tablo 2'nin incelenmesi sonucu 2000 yılında birim hayvan başına yıllık süt üretimi 1.654 iken, 2018 yılında 3.161'e yükselmiştir. Bunun yükselişi, hayvan ırklarımızdaki olan seleksiyon ile kültür ırklarımız ve melezlerinin toplam hayvan sayısındaki oranının artması, küçük işletmelerin yerlerini yavaş yavaş daha büyük işletmelerin alması, bu sayede daha bilinçli ve korumaya yönelik olarak yapılan birçok uygulama ile sağlanmıştır.

Tablo 1. Türkiye'de ineklerden elde edilen sütün 2000-2018 yılları arasında karşılaştırılması

Yıl	İnek sayısı	Sağılan inek sayısı	Üretilen süt miktarı (ton)	Birim inek başına üretilen süt miktarı (ton)
2000	10.761.000	5.279.569	8.732.000	1.654
2018	17.042.506	6.337.907	20.036.716	3.161

Tablo 2. Türkiye'deki inek ırklarının 2000-2018 yılları arasındaki karşılaştırılması

Yıl	Kültür ırkı	Kültür melezi	Yerli ırk	Toplam
2000	1.806.000	4.738.000	4.217.000	10.761.000
2018	8.419.204	7.030.297	1.593.005	17.042.506

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de süt sığırı işletmelerinde önemli ekonomik kayıplara yol açan hastalıkların başında meme bezinde süt üretme özelliği gösteren hücrelerin bakteriyel, kimyasal, termal veya mekanik hasara karşı göstermiş olduğu yangısal reaksiyon olan mastitis gelir. Mastitisin; süt üretiminin düşmesi, sütün kalitesindeki değer kaybı, sütün satış değerindeki azalma, emek ve zaman kaybı, ilaç ve tedavi giderleri, elde edilen sütün dökülmesi, nüks oranının yüksek olması, ineğin sürüden erken çıkartılması (%21-39.4) gibi birçok ekonomik zararı vardır (Viguiet ve ark, 2009; Awale ve ark, 2012; Keskin, 2015; Guimaraes ve ark, 2017; Taponen ve ark, 2017; Hertl ve ark, 2018). Çek Cumhuriyetinde 1996-2003 yılları arasında yapılan bir çalışmada (Wolfova ve ark, 2006), düzenli olarak kayıt tutulan 5 holstein süt işletmesinde çeşitli hastalıkların tedavi giderlerinin %38'inden fazlasının sadece mastitise ayrıldığı ifade edilmektedir. Nielsen ve ark (1991) tarafından yapılan çalışmada, ilk laktasyon döneminde oluşan mastitisin işletmeye verdiği toplam ekonomik zararın %38'ini süt kaybı ve %46'sını veteriner hekim harcamaları oluşturduğunu hesaplamışlardır.

Süt ineklerinde subklinik mastitislerin sebep olduğu süt verim kayıpları, California Mastitis Test (CMT) skorunun +1, +2, +3 gibi farklı derecelerinde sırasıyla günlük %1.2-6.8, %6.3-14.1, %18.9-33 oranında olduğu görülmüştür (Yalçın ve ark, 2000; Yalçın, 2001; Mungube ve ark, 2005). Mungube ve ark, (2005) herhangi bir CMT skoru seviyesinde yıllık ortalama %17.2 oranında süt üretiminde azalma olacağını hesaplamışlardır. Farklı ülkelerde birçok araştırmacının yapmış olduğu incelemelerde mastitisli ineklerin yıllık 250-1277 kg süt verim kaybına sebep olduğu belirlenmiştir (Mc Donald, 1979; Lucey ve ark, 1986; Hortet ve Seegers, 1998; Schepers ve Dijkhuizen, 1991; Mtallah ve ark, 2002).

Mastitislerin yol açtığı ekonomik kaybın inek başına yıllık 180-200 dolar olduğu ve bunun %70-80'i subklinik mastitisten kaynaklandığı belirtilmiştir (Özyurtlu, 2011). Fransa'da yapılan bir çalışmada Longo ve ark (2001) mastitis tedavisinde hayvan başına yıllık 148-218 dolar arasında harcama yapıldığı bildirilmiştir. Jasper (1982) Amerika Birleşik Devletlerinde, mastitis sebebiyle her yıl, inek başına 182 dolar ve toplamda iki milyar dolar zarar olduğunu bildirmiş, ABD'de yapılan başka bir çalışmada ise Seykora ve Mc Daniel (1985), mastitisin yıllık işletmeye 117.35 dolar ekonomik kayba yol açtığı belirlenmiştir. Ülkemizde ise mastitisin yıllık ekonomimize 41.5-57.7 milyon zararı olduğu tahmin edilmektedir (Mutluer, 2001; Gurbulak, 2009).

Bu derece önemli ekonomik kayıplara yol açan mastitis için meme dokusu tedavi edilebilen bir organ değil, korunması gereken bir organdır. Bu nedenle mastitis ile mücadelede bu hastalığın etkenlerinin çok iyi tanınması ve bunlara yönelik önlemlerin alınması gerekmektedir (Vural ve ark, 2016).

Aydın ili Söke ilçesinde yapılan bu çalışmada, süt hayvancılığı yapan işletmelerde subklinik mastitis oranını ortaya çıkarmak ve subklinik mastitise neden olan mikroorganizmaları tespit ederek yetiştiriciyi bilinçlendirip daha karlı bir hayvancılığın yapılmasını sağlamak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mastitis

En önemli etkeni mikroorganizmalar olmak üzere, kimyasal, termal veya mekanik hasara karşı meme bezinin gösterdiği yangısal reaksiyona mastitis denir. Etkeni mikroorganizmalar olan mastitisler enfeksiyöz, fiziksel travmaya bağlı olan mastitisler non-enfeksiyöz mastitis olarak sınıflandırılır (Baştan, 2019).

2.1.1. Mastitislerin Yangısal Reaksiyona Göre Sınıflandırılması

Mastitis yangısal reaksiyonun şiddetine göre klinik ve subklinik olarak ikiye ayrılır.

2.1.1.1. Klinik mastitisler

Klinik mastitis sütte ve memede göz ile görülür değişiklikler ile kendini gösteren bazen sistemik belirtileri de olan mastitistir. Perakut, akut, subakut ve kronik mastitis olarak 4 başlık altında incelenir.

2.1.1.1.1. Perakut mastitis

Nadiren rastlanan, memede ani şişlik, ciddi yangı belirtileri ve sütün seröz özellik kazanmasıyla; septisemi, toksemi, iştahsızlık, dehidrasyon, rumen atonisi ve beden ısısındaki artış ile sistemik belirtileri ortaya çıkaran, ineğin yaşamı için acil tedavi edilmesi gereken meme yangısına perakut mastitis denir (Vural ve ark, 2016).

2.1.1.1.2. Akut mastitis

Perakut mastitis de olduğu gibi ani başlar ancak oluşan yangının ve sistemik belirtilerin daha az olmasıyla perakut mastitisten ayrılan meme dokusunun şişmesi, kızarması, süt miktarının azalması ve genel durumun bozulması gibi belirtiler gösteren meme dokusu yangısına akut mastitis denir. Süt seröz görünümde ve içerisinde fibrin veya pıhtı bulundurur (Vural ve ark, 2016).

2.1.1.1.3. Subakut mastitis

Sistemik belirtilerin ve meme dokusunda yangı belirtilerinin çok belirgin olmadığı orta şiddetli meme dokusu yangısına subakut mastitis denir. Sütte küçük pıhtı ve flakonlar bulunur ve bazen sütün rengi de değişebilir (Baştan, 2019).

2.1.1.1.4. Kronik mastitis

Yangısal belirtileri subklinik mastitislere benzeyen fakat periyodik klinik parlamalar göstererek subakut veya akut forma dönüşebilen, bu aşamalarda tedavi edilmeye çalışılan ya da kesime sevk edilen meme dokusu yangısına kronik mastitis denir. Parañşim dokuda meydana getirdiği hasar sonucu hasarlı parañşim dokunun yerini bađ doku alır. Meme lobu atrofik ve sert görünümlüdür (National Mastitis Council, 1996).

2.1.1.2. Subklinik mastitis

Sütte ve memede göz ile görülür bir belirti olmayan ancak enfeksiyona neden olan patojenin meme dokusunda bulunarak süt verimi ve kalitesinde düşme meydana getirdiği, teşhisi özel tanı yöntemleri ile yapılan en önemli mastitis formudur. Klinik mastitislere 15-40 kat daha fazla oranda rastlanır. Klinik olarak bir belirti vermediğinden sürü içerisinde süratle yayılarak kısa sürede yakalanıp tedavi edilmezse, sürüdeki diğer hayvanlar için rezervuar görevi görür ve zamanla sürüde subklinik mastitis oranını artırarak önemli ekonomik kayıplara neden olur (Vural ve ark, 2016).

Subklinik mastitis tanısı için, California Mastitis Testi (CMT) ile yapılan taramalarda uygulama yapılan yöreye göre farklı değerler elde edilmiştir. Meme lobu dikkate alındığında, Trakya ve Marmara yöresinde %31.3-51.33, Akdeniz yöresinde %7.38-43, Güneydoğu Anadolu yöresinde %32.2, Doğu Anadolu yöresinde %7.84-29.32, İç Anadolu yöresinde %33.23-60.17, Karadeniz yöresinde %16.14 olduğu belirlenmiştir (Göktürk ve ark, 1998; Ergün ve ark, 2000; Rişvanlı ve Kalkan, 2001; Ergün ve ark, 2004; Gülcü ve Ertaş, 2004; Tel ve ark, 2009; Macun ve ark, 2011; Acar ve ark, 2012; Büyükcangaz ve ark, 2012; Çokal ve Konaş, 2012; Kaşıkçı ve ark, 2012; Yeşilmen ve ark, 2012; Özdemir ve Kaymaz, 2013; Koçyiğit ve ark, 2016; Saydan ve Kalkan, 2017; Özenç, 2019).

2.1.1.2.1 Subklinik mastitislerde tanı

Subklinik mastitis, süt, meme dokusu ve inekte gözle görülebilir bir değişiklik oluşturmamasından dolayı yetiştiriciler tarafından fark edilememektedir. Mastitisin bu şekli meydana getirdiği zararlar bakımından diğer tiplere nazaran daha fazla önem taşımaktadır. Özel tanı yöntemleri kullanılarak teşhis konulabilmektedir.

2.1.1.2.1.1. Somatik hücre sayısının (SHS) belirlenmesi

Meme dokusuna etki eden patojenlere yanıt olarak epitel hücreleri, nötrofilik polimorfnükleer lökositler ile az sayıda lenfositler, monositler ve makrofajlar sütte artarak somatik hücre sayısını (SHS) artırmaktadır. Somatik hücre genel olarak eşey hücrelerin dışında kalan tüm hücrelere denir. “Soma” Latince kökenli bir kelime olup vücut anlamını taşır. Somatik hücrelerin %25'ini epitel hücreleri, %75'ini lökositler oluşturur. Patojenler sonucu meydana gelen mastitis vakalarında süte daha çok nötrofiller (%90) göç ederek SHS'nın çoğunluğunu oluşturur. Ancak enfekte olmayan bir memede SHS'nın çoğunluğunu makrofajlar oluşturur (Öner, 2002; Olechnowicz ve Jaskowski, 2012; Deb ve ark, 2013).

Tablo 3. Subklinik mastitis durumlarında inek sütündeki SHS değişimi (Baştan, 2019).

Hücre tipi	Normal süt (%)	Subklinik mastitis (%)
Nötrofil	% 1-11	>%90
Makrofaj	% 66-88	% 2-10
Lenfosit	% 10-27	% 2-10
Epitel hücre	% 0-7	% 0-7

Sağım zamanının yaklaşmasıyla alveollere dolan sütün basıncı sonucu epitel hücreler ve lökositler hareketsiz kalır, sağım başlayınca alveollerdeki basınç azalarak epitel hücreler ve lökositler hareket etmeye başlar ve süt içerisinde serbest hale geçerek sağımın sonuna doğru sütteki SHS artış gösterir. Sağımdan birkaç saat sonra SHS yine yüksektir çünkü alveollerde süt üretimi yeni başlamış, serbest hale gelen epitel hücreler ve damarlardan diapedez şeklinde alveollere geçen lökositler, alveoller içi basınç az olduğu için serbest şekildedir. İki sağım bekleme aralığının yarısından sonra alveoller içi basınç, sütün birikmesiyle tekrardan artarak epitel hücrelerinin ve lökositlerin serbest kalmasını önler, sütteki SHS daha düşük olarak tespit edilir (Vural ve ark, 2016; Baştan, 2019).

Mastitis, mastitise yol açan mikroorganizmalar, laktasyon dönemi, enfekte meme lobu sayısı, ineğin yaşı, ırk, mevsim, coğrafik yerleşim, sağım sıklığı, süt verimi, günlük yönetsel değişiklikler, sütün ölçüm, taşınım ve depolama şekilleri gibi birçok parametreden SHS etkilenir (Aytekin ve Boztepe, 2014).

Laktasyonun ilk haftalarında sütteki SHS yüksek, ilerleyen haftalarda süt veriminin artmasıyla düşük, daha sonra laktasyonun sonuna doğru süt veriminin azalmasını takip ederek yeniden yüksek olarak tespit edilir. Sütteki SHS laktasyon sayısı ile da değişiklik gösterir; üçüncü ve daha sonraki laktasyonlardaki ölçümler ilk iki laktasyonda bulunanlara göre önemli derecede yüksek çıkmıştır (Kelly ve ark, 2000; Sergeant ve ark, 2001).

Memenin ve sütün sağlıklı olup olmadığı, SHS'nin düşük veya yüksek olması ile anlaşılabilir (Eyduran ve ark, 2005). Sağlıklı sütte SHS 200.000 hücre/ml'nin altındadır. Mastitisli sütlerde yangının derecesine göre bu sayı artış gösterir. SHS, CMT ile kontrol edildiğinde CMT (+1) sonuç verenlerde 300.000-500.000, CMT (+2) sonuç verenlerde 500.000-1.000.000, CMT (+3) sonuç verenlerde 1.000.000'dan fazla olduğu ancak tam olarak standardize edilmediği bildirilmektedir (Rişvanlı, 2002). SHS sağlıklı ineklerde genelde 100.000 hücre/ml'nin altındadır. Sayı 50.000 hücre/ml'den yüksek olduğunda ve her iki katlık

artışın da, ilk doğumunu yapan ineklerde 0.4 kg, birden fazla doğum yapan ineklerde 0.6 kg günlük süt verimi kaybı gözlenmiştir (Baştan, 2019).

