

SUBKLİNİK MASTİTİSLERİN TEŞHİS YÖNTEMLERİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR*

Deniz NAK**

ÖZET

Bu çalışma, California Mastitis Test (CMT), Direkt Mikroskopik Somatik Hücre Sayımı (DMSHS), ayırıcı hücre sayımı bulgularına göre normal ve subklinik mastitisli olarak ayrılan süt örneklerinde çeşitli biyokimyasal testleri karşılaştırmalı olarak incelemek ve bu testlerin ineklerde subklinik mastitislerin teşhisinde kullanılabilirliğini saptamak için yapıldı. Bu çalışma da, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Uygulama ve Araştırma Çiftliğinde ve Bursa bölgesindeki ticari sütçü işletmelerde bulunan 3-7 yaşlı, Holstein, Montofon ırklarına ait 100 adet inek araştırma materyali olarak kullanıldı. Bütün ineklere ilk önce CMT uygulandı. CMT sonuçlarına göre " - " reaksiyon gösteren 30 meme lobu sağlıklı, "?", 1+, 2+, 3+" reaksiyon gösteren 70 meme lobu subklinik mastitisli olarak ayrıldı. Daha sonra, DMSHS ve Ayırıcı hücre sayımları yapıldı.

Sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerden toplanan süt serumlarının mineral madde analiz sonuçları sırasıyla; Na, % 43.37 ± 2.92mg - % 58.51 ± 3.68mg (P<0.005); K, % 97.53 ± 4.44mg - % 80.37 ± 4.56mg (P<0.02); Cl, % 72.95 ± 3.26mg - % 108.27 ± 4.50mg (P<0.001); Pi, % 2.34 ± 0.41mg - % 2.29 ± 0.04mg (P>0.90); Mg, % 2.63 ± 0.07mg - % 2.51 ± 0.04mg (P>0.20); Ca, % 40.36 ± 2.29mg - % 48.05 ± 1.85mg (P<0.05) olarak belirlendi. Sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerden toplanan süt serumlarının enzim analiz sonuçları sırasıyla; LDH, 39.83 ± 10.98 U/L - 410.47 ± 59.26 U/L (P<0.001); AST, 2.5 ± 0.71 U/L - 22.74 ± 4.92 U/L (P<0.02); ALT, 4.5 ± 0.99 U/L - 12.23 ± 1.88 U/L (P<0.05); Amilaz, 5.46 ± 1.53 U/L - 6.67 ± 1.86 U/L (P>0.50); GGT, 1326.38 ± 160.37 U/L - 1710.77 ± 151.53 U/L (P>0.10); CK, 4.86 ± 0.68 U/L - 14.04 ± 1.91 U/L

* Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

** Araş. Gör. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Bursa-TÜRKİYE

($P < 0.005$); ALP, 261.47 ± 34.25 U/L - 723.79 ± 64.66 U/L ($P < 0.001$); ASP, 0.63 ± 0.20 U/L - 2.16 ± 0.34 U/L ($P < 0.005$) olarak saptandı. Sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerden toplanan süt serumlarının metabolit analiz sonuçları sırasıyla; glikoz, 3.52 ± 0.42 mg/dl - 1.53 ± 0.15 mg/dl ($P < 0.001$); kolesterol, 7.27 ± 0.76 mg/dl - 8.04 ± 0.57 mg/dl ($P > 0.20$); trigliserid, 19.33 ± 1.71 mg/dl - 25.64 ± 1.81 mg/dl ($P > 0.05$) olarak bulundu.

Sonuç olarak, sütte yapılan direkt ve indirekt somatik hücre sayımlarının, süt serumlarında Na, K, Cl gibi mineral maddelerin, LDH, AST, ALT, CK, ALP, ASP enzim aktivitelerinin, glikoz metabolitinin saptanmasının subklinik mastitislerin teşhisinde başarılı bir şekilde kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: İnek, Subklinik mastitis, Teşhis, Biyokimyasal değişiklikler.