Somatik hücre sayısı indirekt (CMT, Wisconsin Mastitis Test) ve direkt (Elektronik sayım cihazları, mikroskopik) yöntemlerle tespit edilir.

2.1.1.2.1.1.1 California mastitis test (CMT)

California Mastitis Testi (CMT), sütte bulunan somatik hücrelerin indirekt olarak tespiti prensibiyle 1957 yılında geliştirilmiştir (Sanford ve ark, 2006). Subklinik mastitislerin tespitinde kolayca uygulanabilen ve hızlı bir şekilde sayısal bir değer vermemekle birlikte hücre sayılarının düşük veya yüksek olduğu ön bilgisini veren ucuz bir SHS belirleme yöntemidir (Baştan, 2019).

Bu testte kullanılan reagentlar, içerisine solüsyonun rengi menekşe olması için pH indikatörü eklenmiş deterjanlardır. CMT reagentları ile süt yeteri miktarda karıştırıldığında, CMT reagentı lökositlerin yağdan oluşan hücre duvarını parçalar ve hücre çekirdeğinde bulunan DNA ile reaksiyona girerek jelatinöz bir yapı oluştururlar. Sütte bulunan lökosit sayısı ne kadar fazla ise oluşan jelin kıvamı o derece artar (Mellenberg, 2001).

Kullanılacak solüsyon, hazırlanabileceği gibi hazır ticari solüsyonları da vardır. 300 ml distile suya 1 gr brom creosol purple (BCP) eklenerek 1/300'lük stok solüsyonu hazırlanır. Daha sonra 100 ml anyonik deterjan üzerine 900 ml distile su deterjan köpürtülmeden eklenir. Bu solüsyon üzerine 50 ml BCP stok solüsyonu eklenerek bir cam çubuk yardımıyla karıştırılır. Köpükler kaybolana kadar solüsyon dinlendirilir. Daha sonra pH'sı (6.8 olmalıdır) kontrol edilir (Baştan, 2019). Deterjan reagent olarak, BCP ise pH indikatörü olarak solüsyonda etki gösterir (Piyorola, 2003).

Subklinik mastitis tanısında, CMT mutlaka sağımdan önce yapılmalıdır. Çünkü sağım öncesi alınan sütte somatik hücre sayısı azdır. Sağımdan önce CMT pozitif sonuç veriyorsa sağım sonrası da yine pozitif sonuç verecektir. Sağım sonrasındaki SHS ön sağımdakinden 2-3 kat daha fazladır. Yağlı sütlerde lökosit sayısı daha fazladır. Holstein ırkı inekte sağım öncesi %1 yağ iken sağım sonrası %10-13'tür (Baştan, 2019).

Testin uygulanışı; meme başları temizlendikten sonra ön sağım yapılarak meme başındaki ilk süt yere sağılır. CMT kabındaki dört ayrı bölmeye her memeden ayrı ayrı süt sağılır daha sonra kap 45 derecelik açı ile yan çevrilir her bölmede 2 ml süt kalacak şekilde ayarlanarak CMT kabı düz tutulur. Her bölmeye içerisindeki süt miktarı kadar (yaklaşık 2ml) CMT solüsyonu

ilave edilir. Karışım yaklaşık 10 sn boyunca daire hareketi yapacak şekilde çevrilir, karışımda jel oluşup oluşmadığı ve oluşan jelin yoğunluğu değerlendirilir (Rice, 1981; Vural ve ark, 2016). CMT sonuçlarının değerlendirilmesi Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. CMT bulgularının değerlendirilmesi (Schalm ve ark, 1971).

Sembol	Anlamı	Reaksiyonun tanımlanması	Yorumlama
-	Negatif	Süt karışımı tamamen sıvıdır.	0-200.000 hücre/ml %0-25 polimorf nükleer lökositler
Ş	Şüpheli	Başlangıçta hafif bir yapışkan kat gözlenir ancak süt karışımı çevirme hareketinin devamında tekrar sıvı forma dönüşür.	150.000-500.000 hücre/ml %30-40 polimorf nükleer lökositler
1	Zayıf	Yapışkan kat belirgindir. Fakat jel formuna geçiş olmaz. Test küreği eğildiğinde kolay akan süt karışımı daha yavaş akan ince bir kat izlenir.	400.000-1.500.000 hücre/ml %40-60 polimorf nükleer lökositler
2	Belirgin pozitif	Test küreği yatay bir düzlem içinde çevrildiğinde jel formu gözlemlenir..	800.000-5.000.000 hücre/ml %60-70 polimorf nükleer lökositler
3	Güçlü pozitif	Test küreği çevrilirken yapışkan kitlenin ortasında bir koni oluşur ve çevirme hareketleri durduğunda merkezde tepe oluşur.	5.000.000 hücre/ml üzeri %70-80 polimorf nükleer lökositler
+	Alkali süt (ph7.0 ve üzeridir)	Sütte koyu mor rengin olduğu belirgin alkali reaksiyonlarda CMT skora eklenmelidir.	Alkali reaksiyon sekrotorik aktivitenin baskılanması anlamına gelir. Bu durum yangının veya memenin kuruya çıkartılmasında oluşur.
Y	Asit süt	Brom Creosol Purple (BCP) pH5.2'de belirgin derecede sarı renklidir. Bu sembol karışım sarı renkli olduğunda CMT skoruna eklenmelidir.	Nadiren gözlemlenir. Meme dokusundaki bakterilerin etkisi ile laktozun fermentasyonu sonucu oluşur. Tüberkülozda karşılaşılabılır.

Bu tanı yönteminin avantajları; somatik hücre sayısı ölçümlerinde oldukça başarılı sonuçlar verir, öncelikli olarak bireysel meme lobundaki enfeksiyon hakkında bilgi verir. Kir, tüy ve gaita çekirdek içermediği için (DNA'da içermez) CMT sonucu etkilenmez, fazla ekipman gerektirmeyen, her uygulamadan sonra suyla basit bir şekilde temizlenebilen basit ve ucuz bir testtir. Tank sütü hakkında da bilgi sahibi yapar ancak Sanford ve ark (2006), ineklerde bireysel olarak enfeksiyonun varlığını tespit etmede etkili olsa da tank sütünde yapılan testlerde enfeksiyon varlığı hakkında net bilgi alınamadığı yönünde ifade belirtmiştir. Dezavantajları; test skorları uygulayıcı kişiye göre değişiklik gösterebilir bunun için mümkün olduğunca aynı kişi yorumlamalıdır, kesin sayılar olarak değil, test sonucu çıkan skorlar lökosit içeriğine göre oranlanır, inek kuru döneme yakın veya laktasyonun başlangıcında ise sıklıkla yanlış sonuçlar verebilir. CMT pozitif çıkan her meme lobu tedavi edilmemelidir. Çünkü SHS değeri 500.000 hücre/ml'den yüksek olan ineklerin sadece %60'ında mastitise neden olan mikroorganizmalar tespit edilmiştir (Rice, 1981; Philpot ve Nickerson, 1991).

Sürü bazında subklinik mastitisin teşhisi yanı sıra yeni satın alınan ineklerin meme sağlığı durumunu belirlemede, yapılan mastitis tedavisi sonucunu değerlendirmede, selektif kuru dönem tedavisi yapılacak ineklerde kuru döneme çıkışta enfeksiyon varlığını tespit etmede de CMT uygulanmaktadır (McFadden, 2011; Baştan, 2019).

2.1.1.2.1.1.2. Otomatik somatik hücre sayımı

Fossomatik yöntem; bu cihaz sıvı içerisindeki hücrelerin sayımında kullanılan otomatik bir mikroskoptur. Bu yöntem optik floresan prensibi ile sütteki SHS'nin belirlenmesinde kullanılır. Bu amaçla hücreler etidiyumbromit ile boyanır ve sonra yüksek enerjili ışık kaynağı ile uyarılırlar. Böylece hücreler karakteristik dalga boyunda ışıklar yaymaya başlarlar. Yayılan bu ışık enerjisi elektronik olarak saptanır ve her bir örnek için bir değer belirlenir. Hücrelerde oluşan floresan sinyalleri ölçülerek SHS tespit edilir. Bu yöntem hızlı ve otomatik olmasına rağmen ölçüm yapan cihaz pahalı ve kullanımı karmaşıktır (IDF, 1981; Viguiet ve ark, 2009).

SHS ölçümleri, genellikle mikroskopik yöntem ve Fossomatik yöntem gibi kantitatif yöntemler kullanılarak gerçekleştirilirdi. Son zamanlarda taşınabilir DeLaval hücre sayacı yöntemi de SHS belirlemek için kullanılmaktadır (Kawai ve ark, 2013). Bu yöntem optik floresan prensibi ile çalışır. Sütte bulunan somatik hücrelerin çekirdekleri propidiyumiyodit ile boyanarak ölçüm yapılır. Bu cihaz taşınabilirdir ancak nispeten pahalı bir testtir (Viguiet ve ark, 2009).

Coultercounter metodu; sıkıştırılmış küçük bir aralıktan geçen küçük partikülleri sayma prensibine dayanır. Bu yöntemde, sayım yapılmadan önce kazein ve yağ damlacıklarının çözülmesi için süt örnekleri sulandırılır. Daha sonra süt, iki elektrot arasında bulunan 100 mikronluk aralıktan geçirilerek bir voltaj pulsu oluşur. Bu pulsun sayısı delikten geçen partikül sayısını verir (IDF, 1981).

Flow sitometri; önemli avantajlarından birisi özellikle yağ globülleri içindeki hücreleri sayması olan, somatik hücreleri oldukça hızlı ve doğru sayan son yıllarda geliştirilmiş, sıkça tercih edilen bir somatik hücre sayısı sayım yöntemidir (Baştan, 2019).

2.1.1.2.1.1.3. Mikroskobik sayım yöntemi

Sitoloji tekniği zaman alıcı ve deneyim isteyen bir yöntem olup, inek sütünde yangısal reaksiyonun varlığını saptar. Canlı ve ölü hücrelerin aynı anda sayılması ve somatik hücre sayısı düşük olduğu örneklerde yanlış sayımlara yol açması en önemli dezavantajlarından (Baştan, 2019).

Direk mikroskobik hücre sayım yöntemi, uzun süren ve çok doğru sonuç alınamayan bir yöntem olduğu için günümüzde bunun yerini elektronik testler almıştır (Blowey ve Edmondson, 1995).

Test Simplets R metodu, mikroskop ile lökositlerin hızlı bir şekilde sayılması esasına dayanan, aynı zamanda süt içerisindeki hücre tipleri ve bakterilerin de kolaylıkla ayırt edildiği bir yöntemdir. Lam üzerine on mikrolitre (uL) süt damlatır ve yayılır, 15 dakika beklenir ve mikroskopta sayım için hazır hale gelir (Baştan, 2019).

2.1.1.2.1.2. Diğer yöntemler ile subklinik mastitisin teşhisi

2.1.1.2.1.2.1. Biyokimyasal yöntemler

Haptoglobin (Hp) ve serum amiloid A (SAA) iki en hassas akut faz proteindir ve özellikle *E. coli*'nin neden olduğu klinik ve subklinik mastitisli ineklerde sütteki konsantrasyonları artar. Günümüzde ELISA bazlı spesifik biyokimyasal kitler mevcuttur. Alfa 1 asit-glikoprotein de akut faz proteindir, ancak yangılarda bu proteinin artışı yavaş ve azdır.

Bu nedenle bu proteindeki artış kronik yangıların bir göstergesidir (Grönlund ve ark, 2005; Çoşkun ve Şen, 2011; Baştan, 2019).

Meme dokusundaki yangısal reaksiyon ile postkapillar venlerin endotel hücreleri arasındaki porların büyümesi sonucu sütte belirlenebilen ilk proteinler albumin ve α -1-tripsin inhibitörü (antitripsin) olan akut faz proteinleridir (Honkanen ve Sandholm, 1981).

Polimornükleer lökositler yangısal reaksiyon sırasında bakteri ve epitel hücrelerini fagosit ederken, hem süt verimi düşer hem de N-asetil- β -D-glukozaminidaz (NAGase) ve laktatdehidrojenaz (LDH) açığa çıkar. Bu enzimlerin miktarının belirlenmesi için, laboratuvar şartlarında gerçekleştirilen kolorimetrik ve florometrik yöntemler ile hızlı sonuç alınır. Yangısal reaksiyonun tespiti için lipaz, esteraz, fosfotaz ve plazmin gibi farklı enzimlerin miktarlarına da bakılabilir (Nizamoğlu, 1992; Viguier ve ark, 2009; Baştan, 2019).

2.1.1.2.1.2.2. Sütün pH'sını ölçerek subklinik mastitisin teşhisi

Memedeki yangısal reaksiyon sonucunda sütün pH değeri değişiklik gösterir. Mastitis sonucu sütte gözlemlenen pH değişikliğini ölçerek, mastitis hakkında bilgi sahibi olmak için her memeye ayrı bölmesi olmak üzere pH metre kağıtları kullanılmaktadır. pH metrelerde indikatör olarak bromthymol blue ve bromcresol purple vardır. Normal sütün pH'sı 6.5-6.7 (kolostrumdaki 6.0-6.4) iken mastitis sonucu kan pH'sına (pH 7.4) yaklaşmaktadır. pH metre üzerinde bulunan ayrı bölmelere her bir memeden ayrı olmak üzere süt damlatılır. Kağıdın rengi solgun yeşil ise pH 6.6-6.7, orta derecede yeşil ise pH 6.8, yeşil ise pH 7.1, koyu mavi-yeşil ise pH 7.4'dür (Schalm ve ark, 1971; Baştan, 2019).

2.1.1.2.1.2.3. Sütün elektriksel iletkenliğinin ölçülmesi

Mastitisle birlikte sodyum ve klor miktarları artarken potasyum miktarı düşmekte ve sütün pH'sı artmakta, buna paralel olarak sütün elektrik iletkenliği de artış göstermektedir (Philpot ve Nickerson, 1991).

Sütün elektriksel iletkenliğini ölçmek için sağım ekipmanlarına yerleştirilen ölçüm sistemleri ve MilkChecker denilen, elde kolayca taşınabilen cihaz geliştirilmiştir (Nielen ve ark, 1992). Mastitis olgularında, klor ve sodyum iyonları kan damarlarından süte geçerek elektrik iletkenliğini artırır. Normal süt 6.1 mS/cm'ye kadar elektrik iletkenliğine sahiptir. İletkenlik,

6,2 mS/cm ve daha yüksek olursa süt anormal olarak kabul edilir. Her anormal süt subklinik mastitis pozitif anlamına gelmez (kolostrumun elektriksel iletkenliği 6.2 mS/cm'nin üzerinde seyir gösterir). Subklinik mastitisin tespit edilmesindeki anahtar, dört çeyrekte elde edilen değerlerin arasındaki karşılaştırmadır. Çeyrekler arasındaki fark 0,5 mS/cm'den büyükse (en düşük elektriksel iletkenliğe sahip olan çeyreğe kıyasla), bu çeyrek enfekte demektir. Değer farkı 0,5 ile 1,0 mS/cm arasındaysa hafif bir enfeksiyondur. 1.0 mS/cm'nin üstünde ise enfeksiyon ağırdır. Sütün elektriksel iletkenliği ile sütteki somatik hücre sayısı arasında pozitif korelasyon vardır (WEB_1, 2019).

2.1.2. Mastitise Neden Olan Mikroorganizmalar

Mastitise sebep olan mikroorganizmalar; bulaşıcı, çevresel, fırsatçı (*Bacillus spp.*) ve nonspesifik (*Tüberkülozis, Brusellozis, Leptospirozis ve Listeriamonocytogenes*) etkenler olarak ayrılır (Vural ve ark, 2016).

2.1.2.1. Bulaşıcı mikroorganizmalar

En önemli kaynağı enfekte meme lobları olan, sağım hijyeninin eksik olması, sağımda kullanılan kontamine ekipman, sağım makinelerinin fonksiyon bozukluğu gibi sebeplerle sürü içerisinde inekten ineğe yayılım gösteren genellikle meme paranzim dokusuna ve süt toplama kanallarına yerleşerek kronik mastitise yol açan ve sürü için devamlı bir mastitis kaynağı oluşturan mikroorganizmalardır. Sağım sonrası teat-dipping, kuru dönem antibiyotik uygulaması, klinik mastitislerin uygun tedavisi, kronik enfekte ineklerin sürüden çıkartılması ve uygun sağım tekniği kullanarak bulaşıcı mastitisler ile mücadele edilebilir (Keskin, 2015). Bu mikroorganizmalar *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*, koagulaz negatif stafilokoklar (KNS) ve mikoplasma türleridir. *Streptococcus dysgalactia* bazı sürülerde meme sağlığı problemleri oluşturduğu için epidemiyolojik özelliği nedeniyle bazen bulaşıcı bazen de çevresel patojen grubuna dahil edilmektedir (Baştan, 2019).

2.1.2.2. Çevresel mikroorganizmalar

İneklerin yaşam alanlarını oluşturan barınak, yataklıklar, gezinti alanları, servis yolları ve beslenme alanlarında bulunarak direk veya indirek yollarla memeye bulaşıp, enfeksiyon oluşturan mikroorganizmalardır (Vural ve ark, 2016). Çevresel mikroorganizmalar sıklıkla perakut veya akut mastitislere neden olur ve endotoksin üretirler. Bu mikroorganizmalar ineklerin yaşam alanlarında bulunduğu için bunlardan tamamen kurtulmak mümkün değildir. Bu mikroorganizmaların üreme şartı olan nemi ortadan kaldırmak için kuru ve temiz barınak koşulları sağlanmalı, bulaşma iki sağım aralığında gerçekleştiği için sağım öncesi ön daldırma gibi uygulamalar yapılmalıdır. İkinci bir koruma yöntemi vitamin-mineral uygulamaları ve aşılama ile ineğin bağışıklığının yükseltilmesidir (Vural ve ark, 2016; Keskin, 2015; Baştan, 2019).

Çevresel mikroorganizmalar; enterobacteriaceae familyasına ait bakteriler (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Yersinia*, *Edwardsiella*, ve *Providencia*), *S. uberis*, *S. dysgalactia* gibi çevresel streptokoklar, fırsatçı bakteriler ve çevresel stafilokoklara benzeyen diğer mikroorganizmalar, *Pseudomonas*, *Trueperella pyogenes* ve *Nocardia*'dır (Baştan, 2019).

2.2. Moleküler İdentifikasyon

Moleküler tanısal teknikler, geleneksel yöntemler ile identifikasyonlarının yapılması zor veya imkânsız olan enfeksiyon etkenlerinin tanımlanmasında değerli teknikler olarak bildirilmektedir. Bakteri ribozomlarının yapısında 30S ve 50S alt birimlerinden elde edilen 5S ve 16S rRNA'ların baz dizileri identifikasyon çalışmalarında çok yaygın olarak 1980'li yıllardan beri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin kullanılmasıyla pek çok yeni cins ve tür ayrılmıştır ve bakterilerin 16S rRNA sekansına dayalı moleküler identifikasyonu veteriner klinik sahada karşılaşılan bakterilerin tanımlanmasında da kullanılmaya başlanmıştır (Chai ve ark 2003). rRNA mutasyonlardan en az etkilenen genetik materyaldir. 16S rRNA'nın birkaç bölgesi tüm bakterilerde çok iyi korunmuştur. Bu korunmuş bölgelerden seçilen primerler tüm bakterilerde 16S rRNA amplifikasyonunu sağlar ve bunlara universal primerler denir. Çoğaltılan bölgeler aynı zamanda tür identifikasyonunu sağlayan özgün değişken bölgeleri de içerir (Edwards ve ark, 1989; Zeng ve ark, 1996).

Sunulan bilgiler ışığında bu çalışmada, Aydın ili Söke ilçesindeki Siyah-Alaca ineklerde subklinik mastitis prevalansının ve mastitise sebep olan mikroorganizmaların belirlenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmanın materyalini Aydın ili Söke ilçesinin farklı mahallelerinde bulunan, klinik olarak sağlıklı 312 Siyah-Alaca Holstein ineğe ait 1231 meme lobu oluşturdu. Çalışma Nisan-Mayıs ayları arasında gerçekleştirildi. Muayeneler sırasında 17 meme lobunun kör olduğu belirlendi. Örnek alınmadan önce meme başları %70'lik alkol ile temizlendi. CMT pozitif tespit edilen meme loplarından steril tüplere ortalama 5-10 ml süt örneği alındı. Örnekler etken izolasyon ve identifikasyonu için, soğuk zincirde ve en kısa sürede, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalına getirildi.

Çalışma aşamasında CMT pozitif sonuç veren ineklerin, daha sonra değerlendirmek üzere, buldukları mahalle, yaş, laktasyon süresi, sağım sistemi ve barınak yapıları hakkında bilgi toplandı.

3.1.2. Besiyerleri

3.1.2.1. Kanlı agar (Oxoid, CM0271)

Kanlı Agar..... 40 g
Distile su..... 1000 ml

Kanlı agar, genel kullanım besiyeri olarak kullanılan zengin bir besiyeridir. Besiyerini hazırlamak için 40 gram agar distile su içerisinde 5-10 dakika mikrodalga fırın kullanılarak eritildi. pH'sı 7.2'ye ayarlandı 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edildi. Daha sonra, hazırlanan erimiş besiyeri yaklaşık 45-50°C'ye kadar soğutuldu ve üzerine 70 ml defibrine koyun kanı eklenip karıştırılarak homojenizasyon sağlandıktan sonra petri kutularına dökülüp, kullanılmaya kadar buzdolabında +4°C'de saklandı. Besiyerleri, kullanılmadan önce sterilite kontrolleri yapıldı.

3.1.3. Solüsyonlar

3.1.3.1. EDTA (0,5 M)

Disodium EDTA-2H₂O..... 186.1 g

EDTA 800 ml distile suda manyetik karıştırıcıda çalkalanarak eritilip, NaOH ile pH 8.0'e ayarlandıktan sonra 1000 ml'ye tamamlanıp 121 °C'de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

3.1.3.2. TBE buffer (pH:8.0)

10X TBE Stok Solusyonu

Tris Base..... 121.1 g
Borik Asit..... 61.83 g
EDTA..... 5.84 g

Distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlanarak 121 °C'de 15 dk otoklavda steril edilip, pH 8,0'e ayarlanarak buzdolabında saklandı.

0,5X TBE Kullanma Solüsyonu

10X TBE.....50 ml
Distile su.....950 ml

Karıştırılarak solüsyon hazırlandı.

3.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

3.1.4.1. Kullanılan cihazlar

PZR için Eppendorf Master Cycler gradient, 96 örnek kapasiteli termal döngüleme cihazı kullanıldı.

3.1.4.2. Primerler

1371 baz çiftlik 16S rRNA geni fragmenti, 16S20 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG- 3' ve 16S1390 5'-GAC GGG CGG TGT GTA CAA-3' üniversal primerleri kullanılarak çoğaltıldı (Edwards ve ark, 1989; Zeng ve ark, 1996).

3.1.4.3. MgCl₂, Taq DNA Polymerase, 10X TaqBuffer, dNTP Set

10X TaqBuffer (100 mM Tris-HCl, pH8.3, 500 mM KCl), 25 mM MgCl₂, 100 mM deoksiniükleotidtrifosfat (dNTP) set (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), Taq DNA polimeraz (5U) (Fermentas) kullanıldı.

3.1.4.4. Marker

Marker olarak 100 bp DNA Ladder (Fermentas) kullanıldı.

3.1.5. Agarose Jel Hazırlanışı (%1 ve %2'lik)

Agaroz Jel:

Agarose (Sigma)..... 1gr (veya 2gr)

TBE (0,5x)..... 100 ml

Buffer, şişe içerisindeki agarozun üzerine ilave edilerek karıştırıldı ve sonra mikrodalga fırında yaklaşık 3–5 dk kaynatılan karışım, 40–50°C'ye kadar soğutuldu. 100 µL agaroz içerisine 7 µL SafeView (ABM, Canada) boyası ilave edilerek, 20 cm'lik boya yatay jel elektroforez tablasına döküldü, halen sıvı halde olan karışım, jel kalıbının içerisine yavaşça, kabarcık bırakmayacak şekilde döküldü ve içerisine yükleme kuyucuklarını oluşturacak olan taraklar yerleştirilerek, 15–20 dakika oda ısısında soğumaya bırakıldı. Soğutulan jel, kalıptan çıkarılarak, elektroforez tankına dikkatlice yerleştirildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Süt Örneklerinin Alınması

Süt numunesi almak için gidilen süt işletmelerinde normal sağım zamanında sağım için hazırlanan ineklerin çiftliklere göre normal meme temizliği yapıldıktan sonra CMT yapmak için her meme başından ön sağım yapıldı. Hemen ardından CMT test kabının 4 ayrı bölümüne ayrı meme loblarından süt alındı. CMT kabı 45 derece olacak şekilde yan yatırıldı. CMT kabı içerisinde kalan 2-3 ml süt numunesinin üzerlerine 2ml CMT (BOVIVET CMT Liquid, KRUISE) solüsyonu eklendi. CMT kabının içerisindeki karışım 10 saniye boyunca daire hareketi yapacak şekilde çevrildi. CMT pozitif veren meme lobları ve dereceleri Vural ve ark, (2016) belirttiği yöntemle değerlendirildi. Numune göndermek için ilk olarak CMT derecesine bakılmaksızın pozitif çıkan arka meme lobu seçildi. Arka meme lobu CMT negatif çıkan ineklerde test için diğer meme loblarında CMT pozitiflik derecesi en yüksek olan seçildi. Seçilen meme başına %70'lik alkol püskürtüldü, daha sonra peçete ile kurularak numune almak için hazır hale getirildi. Steril numune tüplerine yaklaşık 5-10 ml süt, aseptik koşullarda alınıp etiket kısmına numune numarası yazıldıktan sonra buz akülerinin içerisinde en kısa zamanda Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na teslim edildi.

3.2.2. Bakteriyel İzolasyon

Süt örnekleri iyice homojenize edildikten sonra %7 koyun kanlı agara tek koloni düşecek şekilde ekimleri yapılarak, 37°C'de ve aerobik koşullarda, 24-72 saat inkübe edildi. Üreyen bakterilerin identifikasyonu konvansiyonel yöntemlere göre yapıldı (Quinn ve ark, 1994). İzolatlar moleküler çalışmalar için -20°C'de saklandı.

3.2.3. DNA Ekstarksiyonu, Saflık ve Miktar Tayinleri

İzolatların total DNA ekstraksiyonu ticari genomik DNA ekstraksiyon kiti (InstaGeneMatrix, Katalog No: 732-6030, BIO-RAD, München, Germany) kullanılarak üretici firmanın önerdiği şekilde aşağıdaki gibi gerçekleştirildi.

Bir öze dolusu bakteri kültürü 1 ml steril bir ependorf tüp içerisinde steril distile su ile süspanse edildi. Müteakiben 12.000 rpm.'de 1 dk santrifüje edildikten sonra süpernatant atıldı. Pelet üzerine InstaGenematrixden 200 µL ilave edilerek 56°C'de yarım saat inkübe edildi. Yüksek hızda 10 sn vortekslendi. Tüpler benmaride 100°C'de 8 dk inkübe edildi. Yüksek hızda 10 sn vortekslendikten sonra 12.000 rpm.'de 3 dk santrifüje edildi.

Ekstraksiyonu yapılan genomik DNA'lar bütünlükleri bakımından %1'lik agaroz jel elektroforeziyle kontrol edildi. Daha sonra, Nonadrop (Maestro) cihazı ile DNA'ların 260 nm ve 280 nm'deki absorbansları hesaplanarak miktar tayinleri ve saflık kontrolleri yapıldı. OD260/OD280 oranının 1.8-2.0 arasında olması DNA'nın saf olduğunu göstermektedir (Turner ve ark, 2004). Testte 30 µL'lik bir PZR reaksiyonu için 2 µL süpernatant kullanıldı.

3.2.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

16S rRNA Geninin PZR ile çoğaltılmasında, elde edilen bakteriyel DNA'dan 2 µL olacak şekilde toplam 30 µL reaksiyon miktarı için son konsantrasyon Taq enzimi tampon çözeltisi 1X, magnesium klorür (MgCl₂) 2 mM, dNTP 0.2mM, primer (her biri için) 0.4 pmol, Taq DNA polymerase (Fermentas) 1.5 U olacak şekilde gerçekleştirildi.

Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazlarına yüklenip, programlandı. Program 95°C'da 5 dakikalık ön denatürasyonu takiben 35 siklus 95°C 30 sn, 56°C 30 sn ve 72°C 1 dakikada tamamlandıktan sonra, 72°C'de 7 dakika ile sona erdirildi.