SUMMARY

Studies on Diagnostic Methods of Subclinical Mastitis in Cows

This study was conducted to investigate comparatively various biochemical test on normal and subclinical mastitic milk samples, diagnosed according to the California Mastitis Test (CMT), Direct Microscopic Somatic Cell Count (DMSCC), Differential Cell Count (DCC) results and to establish usefulness of these tests in the diagnosis of subclinical mastitis cases in cows. In the present, a total of 100 Holstein, Brown-Swiss cows, in 3-7 years old, supplied by Faculty of Veterinary Medicine University of Uludağ and commercial dairy farms in the region of Bursa, were used as research materials. CMT was performed previously on milk samples obtained from all cows. According to the test results, 30 mammary quarters shown " - " reactions were identified as free from subclinical mastitis. The other 70 mammary quarters reacted "?", 1+, 2+, 3+" were identified as subclinical mastitis. Than, DMSCC and DCC were done.

The results of mineral elements analysis of milk serum samples collected from healthy and subclinical mastitis cows were shown as follows; Na, % 43.37 ± 2.92 mg - % 58.51 ± 3.68 mg ($P < 0.005$); K, % 97.53 ± 4.44 mg - % 80.37 ± 4.56 mg ($P < 0.02$); Cl, % 72.95 ± 3.26 mg - % 108.27 ± 4.50 mg ($P < 0.001$); Pi, % 2.34 ± 0.41 mg - % 2.29 ± 0.04 mg ($P > 0.90$); Mg, % 2.63 ± 0.07 mg - % 2.51 ± 0.04 mg ($P > 0.20$); Ca, % 40.36 ± 2.29 mg - % 48.05 ± 1.85 mg ($P < 0.05$), respectively. The results of enzymes activity analysis of milk serum samples collected from healthy and subclinical mastitis cows were as follows; LDH, 39.83 ± 10.98 U/L - 410.47 ± 59.26

U/L ($P < 0.001$); AST, 2.5 ± 0.71 U/L - 22.74 ± 4.92 U/L ($P < 0.02$); ALT, 4.5 ± 0.99 U/L - 12.23 ± 1.88 U/L ($P < 0.05$); Amylase, 5.46 ± 1.53 U/L - 6.67 ± 1.86 U/L ($P > 0.50$); GGT, 1326.38 ± 160.37 U/L - 1710.77 ± 151.53 U/L ($P > 0.10$); CK, 4.86 ± 0.68 U/L - 14.04 ± 1.91 U/L ($P < 0.005$); ALP, 261.47 ± 34.25 U/L - 723.79 ± 64.66 U/L ($P < 0.001$); ASP, 0.63 ± 0.20 U/L - 2.16 ± 0.34 U/L ($P < 0.005$), respectively. The results of metabolites analysis of milk serum samples collected healthy and subclinical mastitis cows were as below; glucose, 3.52 ± 0.42 mg/dl - 1.53 ± 0.15 mg/dl ($P < 0.001$); cholesterol, 7.27 ± 0.76 mg/dl - 8.04 ± 0.57 mg/dl ($P > 0.20$); triglyceride, 19.33 ± 1.71 mg/dl - 25.64 ± 1.81 mg/dl ($P > 0.05$), respectively.

As a results, it was concluded that direct and indirect somatic cell counts of milk, determination of the level of Na, K, Cl, glucose and LDH, AST, ALT, CK, ALP, ASP activities in milk serum samples can be used satisfactory in the diagnosis of subclinical mastitis cases.

Key Words: Cow, Subclinical mastitis, Diagnosis, Biochemical changes.

GİRİŞ

Tüm dünyada olduğu gibi, ülkemiz süt sığırcılığı da, yaygın mastitis (meme yangısı) olguları ile olumsuz yönde etkilenmektedir. Memede meydana gelen yangı ile karakterize olan mastitisin değişik formları vardır. Mastitis formları içerisinde gözle görülür klinik teşhisin kolayca yapılamadığı "Subklinik Mastitisler" ayrı bir öneme sahiptir. Subklinik mastitisler, meme dokusunu, sütün bileşimini ve miktarını etkilemekle birlikte şekillenen değişikliklerin hiç birisi gözle veya klinik muayenelerle tespit edilemez. Teşhis, ancak klinik kimyasal testler, bakteriyolojik muayeneler ve biyokimyasal yöntemlerle yapılabilmektedir. Subklinik mastitislerin klinik olanlara kıyasla 40-50 defa daha fazla şekillenmesi de hastalığın ekonomik önemini arttırmaktadır^{1,2,3}.

Sandholm ve Mattila², sütün bileşiminde meydana gelen değişiklikleri ve bunlara dayanan teşhis testlerini a) kandan süt içerisine nötrofilik PMN lökositlerin göçü sebebiyle artan Somatik Hücre Sayı (SHS)'lerinin direkt ve indirekt hücre sayım metotları ile gösterilmesi, b) kan ve süt kompartmanları arasındaki permeabilitenin artması neticesinde süt içerisine sızan Bovine Serum Albumin (BSA) ve antitripsinin tespit edilmesi, c) Na ve Cl ün artması, K'un azalması, pH ve Elektriksel geçirgenliğin artması gibi iyon kompozisyonunda meydana gelen değişikliklerin saptanması, d) Hücre sel hasar neticesinde süt içerisine sızan hücre içeriklerinin belirlenmesi, e) Meme bezi epitelinin sentez kapasitesinde (yağ, kazein, laktoz) meydana gelen azalmaya işaret eden testler şeklinde sıralamışlardır.

Somatik hücre sayımı, mastitisin teşhisinde güvenilir bir test olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır^{4,5,6}. Sütlerdeki hücrelerin sayıları ve tipleri fizyolojik ve patolojik şartlar altında değişebilir. Epitel hücrelerin fizyolojik hasar ve doku hasarının sonucu olarak sütteki sayıları artar. Lökositler ise kandan köken alırlar ve sebebi ne olursa olsun doku hasarından dolayı süte geçerler^{6,7,8}. Mastitisli sütlerde artan SHS'ları CMT gibi indirekt ve DMSHS, elektronik gereçlerle (coulter counter ve fossomatik gibi) yapılan direkt testlerle saptanmaktadır^{1,4-8}. Mastitisli sütlerde SHS ve bakteriyel enfeksiyon arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir çok çalışmada^{7,9-13}, mastitislerin tanısında sütte SHS'larının araştırılmasının güvenilir yöntemlerden biri olduğu ortaya konulmuştur.

Memedeki enfeksiyon, duktusların ve sekreterik epitelin hasarına, sekreterik epitel hücreleri arasındaki birleşme noktalarının açılmasına, kan kapillar permeabilitesinin artmasına ve süütün osmotik basıncının yükselmesine sebep olur. Netice olarak mastitisli sütte Na ve Cl seviyesi artar. K, Ca, Pi ve Mg seviyelerinde ise düşme meydana gelir^{2,3,6,7}. Araştırmalar¹⁴⁻²⁰ mastitisli sütlerin mineral madde kompozisyonunda meydana gelen bu değişikliklere dayanarak mastitisin teşhisinin yapılabileceğini göstermiştir.

Mastitiste, mikroorganizmaların meme kanalını enfekte etmesi ile bakteriler, süte geçen lökositler ve parçalanmış epitel hücrelerinden enzimler, serbest hale geçmektedir. Substrat ve dokuya karşı özel oluşundan dolayı teşhiste enzimlerin kullanılması değerli bir yaklaşımdır³. Sağlıklı ve mastitisli ineklerin kan ve süt örneklerinde yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda, mastitisli ineklerde Laktat Dehidrojenaz (LDH)²¹⁻²³, Aspartat Aminotransferaz (AST)^{18,23}, Alkalen Fosfat (ALP)^{18,24}, Asit Fosfat (ASP)^{4,25,26}, Amilaz^{3,7,27}, gamma-glutamil transferaz (GGT)²⁸ ve Kreatin kinaz (CK)²⁹ enzim aktiviteleri sağlıklı ineklere nazaran daha yüksek olarak saptanmıştır.