3.2.5. Örneklerin Yüklenmesi

6x loadingdye elektroforez boyasından, 1 µL kadar alınıp, daha sonra 5µL ampikon ile karıştırıldı. Oluşturulan karışımdan 6 µL olacak şekilde, jeldeki uygun pozisyondaki kuyucuğa yüklendi.

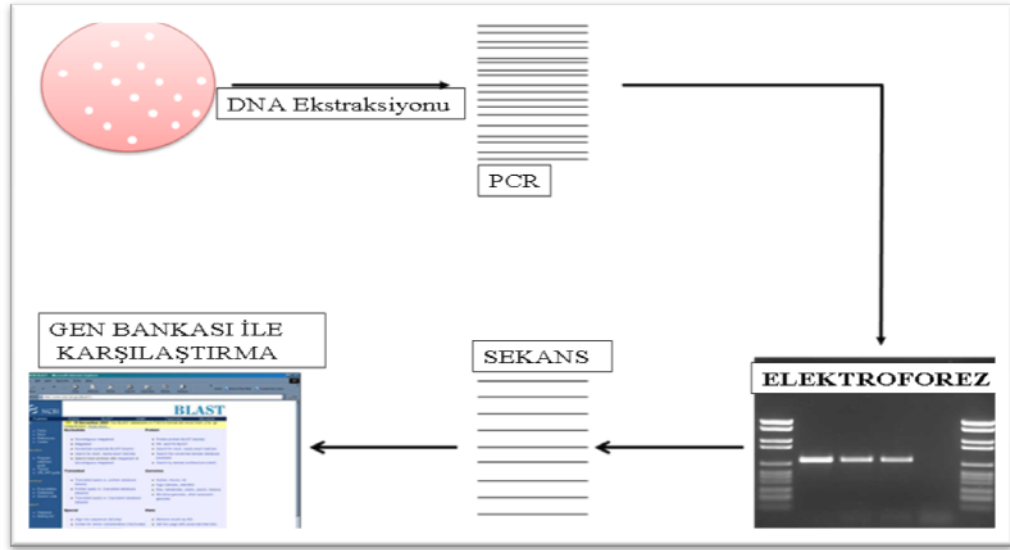
3.2.6. Yürütme ve Görüntüleme

Hazırlanmış olan jele, istenilen örnekler ve markerların yüklemesi yapıldıktan sonra, elektroforez tankının kapağı kapatılıp, elektrotlar uygun pozisyonlara bağlanarak, 100 voltluk

akımda 45 dakika yürütüldü. Süre sonunda boyanan jel, bilgisayara bağlı durumdaki transilluminatör cihazındaki odacığa yerleştirilerek, UV ışığı altında fotoğraflanıp, değerlendirildi ve 16S üniversal primerleri kullanılarak yapılan PZR'da 1371 bp uzunluğunda bant görülmesi pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.7. Moleküler İdentifikasyon

İzolatların total DNA'ları ekstrakte edildikten sonra, DNA'lar üniversal primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile amplifiye edildi. Amplifikasyon ürünü daha sonra sekanslama için Macrogen (Hollanda) firmasına gönderildi ve sonuçlar NCBI (National Center for Biotechnological Information) nükleotid blast programında gen bankasıyla karşılaştırıldı (Resim 1).



Resim 1. Bakterilerin 16S rRNA sekansına dayalı moleküler identifikasyonu (Eskin ve Türkyılmaz 2014).

3.3. İstatistiki Test

Elde edilen veriler SPSS 22.0 (SPSS Inc. Chicago, IL, Amerika) programı kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında frekanslar bakımından fark bulunup bulunmadığı yerine göre Binomial Test ve Ki Kare Testi kullanılarak karşılaştırıldı. P değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar şeklinde değerlendirildi. Ki Kare Testi, gözlenen (tespit edilen) frekans dağılımları ile beklenen frekans dağılımlarının kıyaslanarak aralarında anlamlı bir fark olup olmadığını gösteren bir uyum testidir.

4. BULGULAR

4.1. California Mastitis Test (CMT) Bulguları

Aydın ili Söke ilçesinin 10 farklı mahallesinde 312 baş Siyah-Alaca Holstein inekten 226 (%72.44) adeti farklı derecelerde CMT pozitif sonuç verdi. Muayene edilen 312 ineğin 1248 meme lobundan 17 (%1.36) meme lobu kör olarak kaydedildi. Süt verimi normal olan 1231 meme lobundan 574 (%46.63) meme lobu CMT pozitif sonuç verdi bunlardan 192 meme lobu CMT +1 (%33.45), 172 meme lobu CMT +2 (%29.96), 210 meme lobu CMT+3 (%36.59) olduğu tespit edildi.

Sonuçları, meme lobu lokalizasyonuna göre incelendiğinde CMT pozitif bulunan 574 meme lobunun 144'ü (%25.09) sol ön, 150'si (%26.13) sağ ön, 139'u (%24.22) sol arka, 141'i (%24.56) sağ arka meme lobunda tespit edildi. Meme lobları ön-arka olarak değerlendirildiğinde 294'ü (%51.22) ön, 280'i (%48.78) arka meme loblarında olduğu görüldü.

4.1.1. Yaşa Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirmesi

Yaş gruplarına göre CMT pozitiflik durumu incelendiğinde; genç inek grubunda bulunan (2, 3 ve 4 yaşındaki ineklerin bulunduğu grup) 86 CMT+ ineğin, 336 meme lobunun 197'si (%58.63) CMT+ olarak tespit edildi. Seksenaltı CMT+ ineğin 44'ünde (%51.16) mikrobiyolojik ekim sonucunda üreme olmadı. Orta yaşlı inek grubunda bulunan (5, 6 ve 7 yaşındaki ineklerin bulunduğu grup) 101 CMT+ ineğin, 399 meme lobunun 261'inde (%65.41) CMT+'lik belirlendi. Yüzbir CMT+ ineğin 37'sinde (%36.63) mikrobiyolojik ekim sonucu üreme olmadı. Yaşlı inek grubunda bulunan (8, 9, 10 ve 11 yaşındaki ineklerin bulunduğu grup) 39 CMT+ ineğin, 153 meme lobunun 116'sında (%75.82) CMT+ olarak tespit edildi. Otuzdokuz CMT+ ineğin 17'sinde (%43.59) mikrobiyolojik ekim sonucu üreme olmadığı görüldü. Yaş gruplarına göre yapılan incelemede CMT+ meme lobu oranları yüksekten düşüğe göre sırasıyla yaşlı inek grubu (%75.82), orta yaşlı inek grubu (%65.41) ve genç inek grubu (%58.63) olarak tespit edildi. Subklinik mastitisin yaş ile ilgili verileri Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. Subklinik mastitis vakalarında yaş gruplarına göre elde edilen veriler

Yaş grubu	CMT (+) inek sayısı	Üreme olmayan CMT (+)	Toplam meme lobu	Kör meme lobu	CMT (+) meme lobu
Genç	86	44 (%51.16)	336	8	197 (%58.63)
Orta	101	37 (%36.63)	399	5	261 (%65.41)
Yaşlı	39	17 (%43.59)	153	3	116 (%75.82)
Toplam	226	98	888	16	574

Genç: 2, 3 ve 4 yaşındaki ineklerin bulunduğu grup

Orta: 5, 6 ve 7 yaşındaki ineklerin bulunduğu grup

Yaşlı: 8, 9, 10 ve 11 yaşındaki ineklerin bulunduğu grup

4.1.2. Laktasyon Ayına Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirmesi

Laktasyon ayına göre, 3 laktasyon grubuna ayrılarak inceleme yapıldığında; erken laktasyon (1, 2, 3 ve 4. laktasyon ayındaki inekler) grubunda bulunan 76 CMT+ ineğin 30'unda (%39.47) mikrobiyolojik ekim sonucu üreme olmadığı belirlendi. Klinik olarak sağlıklı 298 meme lobunun 166 (%55.70) meme lobu CMT+ olarak tespit edildi. Orta laktasyon (5, 6, 7 ve 8. laktasyon ayındaki inekler) grubunda bulunan 72 CMT+ ineğin 31'inde (%43.06) mikrobiyolojik ekim sonucu üreme olmadığı, 283 meme lobunun 179'unda (%63.25) CMT+'lik tespit edildi. Geç laktasyon (9 ve üzeri laktasyon ayındaki inekler) grubunda bulunan 78 CMT+ ineğin 41'inde üreme tespit edilirken, 37'sinde (%47.44) mikrobiyolojik ekim sonucu üreme olmadığı belirlendi. Klinik olarak sağlıklı 307 meme lobunun 229 (%74.59) meme lobu CMT+ olarak tespit edildi. Laktasyon ayına göre yapılan gruplandırmaların CMT+ değerlerine göre sıralamasında yüksekten düşüğe sırasıyla; geç laktasyon (%79.05), orta laktasyon (%63.25), erken laktasyon (%55.70) olarak tespit edildi. Laktasyon aylarına göre toplanan veriler Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Subklinik mastitis vakalarının laktasyon gruplarına göre elde edilen verileri

Laktasyon Grubu	CMT (+) inek sayısı	Üreme olmayan CMT (+) inek sayısı	Toplam meme lobu	Kör meme lobu	CMT (+) meme lobu
Erken	76	30 (%39.47)	298	6	166 (%55.70)
Orta	72	31 (%43.06)	283	5	179 (%63.25)
Geç	78	37 (%47.44)	307	5	229 (%74.59)
Toplam	226	98	888	16	574

Erken; 1, 2, 3 ve 4. laktasyon ayındaki inekler

Orta; 5, 6, 7 ve 8. laktasyon ayındaki inekler

Geç; 9 ve üzeri laktasyon ayındaki inekler

4.1.3. İşletmelerin Bulunduğu Mahallelere Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirmesi

Aydın ili Söke ilçesinin 10 farklı mahallesinde yapılan bu çalışmada aynı iklim ve çevre koşulları içerisinde bulunan hayvanların sayıları Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7. Subklinik mastitis vakalarının buldukları mahallelere göre incelenmesi

İşletmenin bulunduğu mahalle	CMT yapılan inek sayısı	CMT (+) inek sayısı	Üreme olmayan CMT(+) inek sayısı	Toplam meme lobu	Kör meme lobu	CMT(+) meme lobu
Kemalpaşa	107	65	25	423	5	183
Yenicami	95	72	32	375	5	164
Bağarası	43	31	12	170	2	77
Sazlı	23	19	12	90	2	48
Pamukçular	20	19	12	77	3	60
Kisir	11	8	-	44	-	19
Sayrakçı	8	8	4	32	-	16
Nalbantlar	2	2	-	8	-	2
Yenikent	2	1	1	8	-	1
Burunköy	1	1	-	4	-	4
Toplam	312	226	98	1231	17	574

4.1.4. İşletmelerin Altlık Yapısına Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Çiftlik altlık yapısı göz önünü alınarak yapılan değerlendirmede; gübre altlık (serbest gezintili ve gübrenin altlık olarak kullanıldığı işletmeler) grubunda CMT yapılan 215 ineğin 173'ü (%80.47) CMT+ olarak tespit edildi. Meme lobu baz alındığında ise 844 meme lobunun 459 (%54.38) meme lobu CMT+ olarak belirlendi. Kauçuk altlık (serbest gezintili ve kauçuk yataklığın kullanıldığı işletmeler) grubunda CMT yapılan 63 ineğin 26'sı (%41.27) CMT+ olarak tespit edildi. Yine bu grupta meme lobu baz alınarak yapılan değerlendirmede 251 meme lobunun 54 (%21.51) meme lobu CMT+ olarak saptandı. Beton altlık (beton zeminde bağlı şekilde bakılarak hayvancılık yapan işletmeler) grubunda CMT yapılan 34 ineğin 27'si (%79.41), bu hayvanlara ait 136 meme lobunun 61'i (%44.85) CMT+ olduğu görüldü. Çiftlik yapısı göz önüne alındığı zaman yapılan inceleme sonucu CMT pozitiflik değeri büyükten küçüğe doğru sırasıyla Tablo 8'de verildiği gibi gübre altlık, beton altlık ve kauçuk altlık olarak tespit edildi. Kauçuk altlığın kullanıldığı işletmelerde, tespit edilen CMT negatiflik değeri Tablo 9'da gösterildiği gibi istatistiki açıdan yüksek oranda düşük bulundu ($p < 0.001$).

Tablo 8. Buldukları işletme altlık koşullarına göre subklinik mastitisin değerlendirilmesi

İşletme yapısı	CMT yapılan		Üreme olmayan CMT (+) numune sayısı	CMT yapılan meme lobu	Kör meme lobu	CMT (+) meme lobu
	inek sayısı	CMT (+) inek sayısı				
Gübre Altlık	215	173 (%80.47)	72	844	16	459 (%54.38)
Kauçuk altlık	63	26 (%41.27)	19	251	1	54 (%21.51)
Beton altlık	34	27 (%79.41)	7	136	-	61 (%44.85)
Toplam	312	226	98	1231	17	574

Tablo 9. Bulunduğu işletmenin altlık koşullarına göre istatistik değerlendirmesi

CMT	Çiftlik			Toplam	Ki Kare	P
	Gübre Altlık	Beton Altlık	Kauçuk Altlık			
(+)	173 ^a (75.33) %76.5	27 ^a (75.33) %11.9	26 ^b (75.33) %11.5	226 (%100.0)		
(-)	42 ^a %59.3	7 ^a %9.4	37 ^b %17.4	86 %100.0	38.419	0.000
Toplam	215 %68.9	34 %10.9	63 %20.2	312 %100.0		

Aynı satırdaki farklı harfle ifade edilen ortalamalar arasında fark önemlidir (P<0.001).

4.1.5. İşletmelerin Sağım Sistemine Göre CMT Sonuçlarının Değerlendirmesi

Sağımhane sistemine göre yapılan incelemede sağım arabası ile sağılan 94 siyah-alaca holstein ineğin 70'i (%74.47), bu hayvanların 371 meme lobunun 182'si (%49.06) CMT+ olarak bulundu. Sağım odası bulunan işletmelerde 170 siyah-alaca holstein ineğin 116'sı (%68.24) CMT+ olarak belirlendi. Altıyüzyetmiş meme lobunun ise 297'si (%44.33) CMT+ olarak teşhis edildi. Kilit arkası sağım sistemi bulunan işletmelerde 48 siyah-alaca holstein ineğin 40 (%83.33) başında, 190 meme lobunun 95'inde (%50) CMT+ olarak bulundu. CMT+ değerleri hayvan bazlı ve meme lobu bazlı olarak incelendiğinde, Tablo 10'da verildiği gibi büyükten küçüğe doğru sırasıyla kilit arkası sağım (%83.33, %50), sağım arabası (%74.47, %49.06) ve sağım odası (%68.24, %44.33) ile sağım yapan işletmeler olarak görüldü. Bu oranlar arasında Tablo 11'de de görüldüğü gibi istatistiki bir farkın olmadığı belirlendi.