Mastitiste meme bezi epitelinin sentez ve sekresyon aktivitesinin bozulmasının bir sonucu olarak süt üretiminin toplam miktarında bir azalma ile birlikte, süütün bileşimini oluşturan temel içeriklerin (yağ, protein, karbonhidrat) seviyelerinde önemli değişiklikler meydana gelir^{4,7}. Mastitisle ilgili olarak süütün yağ ve glikoz miktarında düşme, kolesterol içeriğinde ise artma olduğu bildirilmektedir^{3,4,25}.

Subklinik mastitislerin tanısı amacıyla, süt ve plazma prostaglandin değerlerinin belirlenmesi^{28,30}, plazma eritrosit glutasyon testi (GSH)^{28,30}, plazmada eritrosit glutasyon peroksidaz testi (GSH-Px)²⁸, plazma albumin değerlerinin belirlenmesi³⁰, süütün H iyon konsantrasyonunun belirlenmesi³¹, sütte bakteriyel ATP'nin belirlenmesi³², süütün monoklonal antikor seviyesinin belirlenmesi³³ gibi çok sayıda test kullanılmaktadır.

Biz bu çalışmamızda, CMT, DMSHS ve ayırıcı hücre sayımı bulgularına dayanarak, normal ve subklinik mastitisli olarak ayrılan sütlerde,

çeşitli biyokimyasal testleri karşılaştırmalı olarak incelemeyi ve bu testlerin subklinik mastitislerin tanısında kullanılabilirliğini saptamayı amaçladık.

MATERYAL ve METOT

Bu çalışma da, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Uygulama ve Araştırma Çiftliği ve Bursa yöresindeki ticari sütçü işletmelerde bulunan 3-7 yaşlı, Holstein ve Montofon ırklarına ait 100 adet inek materyal olarak kullanıldı. Çalışma materyalinin seçimi CMT sonuçlarına göre yapıldı. CMT' i Schalm ve ark.⁷'nin tarif ettiği şekilde yapıldı. CMT "-" sonuç alınan 30 meme lobu sağlıklı ve CMT "? , 1+ , 2+ , 3+" sonuç alınan 70 meme lobu subklinik mastitisli kabul edilerek çalışmaya alındı. Daha sonra süt örnekleri toplandı. Süt örneklerinin DMSHS'ları Aydın³⁴'nin belirttiği şekilde yapıldı. Ayırıcı hücre sayımlarının yapılmasında ise histoloji atlasından³⁵ faydalandı. Bütün biyokimyasal testler süt serumlarında çalışıldı. Süt serumu Andersson³⁶'un tarif ettiği şekilde ayrıldı. Cl: Chlore Color A 01390 F 9989¹, Pi: Phosphore U.V. A 02477 T 02477 E 9986², Mg: Magnesium Calmagite A 02322 T 02322 F 9991³, LDH S.F.B.C. A 03007 T 03007 F 9991⁴ AST/TGO Monoreactif A 03010 T 03010 F 9991⁵, ALT/TGP Monoreactif A 03020 T 03020 F 9991⁶, a- Amylase A 03016 T 03016 F 9987⁷, GGT A 03026 T 03026 F 9986⁸, CK Monoreactif A 03003 T 03003 F 9987⁹, glikoz: Glucose Enzymatique Color II A 02466 T, 02466 F 9985¹⁰, kolesterol: Cholesterol Enzymatique II A 01375 T 01375 F 9986¹¹, trigliserid: Triglycerides Enzymatique Trinder II A 01543 T 01543 F 9987¹² kitleri ile "Technicon RA-1000T" "Autoanalyzer" cihazı kullanılarak saptandı. Na ve K seviyeleri Flame fotometrik olarak Integrating Flame Photometer Model 277 cihazında ölçüldü. Ca kompleksometri metodu ile belirlendi. Alkalen fosfataz; diethanolamine, MgCl₂ ve 4- nitrophenylphosphate disodium tuzu, Asit fosfataz ise, sitrik asit ve trisodium sitrat tamponlarıyla ölçüldü.

Çalışma bulguları, Kan³⁷'nin tarif ettiği şekilde, student "t" testi kullanılarak istatistiki açıdan değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışma materyalinin seçiminde kullanılan CMT sonuçlarına göre "-" sonuç alınan 30 normal ve "? , 1+ , 2+ , 3+" sonuç alınan 70 subklinik mastitisli kabul edilen süt örneklerinde yapılan sırasıyla DMSHS, ayırıcı hücre sayımı, süt serumu mineral madde, enzim ve metabolit seviyeleri sonuçları Tablo I, II, III, IV, V'te özetlenmiştir.

Tablo: I
Normal ve Subklinik Mastitisli Kabul Edilen Süt
Örneklerindeki DMSHS Bulguları

	Normal X±S.H.	Subklinik mastitisli X±S.H.	İstatistiki önem
SHS ml/süt	133.666±15.798	1.087.571±58.489	P < 0.001

S.H. Standart Hata

Tablo: II
Normal ve Subklinik Mastitisli Kabul Edilen Süt Örneklerindeki
Ayrırcı Hücre Sayımı Bulguları

Hücre tipleri		Normal	Subklinik mastitisli
		SHS < 500.000 hüç/ml	SHS > 500.000 hüç/ml
Epitel Hücreler*	Ort	112.333	342.000
	(%)	(83.41)	(31.44)
Lökositler*	Ort	22.333	745.571
	(%)	(16.58)	(68.55)
PMN Lökositler**	Ort	4666	605.428
	(%)	(20.89)	(81.20)

* Epitel hücrelerin ve lökositlerin ortalamaları ve yüzdeleri toplam SHS'ları üzerinden hesap edildi.

** PMN lökositlerin ortalamaları ve yüzdeleri toplam lökosit sayıları üzerinde hesap edildi.

Tablo: III
Normal ve Subklinik Mastitisli Sütlerden Elde Edilen Süt
Serumlarına Ait Mineral Madde Seviyeleri

Mineral maddeler (%mg)	Normal	Subklinik mastitisli	İstatistiki önem
	SHS < 500.000 hüç/ml X±S.H.	SHS > 500.000 hüç/ml X±S.H.	
Na	43.37±2.92	58.51±3.68	P < 0.005
K	97.53±4.44	80.37±4.56	P < 0.02
Cl	72.95±3.26	108.27±4.50	P < 0.001
Pi	2.34±0.41	2.29±0.04	P > 0.90
Mg	2.63±0.07	2.51±0.04	P > 0.20
Ca	40.36±2.29	48.05±1.85	P < 0.05

Tablo: IV
Normal ve Subklinik Mastitisli Sütlerden Elde Edilen
Süt Serumlarına Ait Enzim Seviyeleri

Enzimler (U/L)	Normal	Subklinik mastitisli	İstatistiki önem
	SHS < 500.000 hüç/ml X±S.H.	SHS > 500.000 hüç/ml X±S.H.	
LDH	39.83±10.98	410.47±59.26	P < 0.001
AST	2.5±0.71	22.74±4.92	P < 0.02
ALT	4.5±0.99	12.23±1.88	P < 0.05
Amilaz	5.46±1.53	6.67±1.86	P > 0.50
GGT	1326.38±160.37	1710.77±151.53	P > 0.10
CK	4.86±0.68	14.04±1.91	P < 0.005
ALP	261.47±34.25	723.79±64.66	p < 0.001
ASP*	0.63±0.20	2.16±0.34	P < 0.005

* Asit fosfataz aktivitesi sadece 11 sağlıklı ve 36 subklinik mastitisli meme lobuna ait süt serumlarında ölçülebildi ve asit fosfataz aktivitesi ile ilgili istatistiki değerlendirmeler, sınırlı sayıda numuneden elde edilen ölçüm sonuçlarına göre yapıldı.