Tablo 10. Sağımhane sistemi gruplandırılarak yapılan subklinik mastitis değerlendirmesi

Sahımhane sistemi	CMT yapılan İnek sayısı	CMT (+) inek sayısı	CMT yapılan meme lobu sayısı	Kör meme lobu sayısı	CMT (+) meme lobu Sayısı	Üreme olmayan numune sayısı
Sağım arabası	94	70 (%74.47)	371	5	182 (%49.06)	31
Sağım odası	170	116 (%68.24)	670	10	297 (%44.33)	55
Kilit arkası sağım	48	40 (%83.33)	190	2	95 (%50)	12
Toplam	312	226	1231	17	574	98

Tablo 11. Sağımhane sistemine göre CMT sonucunun istatistiki değerlendirmesi

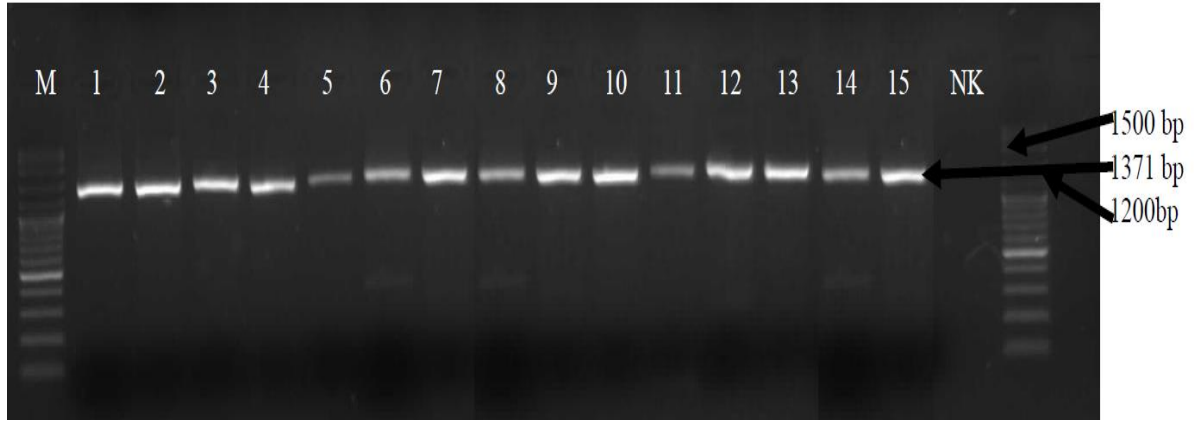
CMT	Sağım Sistemi			Toplam	Ki Kare	P
	Sağım Arabası	Sağım Odası	Kilit Arkası			
(+)	70 (75.33) %31.0	116 (75.33) %51.3	40 (75.33) %17.7	226 (%100,0)		
(-)	24 %27.9	54 %62.8	8 %9.3	86 %100.0	4.552	0.103
Toplam	94 %30.1	170 %54.5	48 %15.4	312 %100.0		

P<0.05 bulunan fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

4.2. Mikrobiyolojik Bulgular

4.2.1. Moleküler İdentifikasyon

128 izolat için 16S üniversal primerleri kullanılarak yapılan PZR'da 1371 bp uzunluğunda bantlar elde edildi (Resim 2).



Resim 2. 16S universal primerleri kullanılarak gerçekleştirilen PZR M: Marker (100 bp DNA Ladder) 1-14: Saha izolatları, 15: Pozitif Kontrol (*E.faecalis* ATCC 29212). NK: Negatif Kontrol (DNA'sız mastermiks)

4.2.2. İzolasyon Bulguları

Yapılan çalışmada 1248 meme lobu incelendikten sonra normal süt verimi olan 1231 meme lobunun CMT pozitif sonuç veren 574 (%46.63) meme lobundan, hayvan başı birer numune olmak üzere seçilen 226 numuneden, mikrobiyolojik ekim sonrasında 128'inde (%56.64) üreme (izolat) tespit edilirken 98'inde (%43.36) üreme tespit edilemedi.

Tablo 12. İzole edilen örneklerdeki mikroorganizma üreme oranları

CMT	Mikroorganizma		Toplam	P
	Üredi	Üremedi		
(+)	128	98	226	0.046
	%56.6	%43.4	%100.0	

P<0.05 anlamlı kabul edildi. (Beklenen değer)

Mikrobiyolojik izolasyon ve identifikasyon sonucu 128 süt numunesinden 178 adet mikroorganizma ürediği (Tablo 13), bunlardan 176'sının (45 farklı) bakteri, 2'sinin maya olduğu tespit edildi.

Tablo 13. Mikrobiyolojik izolasyon ve identifikasyon sonucu elde edilen mikroorganizmalar

İzole edilen patojenler	n	%	İzole edilen patojenler	N	%
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	14	%7.87	<i>Enterococcus durans</i>	1	%0.56
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	%3.93	<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	%0.56
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6	%3.37	<i>Rhodococcus sp.</i>	3	%1.69
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	%2.25	<i>Lactococcus lactis</i>	4	%2.25
<i>Staphylococcus xylosum</i>	1	%0.56	<i>Aerococcus viridans</i>	4	%2.25
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	%0.56	<i>Brevibacterium paucivorans</i>	1	%0.56
<i>Streptococcus uberis</i>	29	%16.29	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>	2	%1.12
<i>Streptococcus agalactiae</i>	12	%6.74	<i>Brachybacterium paraconglomeratum</i>	1	%0.56
<i>Streptococcus parauberis</i>	6	%3.37	<i>Micrococcus aloeverae</i>	1	%0.56
<i>Streptococcus hongkongensis(uberis)</i>	4	%2.25	<i>Kocuria salsicia</i>	1	%0.56
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	2	%1.12	<i>Trueperella pyogenes</i>	1	%0.56
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	%1.12	<i>Escherichia coli</i>	3	%1.69
<i>Corynebacterium sp.</i>	28	%15.73	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	%0.56
<i>Corynebacterium xerosis</i>	1	%0.56	<i>Enterobacter cloacae</i>	1	%0.56
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	1	%0.56	<i>Shigella flexneri</i>	1	%0.56
<i>Corynebacterium renale</i>	1	%0.56	<i>Acinetobacter iwoffii</i>	3	%1.69
<i>Corynebacterium camporensis</i>	1	%0.56	<i>Hafnia paralvei</i>	2	%1.12
<i>Bacillus licheniformis</i>	7	%3.93	<i>Pasteurella multocida</i>	1	%0.56
<i>Bacillus pumilis</i>	3	%1.69	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	%0.56
<i>Bacillus subtilis</i>	2	%1.12	<i>Pseudomonas sp.</i>	1	%0.56
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1	%0.56	<i>Pseudocitrobacter sp.</i>	1	%0.56
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	%3.37	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	%0.56
<i>Enterococcus faecium</i>	1	%0.56	<i>Candida spp.</i>	2	%1.12

İzolasyonları yapılan 176 bakterinin sekans analizi sonucunda Tablo 14'de görüldüğü gibi 160'ının (%90.91) Gram pozitif ve 16'sının (%9.09) Gram negatif olduğu tespit edildi. İzole edilen bakteriler tür bazında incelendiğinde 45 farklı bakteri türünün 34'ü Gram pozitif, 11'i

Gram negatif olduğu ve *Streptococcus spp.*, *Stapylococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Bacillus spp.* ve koliform grubu bakterilerin en çok identifiye edilen türler olarak belirlendi.

Tablo 14. Çiftlik yapısına göre bakterilerin incelenmesi

Çiftlik yapısı	Toplam bakteri sayısı	Gram(+) bakteri sayısı	Gram(-) bakteri sayısı	Bulaşıcı bakteri sayısı	Çevresel bakteri sayısı
Gübre altlık	134	124 (%92.54)	10 (%7.46)	63 (%47.01)	71 (%52.99)
Kauçuk altlık	9	8 (%88.89)	1 (%11.11)	3 (%33.33)	6 (%66.67)
Beton altlık	33	28 (%84.85)	5 (%15.15)	11 (%33.33)	22 (66.67)
Toplam	176	160 (%90.91)	16 (%9.09)	77 (%43.75)	99 (%56.25)

Gübre altlık : Serbest gezintili ve gübrenin yataklık ol arak kullanıldığı işletme

Kauçuk altlık : Serbest gezintili ve kauçuk yataklığın kullanıldığı işletme

Beton altlık : Beton zeminde bağlı şekilde bakılarak hayvancılık yapan işletme

Moleküler identifikasyon sonucu, 176 adet bakterinin 77 (%43.75) adeti bulaşıcı mastitis, 99 (%56.25) adeti çevresel mastitis etkeni olarak belirlendi. Tablo 15'de verilen bulaşıcı mastitis etkenleri içerisinde *S. aureus* 7, KNS 26, *S. agalactiae* 12, *Corynebacterium spp.* 32 adet olarak farklı meme loblarından tespit edildi.

Tablo 15. Bulaşıcı mastitis etkenlerinin sağım sistemi ve altlık yapısına göre tespit edilen miktarları

Bulaşıcı Bakteriler	Sağım Arabası	Kilit Arkası	Sağım Odası	Gübre Altlık	Beton Altlık	Kauçuk Altlık	Toplam
<i>S. aureus</i>	6	-	1	3	4	-	7
KNS	10	14	2	20	5	1	26
<i>S. agalactiae</i>	1	-	11	12	-	-	12
<i>Corynebacterium spp.</i>	5	4	23	28	2	2	32
Toplam	22 (%28.57)	18 (%23.38)	37 (%48.05)	63 (%81.81)	11 (%14.29)	3 (%3.90)	77

Tespit edilen 32 adet *Corynebacterium spp.*'nin 28 (%87.50) adeti serbest gezintili ve gübrenin yataklık olarak kullanıldığı işletmelerde, 2 (%6.25) adeti serbest gezintili ve kauçuk yataklığın kullanıldığı işletmede, 2 (%6.25) adeti ise beton zeminde bağlı şekilde bakılarak hayvancılık yapan işletmelerde görüldü.

İzolasyonu yapılan 29 adet *S. uberis* cinsi bakterinin (9 işletmede *Corynebacterium* türü bakteriler ile birlikte) 27 (%93.10) adeti serbest gezintili ve gübrenin yataklık olarak kullanıldığı işletmelerde, 2 (%6.90) adeti beton zeminde bağlı şekilde bakılarak hayvancılık yapan işletmelerde saptandı. İzole edilen bulaşıcı mastitis etkeni olan 12 adet *S. agalactiae*'nin tümü serbest gezintili ve gübrenin yataklık olarak kullanıldığı bir işletmede belirlendi.

Sağım sistemi göz önüne alındığında tespit edilen bakteriler Tablo 16'da verilmiştir.

Tablo 16. Sağım sistemine göre mikroorganizma dağılımı

Sağım sistemi	CMT yapılan inek sayısı	CMT+ inek sayısı	Tespit edilen toplam mikroorganizma sayısı	Bulaşıcı mastitis etkeni üreme sayısı	Çevresel mastitis etkeni üreme sayısı	Mantar üreme sayısı
Sağım arabası	94	70	61 (%100)	21 (%34.43)	38 (%62.29)	2 (%3.28)
Sağım odası	170	116	81 (%100)	38 (%46.91)	43 (%53.09)	-
Kilit arkası	48	40	36 (%100)	18 (%50)	18 (%50)	-

Not: Bir izolattan 1 veya 1'den fazla mikroorganizma tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Süt inekçiliğinde sık olarak karşılaşılan mastitis, özellikle de subklinik mastitis ülkemiz hayvancılığında önemli ekonomik kayıplara sebep olmaktadır. Genel olarak süt işletmelerinin göz ile görülmeyen ancak verim kaybı düşüklüklerine neden olan subklinik mastitis, ülkemizin farklı yörelerinde farklı oranlarda tespit edilmiştir. Farklı bölgelerde yapılan çalışmalarda CMT ile meme lobu ve hayvan bazında tespit edilen subklinik mastitis oranları sırasıyla %7.38-60.17 ve %24-73.76 arasında değiştiği belirlenmiştir (Gürtürk ve ark, 1998; Ergün ve ark, 2000; Rişvanlı ve Kalkan, 2001; Sabuncuoğlu ve ark, 2003; Ergün ve ark, 2004; Gülcü ve Ertaş, 2004; Çoban ve Tüzemen, 2007; Tel ve ark, 2009; Macun ve ark, 2011; Acar ve ark, 2012; Büyükcangaz ve ark, 2012; Çokal ve Konuş, 2012; Kaşıkçı ve ark, 2012; Yeşilmen ve ark, 2012; Özdemir ve Kaymaz, 2013; Koçyiğit ve ark, 2016; Akdağ ve ark, 2017; Saydan ve Kalkan, 2017; Sağlam ve ark, 2018; Özenç, 2019). Sunulan çalışmada meme lobu bazında subklinik mastitis oranı %46.63, hayvan bazında ise %72.44 olarak tespit edildi. Hayvan bazında CMT pozitiflik oranı ülkemizde yapılan farklı çalışmalardaki oranlar arasında kaldığı fakat yüksek oranlara (Ergün ve ark, 2004; Tel ve ark, 2009; Çokal ve Konuş, 2012; Akdağ ve ark, 2017; Özenç, 2019) daha yakın olduğu belirlendi. Subklinik mastitis insidansının yüksek oranda tespit edilmesi, aile tipi ve 10-50 sağmal kapasiteli işletmelerde subklinik mastitise karşı korunma tedbirlerinin tam bilinmemesi ya da uygulanmamasına yorumlandı.

Subklinik mastitisler düzenli kontrolleri ve koruma uygulamaları yapılmadığı zaman meme dokusundaki enfeksiyon ilerleyerek klinik mastitis şekillenebilir. Klinik mastitis olgularında meme dokusuna erken ve iyi bir tedavi yapılmadığında enfekte meme lobu süt üretim özelliğini kaybeder. Sonucunda bu meme dokusu kör meme lobu olarak değerlendirilir. Ülkemizde yapılan mastitis ile ilgili çalışmalarda (Özdemir ve Kaymaz, 2013; Koçyiğit ve ark, 2016; Saydan ve Kalkan, 2017; Özenç, 2019), kör meme lobu oranının %0.78-4.84 arasında olduğu görülmüştür. Subklinik mastitis prevalansının belirlenmesi için yapmış olduğumuz çalışmada kör meme lobu oranı %1.36 olarak bulundu. Bu oran ülkemizde görülen değerler arasında olduğu görüldü. On yedi adet kör meme lobunun 16 tanesinin, gübre altlığın kullanıldığı ve sağım hijyenine yeterli önemin gösterilmediği işletmelerde olduğu tespit edilmiştir.