Tablo: V
Normal ve Subklinik Mastitisli Sütlerden Elde Edilen
Süt Serumu Metabolit Seviyeleri

Metabolitler (MG/DL)	Normal	Subklinik Mastitisli	İstatistiki önem
	SHS < 500.000 hüç/ml X±S.H.	SHS > 500.000 hüç/ml X±S.H.	
Glikoz	3.52±0.42	1.53±0.15	P < 0.001
Kolesterol	7.27±0.76	8.04±0.57	P > 0.20
Trigliserid	19.33±1.71	25.64±1.81	P > 0.05

TARTIŞMA ve SONUÇ

Sütün bileşiminde meydana gelen değişiklikler, meme enfeksiyonlarının teşhisinde kullanılacak testlerin oluşturulmasına olanak sağlamaktadır. Bu testler mastitis kontrol programlarında yaygın biçimde kullanılmaktadır^{2,4}.

Mastitisli sütte SHS'ındaki artışı indirekt olarak gösteren CMT'i çalışma materyalinin seçiminde kullanılmış, daha sonra sütlerin DMSHS'ları ve ayırıcı hücre sayımları yapılmıştır. Sunulan bu çalışma da, CMT "-" sonuç veren süt örneklerindeki ortalama SHS değeri, IDF⁵ tarafından sağlıklı ve subklinik mastitisli sütlerin ayırımında kullanılan 500.000 hüç/ml sınır

değerinin altında, CMT "?, 1+, 2+, 3+" sonuç veren süt örneklerinin ortalama SHS değeri ise bu sınır değerinin üzerinde saptandı (Tablo-I). Normal ve subklinik mastitisli sütlerin SHS değerleri arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olduğu belirlendi ($P<0.001$). Bir çok literatürde^{5,7,11,38}, mastitisli sütlerde PMN lökositlerin yangının şiddeti ile birlikte arttığı ve toplam SHS'nın % 90-95 veya daha fazlasını oluşturduğu ileri sürülmüştür. Tablo-II'de de görüldüğü gibi, yapılan bu çalışma da, toplam SHS'nın, normal sütlerde % 83.41'ini epitel hücrelerin, % 16.58'ini lökositlerin, subklinik mastitisli sütlerde ise % 31.44'ünü epitel hücrelerin, % 68.55'ini lökositlerin oluşturduğu belirlendi. Toplam lökosit sayıları içerisinde PMN lökositlerin oranının normal sütlerde % 20.89, subklinik mastitisli sütlerde de % 81.20 olduğu saptandı.

Mastitisli hayvanlarda meme dokusu permeabilitesinin bozulmasının sonucu olarak oluşan sütteki Na ve Cl miktarındaki artışın ve K seviyesindeki azalmanın belirlenmesi meme enfeksiyonlarının tanısında, bir çok araştırmacı^{14,15,16,17,39} tarafından yaygın olarak kullanılmıştır. Kalaycıoğlu ve Ergun⁴⁰, yaptıkları çalışmalarında normal ve subklinik mastitisli sütlerde Na, K ve Cl değerlerini sırası ile % 54.62 mg - % 89.73mg, % 159.62 mg - % 158.46mg, % 95.123mg - % 121.21mg olarak belirlemişlerdir. Bogin ve Ziv¹⁸ mastitis, esnasında, mastitisli sütlerdeki Mg seviyesinin normal sütlere nazaran % 18mg'dan % 6mg'a, Pi seviyesinin ise % 26mg'dan % 6.4mg'a kadar düştüğünü saptamışlardır. Sunulan bu çalışma da, sağlıklı hayvanların süt serumlarına nazaran subklinik mastitisli hayvanların süt serumlarında Na için istatistiksel olarak $P<0.005$ önem derecesinde, Cl için $P<0.001$ önem derecesinde artış, K için ise $P<0.02$ önem derecesinde düşüş kaydedildi. Pi ve Mg seviyelerinde istatistiksel olarak önem taşımayan bir düşüş belirlendi. Mastitisli sütün Ca seviyelerinde ise literatürlerin bir kısmında azalma^{4,18}'nin yanında artışta bildirilmiştir^{20,41}. Bazı literatürlerde^{19,42} ise Ca seviyelerinin başlangıçta azaldığı daha sonra ise arttığı saptanmıştır. Bu çalışmada ise; sağlıklı hayvanların süt serumlarına nazaran, subklinik mastitisli hayvanların süt serumları Ca seviyelerinde artış belirlendi ($P<0.05$). Bu artış bazı literatürlerde^{19,20,41,42} ifade edildiği gibi, ya süt örneklerinin alındığı andaki yangının safhasından ya da kullanılan metotlar arasındaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir.