Subklinik mastitis tanısında CMT pozitiflik skoru meme dokusundaki yangının şiddetine göre CMT+1, CMT+2, CMT+3 olarak sınıflandırılır. CMT pozitiflik skoru bazı çalışmalarda

(Ergün ve ark, 2000; Rişvanlı ve Kalkan, 2002; Özdemir ve Kaymaz, 2013; Saydan ve Kalkan, 2017) CMT+2 ve CMT+3 ağırlıklı ve toplamda %75.76-91.88 oranları arasında olduğu belirtilmiş, bazılarında ise (Çokal ve Konuş, 2012; Kaşıkçı ve ark, 2012; Koçyiğit ve ark, 2016), CMT+1 ve CMT+2 ağırlıklı ve toplamda %83.3-95.2 oranları arasında olduğu tespit edilmiştir. Görüldüğü gibi CMT skorları bazı çalışmalarda yüksek, bazılarında ise düşük olarak bulunmuştur. Sunulan çalışmada CMT pozitiflik skorları CMT+1, CMT+2 ve CMT+3'te sırasıyla % 33.45, % 29.96, % 36.59 olarak tespit edildi. CMT skorlarının birbirine yakın ve diğer çalışmalardan daha düşük olduğu belirlendi.

İneklerde meme dokusu 2 yarımdan oluşur. Her yarımda 2 adet meme lobu ve meme başları bulunur. Meme yarımları, memenin asıcı ligamenti tarafından tam olarak birbirinden ayrılırken, loblar arasında böyle bir özellik görülmez. Ancak her meme lobu ayrı bir ünite olarak görevini yerine getirir. Arka loblar, ön loblara göre daha fazla gelişmiş ve süt üretiminin yaklaşık %60'ını arka meme lobları gerçekleştirir (Şendağ ve Emre, 2016). Meme loblarının lokalizasyonuna göre CMT sonuçlarının değerlendirildiği çalışmalarda, Gürbulak ve ark (2009) sol arka meme lobunda, Çokal ve Konuş, (2012) ile Busato ve ark (2000) arka meme loblarında subklinik mastitisin daha çok görüldüğünü ve istatistiki açıdan önemli olduğunu belirtmişlerdir. Fakat ülkemizde yapılan birçok çalışmada (Şeker ve ark, 2000; Sabuncuoğlu ve ark, 2003; Özdemir ve Kaymaz, 2013; Koçyiğit ve ark, 2016; Saydan ve Kalkan, 2017) meme loplari ile subklinik mastitis görülme sıklığı arasında farkın olmadığı vurgulanmıştır. Yapılan bu çalışmada da meme lobları lokalizasyonun subklinik mastitise etkisinin önemsiz olduğu bulundu.

Kars ili Koyulhisar ilçesinde geleneksel yöntemler ile hayvancılık yapan küçük aile işletmelerinde subklinik mastitisin araştırıldığı çalışmada (Özdemir ve Kaymaz, 2013) insidensin %60.17 olduğu belirlenmiştir. Laktasyonun ilk döneminde (1-3. ay) %47.6, ikinci döneminde (4-6. ay) %62.5 ve üçüncü döneminde (7-12. ay) %63.2 olarak tespit edilmiş ancak istatistiki açıdan laktasyon ayının subklinik mastitise etkisinin olmadığı görülmüştür. Koçyiğit ve ark, (2016) Bolu Mudurnu'da subklinik mastitis üzerine laktasyon döneminin etkisini değerlendirmiş, sayısal farklılıkların mevcut olduğu ancak istatistiki olarak bir etkinin gözlenmediğini belirtmişlerdir. Afyonkarahisar'da aile tipi işletmelerde yapılan başka bir çalışmada (Özenç, 2019) laktasyonun 180. gününden sonra subklinik mastitis insidensinin laktasyonun ilk 90. gününden önce ve 90-180. gün aralıklarına göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artış gösterdiği ve sürü büyüklüğü dikkate alındığında 10 ve daha az sayıda hayvan bulunan işletmelerde subklinik mastitislerin istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Malatya ili Arguvan ilçesinde Saydan ve Kalkan, (2017) subklinik mastitis

taramasında 0-2 aylık dönemde CMT pozitiflik oranını istatistiksel olarak daha düşük bulmuşlardır. Siyah alaca ve esmer ineklerde subklinik mastitis için risk faktörlerinin değerlendirildiği çalışmada (Çoban ve Tüzemen, 2007), siyah alaca ineklerin esmerlerden 1.74 kat daha fazla subklinik mastitise yakalanma riskinin olduğu belirtilmiş ve en düşük subklinik mastitis insidansının laktasyonun başında olduğu, en yüksek riskin ise laktasyonun son döneminde olduğu belirlenmiştir. Atatürk Üniversitesi Uygulama ve Araştırma çiftliğinde 83 baş inek üzerinde yapılan CMT uygulamasında ise laktasyonun erken dönemlerinde CMT pozitiflik oranı, dolayısıyla subklinik mastitis daha fazla gözleendiği belirlenmiştir (Sabuncuoğlu ve ark, 2003). Sunulan çalışmada laktasyon dönemleri diğer çalışmalarda da olduğu gibi 3 döneme ayrıldı. Erken laktasyon (1-4. laktasyon ayındaki inekler) grubunda bulunan 298 meme lobunun 166'sı (%55.70), orta laktasyon (5-8. laktasyon ayındaki inekler) grubunda bulunan 283 meme lobunun 179'u (%63.25), geç laktasyon (9 ve üzeri laktasyon ayındaki inekler) grubunda bulunan 307 meme lobunun 229'u (%74.59) CMT+ olarak tespit edildi. Tablo 6'da laktasyon ayına göre yapılan gruplandırmaların CMT+ değerlerine göre sıralamasında yüksekten düşüğe sırasıyla; geç laktasyon (%79.05), orta laktasyon (%63.25), erken laktasyon (%55.70) olarak tespit edildi. Dönemler arasında farkın önemli olmadığı fakat geç laktasyon döneminde en yüksek oranda belirlenmiş olması, subklinik mastitisler açısından bu dönemin daha riskli olduğu kanaati uyandırmıştır.

Meme başı kanalı, salgıladıkları bazı bakteriyostatik ve bakterisid maddeler ile meme başı kanalına girmiş bakterileri o bölgelerde tutmakta ve çoğalmasına engel olmaktadır. Yaşın ilerlemesi ile birlikte meme başı kanalı sfinkteri gevşemekte, mikroorganizmaların girişi kolaylaşmakta ve memenin savunma gücü azalmaktadır. Sonuçta meme içi enfeksiyon riskinde önemli oranda artış olmaktadır (Vural ve ark, 2016). Meme lobu düzeyinde subklinik mastitislerin değerlendirildiği çalışmalarda, yaş artışıyla birlikte mastitis olgularının da önemli düzeyde yükseldiği belirtilmiştir. Özdemir ve Kaymaz, (2013) farklı yaş gruplarında (1. grup: 2-5 yaş, 2. grup: 6-8 yaş, 3. grup 9-12 yaş) subklinik mastitis insidansını sırasıyla, %36.1, %67.2 ve %79.2 olarak tespit etmişler ve yaşın subklinik mastitis üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğunu bulmuşlardır. Özenç (2019), yaş gruplarının artışıyla birlikte mastitis olgularının da istatistiki olarak önemli düzeyde arttığını belirtmiştir. Ayrıca, 6-8 yaş grubunda olan ineklerin meme loblarının 2-5 yaş grubuna göre 1,65 kat, 8 yaşından daha büyük ineklerin meme loblarının ise 2-5 yaş grubundaki ineklerin meme loblarına göre yaklaşık 3,02 kat daha fazla enfeksiyon riskine sahip oldukları saptamıştır. Benzer bir çalışmada (Çoban ve Tüzemen, 2007) laktasyon sayısının artmasıyla 6. laktasyona kadar subklinik mastitise yakalanma riskinin arttığı; 7. laktasyon sırasında ise bu oranın bir miktar düştüğü belirlenmiştir. Bu çalışmalardan

farklı olarak Bolu ili Mudurnu ilçesinde (Koçyiğit ve ark, 2016), Malatya Arguvan ilçesinde (Saydan ve Kalkan, 2017) ve Erzurum ilinde (Sabuncuoğlu ve ark, 2003) yapılan çalışmalarda CMT pozitif olan farklı yaş gruplarındaki ineklerin sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirtilmiştir. Aydın ili Söke ilçesinde yapılan bu tez çalışmasında CMT pozitif sonuç veren meme loblarının yaş gruplarına göre pozitiflik durumu incelendiğinde; Tablo 5'de verildiği gibi genç inek grubunda bulunan (2-4 yaş) 86 CMT+ ineğin, 336 meme lobunun 197'si (%58.63); orta yaşlı inek grubunda bulunan (5-7 yaş) 101 CMT+ ineğin, 399 meme lobunun 261'i (%65.41); yaşlı inek grubunda bulunan (8-11 yaş) 39 CMT+ ineğin, 153 meme lobunun 116'sında (%75.82) CMT+ olarak tespit edildi. Yaş gruplarına göre yapılan incelemede CMT+ meme lobu oranları yüksekten düşüğe göre sırasıyla yaşlı inek grubu (%75.82), orta yaşlı inek grubu (65.41) ve genç inek grubu (58.63) olarak tespit edildi. İlerleyen yaşın subklinik mastitis görülme riskini artırabileceği sonucuna varılmıştır.

Ahır ve barınağa bağlı bazı faktörler mastitise duyarlılığı artırır, özellikle ineklerin ayrı bağlandığı ve yeterli genişlikte alana sahip olmaması durumlarında ineklerde stres meydana gelir, ayrıca yatıp kalkma sırasında birbirlerinin memesine basabilir ve meme yaralanmaları ile mastitise hassasiyet artar. Altlık olarak nemli gübre, talaş, saman gibi organik maddeler bakterilerin barınma ve üremeleri için uygun ortamlardır. Bundan dolayı önerilen altlıklar nem oranı düşük, içinde bakterilerin kullanabileceği besin maddesi az ve inorganik yapılı olmalıdır (Baştan, 2019). Sunulan çalışmada işletmelerin altlık yapısı göz önünü alındığında; gübre altlık grubunda CMT yapılan 215 ineğin 173'ü (%80.47), 844 meme lobunun 459'u (%54.38); kauçuk altlık grubunda CMT yapılan 63 ineğin 26'sı (%41.27), 251 meme lobunun 54'ü (%21.51); beton altlık grubunda CMT yapılan 34 ineğin 27'si (%79.41), 136 meme lobunun 61'i (%44.85) CMT+ olduğu görüldü (Tablo 8). Çiftlik yapısı göz önüne alındığı zaman yapılan inceleme sonucu CMT pozitiflik değeri büyükten küçüğe doğru sırasıyla gübre altlık, beton altlık ve kauçuk altlık olarak tespit edildi. Altlık yapısının CMT sonuçları üzerinde etkisinin değerlendirildiği Tablo 9'da belirtildiği üzere kauçuk altlık kullanımında CMT+ oranının önemli derecede azaldığı görüldü ($P<0.001$). Yapılan çalışmada kullanılan altlıklardan kauçuk altlığın meme sağlığı açısından tercih edilebilir olduğunu göstermiştir.

Sağım makinaları, sağım esnasında memeye bulaşacak enfeksiyonlar için çevresel bir faktördür ve mikroorganizmaların meme dokusuna taşınmasında etkilidir. Hijyenik bir sağım için ineklerin sağıldığı yerin, ineklerin, sağım ekipmanlarının ve sağımçıların temiz olması gerekmektedir. Çünkü *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. aureus* ve koliform mikroorganizmalar çevrede bol miktarda bulunur. Sağım yerleri sağımdan önce temizlenmelidir ancak ineklerin bağlı bulunduğu işletmelerde (sağım arabası veya kilit arkası sağım sisteminin olduğu)

sağımdan önce temizliğin sağlanması zordur. Bundan dolayı sütçü inek işletmelerinde basit de olsa bir sağım ünitesinin olması gerekmektedir (Taşal ve Köker, 2019). Tablo 10'da da görüldüğü gibi, sağımhane sistemine göre CMT pozitiflik değerleri, hayvan bazlı ve meme lobu bazlı olarak büyükten küçüğe doğru sırasıyla kilit arkası sistemde (%83.33, %50), sağım arabasında (%74.47, %49.06) ve sağım odasında (%68.24, %44.33) sağım yapan işletmeler olarak tespit edildi. Sağımhane sisteminin subklinik mastitise etkisi yüzdesel olarak farklı tespit edilse de Tablo 11'de görüldüğü gibi farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlendi ($P>0.05$).

Subklinik mastitise sebep olan mikroorganizmaların tanısı için yapılan incelemelerin hepsinde bakteriyel üremeye rastlanılmamaktadır. Mastitislerin tek sebebinin bakteriler olmadığı, bunun yanında mantarların, viral, kimyasal ve fiziksel etkenlerin de mastitise yol açabileceği bildirilmektedir (Baştan, 2019). Kars ilinde sığırlarda subklinik mastitise neden olan bakteriyel etkenlerin araştırıldığı çalışmada (Sağlam ve ark, 2018), 120 CMT pozitif ineğe ait numunelerden 21'inde (%17.5) bakteriyel üremenin olmadığı belirtilmiştir. Buna benzer çalışmalarda Çokal ve Konuş (2012) %30.12 olarak, Koçyiğit ve ark (2016) ise %37 olarak CMT pozitif ineklerde bakteriyel üremenin olmadığını tespit etmişlerdir. CMT pozitif çıkan tüm meme lobları mikrobiyolojik olarak incelendiğinde %10.82-39.20 gibi farklı oranlarda bakteriyel üreme gözlemlenmemiştir (Ergün ve ark, 2004; Tel ve ark, 2009; Çokal ve Konuş, 2012; Yeşilmen ve ark, 2012; Koçyiğit ve ark, 2016). Yapılan çalışmada 312 inekten CMT pozitif sonuç veren 226 ineğin 98'inde (%43.36) üreme tespit edilemedi. Bu oran ülkemizde rastlanan oranın üzerinde olduğu ve sebebinin çalışmanın yapılma zamanı göz önüne alındığında süt ineği işletmelerinin ani rasyon değişikliği yaptığı ve rasyon olarak hazırlanan günlük yem yerine ad libitum reygras otu ile beslemeye geçiş yaptığı döneme denk gelmesinden olabileceği kanaatine varıldı.

Genç ve Kaya (2015), Aydın ili ve çevresinde bulunan süt sığırcılığı yapan işletmelerdeki ineklerde CMT ile subklinik mastitis taramasında CMT pozitif olarak belirlediği 100 süt örneğini biyokimyasal yöntemlerle *S. aureus*, *S. uberis* ve *S. dysgalactiae* yönünden incelemeye almış. Sonuç olarak, 100 süt örneğinin 28 (%28)'inden *S. aureus*, 21 (%21)'inden *S. uberis* ve 8 (%8)'inden *S. dysgalactiae* identifiye ettiğini, toplam 43 (%43) örnekte üreme olmadığını belirtmişlerdir. Sunulan çalışmada, bakteri idenfikasyonu sekans analizi yöntemi ile gerçekleştirildi. Sekans analizi sonucu *S. aureus* %3.93, *S. uberis* %16.29 ve *S. dysgalactiae* %1.12 ve Tablo 13'de tespit edilme oranları verilen diğer mikroorganizmalar Aydın ili Söke ilçesinde subklinik mastitise neden olan etkenler olarak belirlendi.

Bulaşıcı mastitis etkenleri olan *S. aureus*, *S. agalactiae*, *C. bovis*, KNS ve *Mycoplasma* türlerinin en önemli kaynağı enfekte meme lobları, sağım hijyeninin eksik olması, sağımda kullanılan kontamine ekipman, sağım makinelerinin fonksiyon bozukluğudur. Sürü içerisinde inekten ineğe yayılım gösterir, genellikle meme paranzim dokusuna ve süt toplama kanallarına yerleşerek kronik mastitise yol açar ve sürü için devamlı bir mastitis kaynağı oluştururlar. Bu mikroorganizmalar memenin saprofitidir. Bulaşıcı mastitis etkenlerine %53.35-81.24 oranları arasında rastlanılmaktadır (Beytut ve ark, 2002; Ergün ve ark, 2004; Tel ve ark, 2009; Çokal ve Konuş, 2012; Yeşilmen ve ark, 2012; Baştan ve ark, 2015; Sağlam ve ark, 2018). Sunulan çalışmada 77 (%43.75) adet bulaşıcı mastitis etkeni bulundu. Tespit edilen bu oran ülkemizdeki oranlardan daha düşük olduğu belirlendi.

Sık görülen formu subklinik mastitis olsa da klinik mastitislerde de karşılaşılan, sürüde sinsiz yayılım göstererek süt verim düşüklüğünün yanında toksin üreten suşlarının neden olduğu gangrenli durumların ciddi kayıplara yol açtığı yüksek oranda bulaşıcı özelliği olan *S. aureus*'a ülkemizde sıklıkla rastlanılmaktadır (Vural ve ark, 2016). Yapılan birçok koruma-kontrol programlarına rağmen *S. aureus* subklinik mastitislerde %3.9-46.46 oranında tespit edilmiştir. (Beytut ve ark, 2002; Ergün ve ark, 2004; Tel ve ark, 2009; Macun ve ark, 2011; Çokal ve Konuş, 2012; Baştan ve ark, 2015; Koçyiğit ve ark, 2016; Sağlam ve ark, 2018). Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) ise %8.33-44.83 olarak belirlenmiştir. (Beytut ve ark, 2002; Ergün ve ark, 2004; Tel ve ark, 2009; Macun ve ark, 2011; Büyükcangaz ve ark, 2012; Çokal ve Konuş, 2012; Hadımlı ve ark, 2013; Baştan ve ark, 2015; Koçyiğit ve ark, 2016; Sağlam ve ark, 2018). Bulduğu sürüde çiftlik yönetimi iyi değil ise hızlı yayılım özelliği gösteren ve önemli ölçüde süt kaybına yol açan *Streptococcus agalactiae*'nin oranını Ergün ve ark (2004) %3.5, Acar ve ark (2012) %5.88, Beytut ve ark (2002) ise %9.37 olarak belirtmişlerdir. Bulaşıcı mastitis etkenleri arasında yer alan *Corynebacterium spp.*'nin görülme oranı %0.3-2.35 arasında değişmektedir (Baştan ve ark, 2015; Sağlam ve ark, 2018). Cins bazında incelendiğinde ise Tel ve ark (2009) *Corynebacterium bovis*'i %3.1, Beytut ve ark (2002) *Corynebacterium pyogenes*'i %19.79 oranında bulunduğunu ifade etmişlerdir. Çok sık olarak görülmesine de bir diğer bulaşıcı mastitis etkeni *Mycoplasma spp.* oranının %0.67 ile %5.47 arasında bulunduğu görülmüştür (Macun ve ark, 2011; Büyükcangaz ve ark, 2012; Sağlam ve ark, 2018). Yapılan çalışmada ise bulaşıcı mastitis etkenleri içerisinde *Staphylococcus aureus* 7 (%3.93), *Koagülaz Negatif Stafilokoklar* (KNS) 26 (%14.61), *Streptococcus agalactiae* 12 (%6.74), *Corynebacterium* türleri 32 (%17.98) adet tespit edildi. Bu çalışmada özel besi yeri gerektirdiği için *Mycoplasma spp.*'ye bakılmadı.

Çevresel mastitis etkenleri incelendiğinde; genelde %16.68-52.33 oranları arasında bulunduğu (Beytut ve ark, 2002; Ergün ve ark, 2004; Koçyiğit ve ark, 2016) ve tespit edilen %56.25 oranı ise ortalama değer üstünde olduğu görüldü. Çevresel mastitis etkenlerinden Gram negatif bakteriler hakkında Öztürk ve ark (2019)'nın 1687 süt örneğinde yapmış olduğu çalışmada izole edilen bakterilerin %8.84'ünün gram negatif bakteri olarak tespit etmişler, tespit edilen gram negatif bakteriler içerisinde en sıklıkla izole edilen %54.30 oranıyla *E. coli* olmuştur. Aynı çalışmada izole edilen diğer gram negatif bakteriler *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter sp.*, *Pasteurella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Proteus sp.*, *Flavobacter sp.*, *Alcaligenes faecalis* ve *Acitobacillus sp.* olarak tanımlanmıştır. Subklinik mastitis ile ilgili kaynaklarda koliform bakteriler arasında en önemli bakteri *E. coli*'dir (Beytut ve ark, 2002; Ergün ve ark, 2004; Tel ve ark, 2009; Büyükcangaz ve ark, 2012; Çokal ve Konuş, 2012; Baştan ve ark, 2015; Koçyiğit ve ark, 2016; Özdikmenli Tepeli ve Zorba, 2017; Sağlam ve ark, 2018). Tespit edilme oranları ise %2.2-28.9 arasında değişmektedir. Sunulan çalışmada *E. coli* %1.69 oranında tespit edildi. Bu oran bazı çalışmalardaki (Ergün ve ark, 2004; Baştan ve ark, 2015) orana yakın (%2.2 -2.73) olduğu ve ülkemizde subklinik mastitis ile ilgili bulunan oranların çok altında kaldığı görüldü. Tablo 14'de verilen değerler incelendiğinde çevresel mastitis etkenleri, altlık olarak gübrenin kullanıldığı işletmelerde yüzdesel olarak daha yüksek oranda belirlendi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Aydın ili Söke ilçesinin farklı mahallelerinde yapılan bu çalışmanın sonucunda, süt inekçiliği yapan işletmelerin göz ile görülmeyen ancak önemli derecede süt kayıplarına yol açan subklinik mastitis oranının, hayvan bazında %72.44 meme lobu bazında %46.63 olduğu görüldü.

California Mastitis Test pozitif örneklerin hepsinde bakteriyel üremeye rastlanılmaması, mastitislerin tek sebebinin bakteriler olmadığını, bunun yanında mantarların, viral, kimyasal ve fiziksel etkenlerin de mastitise yol açabileceğini düşündürmüştür.

Çiftliğin yapısı, hayvanların gün boyu zaman geçirdiği alanlar ve sağımhane ekipmanlarının temizliğine dikkat eden işletmelerde subklinik mastitis derecesinin daha düşük seyrettiği görülmüştür.

Mikrobiyolojik izolasyon ve identifikasyon sonucu ülkemizde sık olarak görülen bulaşıcı, çevresel ve fırsatçı mastitis etkenleri olan 45 farklı bakteri ve 1 mantar etkeni Aydın ili Söke ilçesinde de tespit edildi. *Corynebacterium sp.*, *Streptococcus agalactiae* ve *Streptococcus uberis*'in altlık ve sağım temizliğinin iyi olmadığı çiftliklerde yüksek oranda izole edildi, aynı zamanda bir çok izolasyon örneğinde bu mikroorganizmalara birlikte rastlanmıştır.

Çalışmanın yapıldığı işletmelerde subklinik mastitisin ne derece önemli bir sorun olduğu, ayrıca hastalığın tanı, tedavi ve daha önemlisi koruma-kontrol yolları hakkında yeterli bilgiye sahip olmadıkları tespit edilmiştir.

Süt ineği yetiştiriciliği yapılan işletmelerde belirli aralıklarla subklinik mastitis taraması yapılması, etken izolasyonu ve identifikasyonu ile mastitise karşı alınacak koruma ve kontrol tedbirleri işletmelerin karlılığı ve sürdürülebilirliği için önemli olduğu sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

Acar G, Yılmaz E, Solmaz H, Cantekin Z. Hatay bölgesinde klinik ve subklinik mastitisli ineklerden *Streptococcus* spp. etkenlerinin izolasyonu ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. *Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2012, 2 (2), 1-5.

Akdağ F, Gürler H, Teke B, Uğurlu M, Koçak Ö. Jersey ırkı ineklerde CMT skorlarının ve skorların değerlendirilmesinde farklılığın süt verimi, süt bileşimi ve subklinik mastitis tanısına etkisi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2017, 43 (1), 44-51.

Atasever S, Erdem H. Süt sığırlarında mastitis ile sütün elektriksel iletkenliği arasındaki ilişkiler. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2008, 23, 131-136.

Awale MM, Dudhatra GB, Avinash K, Chauhan BN, Kamanı DR, Modi CM, Patel HB, Mody SK. Bovine Mastitis: A Threat to Economy. *Open Access Scientific Reports*, 2012, 1, 295.

Aytekin İ, Boztepe S. Süt sığırlarında somatik hücre sayısı, önemi ve etki eden faktörler. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2014, 2(3), 112-121.

Baştan A. İneklerde Meme Sağlığı ve Sorunları 3. Baskı. Neyir Matbaacılık Tanıtım Hizmetleri, Ankara, 2019, 148-175.

Baştan A, Salar S, Cengiz M, Darbaz İ, Demirel MA, Özen D. The prediction of the prevalence and risk factors for subclinical heifer mastitis in Turkish dairy farms. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 2015, 39, 682-687.

Beytut E, Aydın F, Özcan K, Genç O. Kars ili ve yöresinde ineklerde mastitislerin patolojik ve bakteriyolojik olarak incelenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2002, 8 (2), 111-122.

Blood DC, Henderson, JA. Mastitis. Ed. D C Blood, In. ‘Veterinary Medicine’ 4. Edition Baillere Tindall, 1974, London.

Blowey R, Edmondson P. Targets and monitoring. In: Blowey R, Edmondson P. (Editors). Mastitis Control in Dairy Herds. USA; Saunders, 1995,140-145.

Busato A, Trachsel P, Schallibaum M, Blum JW. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. *Preventive Veterinary Medicine*, 2000, 44, 205-220.

Büyükçangaz E, Mat B, Khıder ABD Alrahım Ahmed M. Subklinik mastitisli sığır sütlerinin mikrobiyolojik analizi ve izolatların antimikrobiyal direnç profili. *Uludağ Üniversitesi Journal of Faculty Veterinary Medicine*, 31, 2012, 2, 35-44.

Chai H, Archambault M, Prescott JF. 16S ribosomal RNA sequence-based identification of veterinary clinical bacteria. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2003; 15: 465–469.

Çoban Ö, Tüzemen N. Siyah alaca ve esmer ineklerde subklinik mastitis için risk faktörleri. *Uludağ Üniversitesi Journal of Faculty Veterinary Medicine*, 2007,26, 1-2,27-31.

Çokal Y, Konuş R. Subklinik mastitisli ineklerin sütlerinden aerobik bakterilerin izolasyonu. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2012, 1(2), 65-69.

Çoşkun A, Şen İ. Sığırlarda akut faz proteinleri ve klinik kullanım alanları. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2011, 20(3), 240-246.

Deb R, Kumar A, Chakraborty S, Verma AK, Tiwari R, Dhama K, Singh U, Kumar S. Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review. *Pakistan Journal Biological Sciences*, 2013, 16, 1653-1661.

Edwards U, Rogall T, Blöcker H, Emde M, Böttger EC. Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Research*, 1989, 17(19), 7843-53.

Eskin Z, Türkyılmaz S. “Sağlıklı sığırların nazal boşluk flora bakterilerinin moleküler identifikasyonu”. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 2014, 25, 33-38.

Ergün Y, Aslantaş Ö, Doğruer G, Cantekin Z. Hatay ilindeki aile tipi süt sığırcılığı işletmelerinde subklinik mastitislerin epidemiyolojisi. *Veteriner Bilimler Dergisi*, 2004, 20 (4), 25-28.

Ergün Y, Köker A, Musal B, Taş S. Subklinik inek mastitislerinde sağaltım yaklaşımları. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2000, 6 (1-2), 101-105.

Eyduran E, Özdemir T, Yazgan K, Keskin S. Siyah Alaca inek sütündeki somatik hücre sayısına laktasyon sırası ve dönemin etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2005, 16, 61-65.

Genç F, Kaya O. Subklinik mastitisli sığırlardan *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* ve *Streptococcus dysgalactiae* etkenlerinin izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıklarının belirlenmesi. *Animal Health Production and Hygiene*, 2015, 4(2), 415 - 419.

Gürtürk K, Boynukara B, Ekin İH, Gülhan T. Van ve yöresindeki ineklerde subklinik mastitisin etiyolojisi üzerine bir çalışma. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1998, 9(1-2),1-4.

Grönlund U, Hallén Sandgren C, Persson Waller K. Haptoglobin and serum amyloid A in milk from dairy cows with chronic sub-clinical mastitis. *Veterinary Research*, 2005, Mar-Apr; 36 (2), 191-198.

Guimaraes JL, Brito MA, Lange CC, Silva MR, Ribeiro JB, Mendonça LC, Souza GN. Estimate of the economic impact of mastitis: A case study in a Holstein dairy herd under tropical conditions. *Preventive Veterinary Medicine*, 2017, 142, 46-50.

Gülcü HB, Ertaş HB. Elazığ yöresinde mezbahada kesilen ineklerde mastitisli meme loblarının bakteriyolojik incelenmesi. *Turkish Journal of Veterinary Animal Sciences*, 2004, 28, 91-94.

Gürbulak K, Canooğlu E, Abay M, Atabay Ö, Bekyürek T. İneklerde subklinik mastitisin farklı yöntemlerle saptanması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2009, 15(5), 765–770.

Hadimli HH, Sayın Z, Erganiş O, Kav K, Sakmanoğlu A. Subklinik mastitisli süt ineklerinden izole edilen koagulaz negatif stafilokokların identifikasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 2013, 30, 1, 14-19.

Hertl JA, Schukken YH, Tauer LW, Welcome FL, Gröhn YT. Does clinical mastitis in the first 100 days of lactation predict increased mastitis occurrence and shorter herd life in dairy cows? *Journal of Dairy Science*, 2018, 101, 2309-2323.

Honkanen-Buzalski T, Sandholm M. Trypsin-inhibitors in mastitic milk and colostrum: correlation between trypsin-inhibitor capacity, bovine serum albumin and somatic cell contents. *Journal of Dairy Research*, 1981, 48(2), 213-23.

Hortet P, Seegers H. Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 1998, 37(1-4), 1-20.

IDF (International Dairy Federation). Laboratory methods for use in mastitis work. Document no:132. Chapter 1:Recommended methods for somatic cell counting in milk, 1981.

Jasper DE. Environmental mastitis. *Veterinary Record*, 1982, 111(11), 226-236.

Kaşıkçı G, Çetin Ö, Bingöl EB, Gündüz MC. Relations between electrical conductivity, somatic cell count, California mastitis test and some quality parameters in the diagnosis of subclinical mastitis in dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2012, 36(1), 49-55.

Kawai K, Hayashi T, Kiku Y, Chiba T, Nagahata H, Higuchi H, Obayashi T, Itoh S, Onda K, Arai S, Sato R, Oshida T. Reliability in somatic cell count measurement of clinical mastitis milk using DeLaval cell counter. *Animal Science Journal*, 2013, 84(12), 805-7.

- Kelly AL, Tiernan D, Sullivan CO, Joyce P.** Correlation between bovine milk somatic cell count and polymorphonuclear leukocyte level for samples of bulk milk and milk from individual cows. *J. Dairy Sci.*, 2000, 83, 300-304.
- Kenar B, Bagcigil AF, Kuyucuoglu Y, Kahraman BB, Konak S.** Antimicrobial susceptibility profiles and coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Kaskas Univ Vet Fak Derg*, 2017, 23(4), 535-540.
- Keskin, A.** Sürülerde mastitis kontrol stratejileri, In: Sığırlarda sürü sağlığı ve yönetimi (1. Baskı), 1, Batmaz H, Alfa Akademi, Bursa, 2015: 335-378.
- Koçyiğit R, Yılmaz O, Özenç E, Uçar M.** Effect of some risk factors on subclinical mastitis in dairy cows. *Kocatepe Vet. J*, 2016, 9(3), 185-193.
- Longo F, Salat O, Van Gool F.** Incidence of clinical mastitis in French dairy herds, epidemiological data and economic costs. *Folia Veterinaria*, 2001, 45, 1.
- Lucey S, Rowlands GJ, Russel AM.** Short-term associations between disease and milk yield of dairy cows. *J Dairy Res.*, 1986, 53, 7-15.
- Macun HC, PİR YAĞCI İ, Unal N, Kalendar H, Sakarya F, Yıldırım M.** Kırıkkale’de belirlenen subklinik mastitisli ineklerde etken izolasyonu ve antibiyotik direnç durumu. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 2011, 8(2) , 83-89.
- Mellenberg R.** California mastitis test (CMT) an invaluable tool for managing mastitis. (<https://immucell.com/wp-content/uploads/2017/05/An-Invaluable-Tool.pdf>), 2001, Erişim Tarihi: 17.12.2019.
- Mc Fadden M.** California mastitis test and milk quality. *Michigan Daily Review*, 2011, Vol. 16, No:2.
- Mc Donald JS.** Bovine mastitis: Introductory remarks. *J Dairy Sci.*, 1979, 62: 117.
- Mtaallah B, Oubey Z, Hammami H.** Assessment of milk yield losses and subclinical mastitis risk factors using bulk milk somatic cell counts in dairy herds. *Revue de Medecine Veterinaire*, 2002, 153(4), 251-260.
- Mungube EO, Tenhagen BA, Regassa F, Kyule MN, Shiferaw Y, Kassa T, Baumann MPO.** Reduced milk production in udder quarters with subclinical mastitis and associated economic losses in crossbred dairy cows in Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 2005, 37(6), 503-512.
- Mutluer B.** Süt inekçiliğinde mastitis sempozyumu, 04-05 Mayıs, Burdur, Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, 2001, yayın no: 2, s:1.
- National Mastitis Council.** Current concept of bovine mastitis. 4 th Ed. NMC 2820 Walton Commons West Madison, 1996.

Nickerson SC, Owens WE, Boddie RL. Mastitis in dairy heifers: Initial studies on prevalence and control. *J. Dairy Sci.*, 1995, 78(7), 1607-1618.

Nielen M, Deluyker H, Schukken YH, Brand A. Electrical conductivity of milk: Measurement, modifiers, and meta analysis of mastitis detection performance. *Journal of Dairy Science*, 1992, 75, 606-614.

Nizamhođlu M, Kalaycıoğlu L, Dinç DA, Erganiş O, Özeren F. İneklerde subklinik mastitisin erken teşhisi amacıyla sütte N-asetil-β-D-glukozaminidaz (NAGase) enzim aktivitesinin tayini. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1992, 8(2), 60-63.

Olechnowicz J, Jaskowski J. Somatic cell count in cow's bulk tank milk. *Journal of Veterinary Medicine Science*, 2012, 74, 681-686.

Öner C. Genetik Kavramlar. Altıncı Baskıdan Çeviri. Hacettepe Üniversitesi. Ankara, 2002.

Özdemir S, Kaymaz M. Küçük aile işletmelerinde yetiştirilen ineklerde subklinik mastitis insidensi ve tanı yöntemlerinin karşılaştırılması. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2013, 8(1), 71-79.

Özdikmenli Tepeli S, Zorba NN. Çanakkale (Yenice) İlinde üretilen çiğ sütlerin bazı özellikleri ve subklinik (Gizli) mastitis görülme oranı. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 2017, 18(1), 41-47.

Özenç E. Determination of risk factors associated with subclinical mastitis as detected by california mastitis test in smallholder dairy farms in Afyonkarahisar. *Kocatepe Veterinary Journal*, 2019, 12(3), 277-283.

Öztürk D, Yapıcıer ÖŞ, Şabanoğlu E, Kaya M, Pehlivanođlu F, Türütođlu H. The antibiotic resistance of gram negative bacteria isolated from bovine mastitis. *Van Veterinary Journal*, 2019, 30(2), 85-89.

Özyurtlu N. İneklerde mastitisin ekonomik ve sağlık açısından önemi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2011, 1(5), 36-38.

Philpot WN, Nickerson SC. Mastitis: Counter Attack. Naperville, USA, Babson Bros Co. 1991.

Pyorala S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research*, 2003, 34, 565-578.

Quinn PJ, Carter ME, Markey BK, Carter GR. Clinical Veterinary Microbiology. Spain, Wolfe Publishing. 1994, pp, 118-345.

Rişvanlı A, Kalkan C. Sütçü ineklerde yaş ve ırkın subklinik mastitisli memelerin sütlerindeki somatik hücre sayıları ile mikrobiyolojik izolasyon oranlarına etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2002, 13(1-2), 84-87.

Rişvanlı A, Kalkan C. Elazığ bölgesi süt ineklerinde klinik ve subklinik mastitislerin dağılımı, mastitislere sebep olan mikroorganizmaların izolasyonu ve antibiyotiklere duyarlılıkları üzerine çalışma. Süt İnekçiliğinde Mastitis Sempozyumu, Burdur 04-05 Mayıs, *Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi*, Yayın No: 2, 2001, 59-67.

Sabuncuoğlu N, Çolak A, Akbulut Ö, Tüzemen N, Bayram B. Siyah-Alaca ve Esmer ineklerde CMT skoru ile bazı süt verim özellikleri arasındaki ilişkiler. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2003, 34(2), 139-143.

Sağlam AG, Otlu S, Çoşkun MR, Çelik E, Büyük F, Şahin M. Prevalence of subclinical mastitis in cows, isolation of agents and determination of their antibiotic susceptibility. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences*, 2018, 34, 2, 92-98.

Sanford CJ, Keefe GP, Sanchez J0, Dingwell RT, Barkema HW, Leshe KE, Dohoo IR. Test characteristics from latent-class models of the California Mastitis Test. *Preventive Veterinary Medicine*, 2006, 77, 96-108.

Saydan M, Kalkan C. Malatya Arguvan yöresinde süt ineklerinde subklinik mastitis prevalansı. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 2017, 31(3), 193 - 200.

Schalm OW, Carroll EJ, Jain NC. Bovine Mastitis. Philadelphia, Lea&Febiger, 1971.

Schepers JA, Dijkhuizen AA. The economics of mastitis and mastitis control in dairy cattle; A critical analyses of estimates published since 1970. *Preventive Veterinary Medicine*, 1991, 10(3), 213-224.

Sergeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabek BJ, Lim GH. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infeciton in early lactation. *Journal Dairy Science*, 2001, 84, 2018-2024.

Seykora AJ, McDaniel BT. Udder and teat morphology related to mastitis resistance: A review. *Journal Dairy Science*, 1985, 68, 2087-2093.

Şeker İ, Rişvanlı A, Kul S, Bayraktar M, Kaygusuzođlu G. İsviçre Esmeri ineklerde meme özellikleri ve süt verimi ile CMT skoru arasındaki ilişkiler. *Lalahan Hayvan Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2000, 40, 29-38.

Şendağ S, Emre B. Memenin Morfolojisi. In: Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıları. 1. Baskı, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A., Medipres, Malatya, 2016, 3-18.

Taşal İ, Köker A. Sütçü işletmelerde sağım ve sağım makinelerine bağlı şekillenen meme ve meme başı sorunları. Öcal H, editör. İneklerde Mastitis Dışındaki Meme, Meme Başı ve Meme Derisinin Hastalıkları. 1. Baskı. Ankara, *Türkiye Klinikleri Veteriner Bilimleri Dergisi*, 2019, 37-46.

Taponen S, Liski E, Heikkila AM, Pyörala S. Factors associated with intramammary infection in dairy cows caused by coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, or *Escherichia coli*. *Journal Dairy Science*, 2017, 100, 493-503.

Tekeli T. AB sürecinde kaliteli süt üretimi ve somatik hücre sayısı. Güzeliş Ofset Matbaa, Konya, 2005, 19-35.

Tel OY, Keskin O, Zonturlu AK, Arsenim Kaya NB. Şanlıurfa yöresinde subklinik mastitis görölme oranı, aerobik bakteri izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 2009, 23(2), 101-106.

TUİK, 2019. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1002, (15.12.2019)

Turner PC, McLennan AG, Bates AD, White MRH. Moleküler Biyoloji Önemli Notlar. Nobel Yayınları, 2004.

Viguiet C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R. Mastitis detection: Current trends and future perspectives. *Journal of Biotechnology*, 2009, 27, 486-493.

Vural R, Ergün Y, Özenç E. Büyük ruminantlarda mastitis, In: Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. 1. Baskı, Kaymaz M, Fındık M, Rışvanlı A, Köker A., Medipres, Malatya, 2016, 149-259.

WEB_1. (2019).<http://www.milktest.jp/eng/milkchecker.html> (10.12.2019)

Wolfova M, Stipkova M, Wolf, J. Incidence and economics of clinical mastitis in five Holstein herds in the Czech Republic. *Preventive Veterinary Medicine*, 2006, 77(1-2), 48-64.

Yalcın C, Cevger Y, Türkyılmaz K, Uysal G. Süt ineklerinde subklinik mastitisten kaynaklanan süt verim kayıplarının tahmini. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 2000, 24, 599-604.

Yalcın C. İneklerde süt verimi ile kaliforniya mastitis test arasındaki ilişki ve subklinik mastitisten kaynaklanan süt verim kayıplarının tahmini. *Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Dergisi Elektronik Versiyonu*, 2001, 1, 1, 47-54.

Yeşilmen S, Özyurtlu N, Bademkırın S. Diyarbakır yöresinde subklinik mastitisli ineklerde etken izolasyonu ve duyarlı antibiyotiklerin belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2012, 1 (4), 24-29.

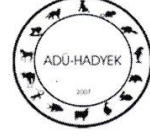
Zheng D, Alm EW, Stahl DA, Raskin L. Characterization of universal small-subunit rRNA hybridization probes for quantitative molecular microbial ecology studies. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(12), 4504-13.

EKLER

Ek 1



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK
KURULU
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 30.Ocak. 2018

Sayı: 64583101/2018/003

Konu: Başvuru Hakkında Bilgilendirme

Sayın, Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN

ADÜ Veteriner Fak. Doğum ve Jinekoloji A.B.D. Öğr. Üyesi

Kurulumuza 25.01.2018 tarihinde başvurduğunuz “Aydın ili Söke ilçesinde siyah-alaca ineklerde subklinik mastitis prevalansının belirlenmesi” Konu başlıklı çalışmanız Kurulumuzca gündeme alınmış ve değerlendirilmiştir.

Yapılan değerlendirme sonucunda, çalışmanızda deney hayvanı kullanılmayacağı anlaşılmış olup, Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına dair Yönetmeliğin madde 8k/2 bendi uyarınca, deney hayvanı kullanımı olmayan çalışmalar için HADYEK onayı gerekmemektedir.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Mehmet Dinçer BİLGİN

ADÜ-HADYEK Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı : ÇELİK ÖZKAN

Uyruk : T.C.

Doğum yeri ve tarihi : AYDIN / 05.12.1991

E-mail : vethekoskancelik@gmail.com

Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi	2015

BURSLAR ve ÖDÜLLER

Yüksek onur öğrencisi (İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi-2015)

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2016-	KAR-VET Karadeniz Veteriner Muayenehanesi	Veteriner Hekim