Enzimler doku veya hücreye özgü olduklarından dolayı mastitislerin teşhisinde en uygun belirleyici faktörlerden biri olarak kullanılmışlardır. Bu amaçla çok sayıda enzim üzerinde çalışma yapılmıştır^{4,18,21,23,24,26-29}. Subklinik mastitislerin teşhisinde LDH enzim aktivitesinden faydalanma olanaklarının araştırıldığı çalışmalarda^{21-23,41,43}, normal ve subklinik mastitisli süt örneklerinin LDH enzim aktiviteleri sırası ile 2.67 U/L - 100 U/L ve 130 U/L - 526.67 U/L arasında bulunarak, teşhiste bu enzim aktivitesinin başarı ile kullanılabileceği vurgulanmıştır. Mert ve arkadaşları⁴¹, subklinik mastitisin

sütte meydana getirdiği biyokimyasal değişimleri araştırdıkları çalışmalarında, normal ve mastitisli sütlerde sırası ile AST enzim aktivitesini 4.60 U/L - 5.8 U/L, ALP enzim aktivitesini ise 113 U/L - 376 U/L olarak saptamışlardır. Bogin ve Ziv¹⁸'de normal sütlerle nazaran mastitisli sütlerde LDH aktivitesinde 18 kat, AST aktivitesinde 7 kat, ALP aktivitesinde 6 kat artış olduğunu bulmuşlardır. Mastitisli hayvanların kan ve süt örneklerinde amilaz, GGT ve CK aktivitesindeki değişikliklerin araştırıldığı çalışmalarda²⁷⁻²⁹, sağlıklı hayvanlara nazaran bu enzim aktivitelerindeki belirgin artış ortaya konulmuştur. Anderson ve arkadaşlarının deneysel olarak oluşturulan mastitis sonucunda, mastitisli sütlerin asit fosfataz aktivitesini normal sütlerle göre 4 ile 10 kat daha fazla saptadığı ifade edilmektedir⁴. Bu çalışma da, gerekli özen gösterilmesine rağmen bütün süt serumlarında asit fosfataz aktivitesi ölçülemedi. Bu durum asit fosfataz aktivitesinin oda sıcaklığında çok değişken olmasından kaynaklanmış olabilir⁴⁴. Sunulan bu çalışma da, Tablo IV'de görüldüğü gibi sağlıklı hayvanların süt serumlarına nazaran subklinik mastitisli hayvanların süt serumlarında LDH, AST, ALT, CK, ALP ve asit fosfataz enzim aktivitelerinde değişen derecelerde istatistiksel önem taşıyan artışlar saptandı. Amilaz ve GGT enzim aktivitelerinde ise sağlıklı hayvanların süt serumlarına nazaran subklinik mastitisli hayvanların süt serumlarında artış belirlendi. Ancak bu artış istatistiksel önem göstermedi.

Marschke ve Kitchen⁴⁵, normal ve mastitisli sütlerde glikoz seviyelerini araştırdıkları çalışmalarında, süt glikoz seviyelerini SHS 500.000 hüç/ml'nin altında olan süt örneklerinde 0.27µM, SHS 500.000 hüç/ml'nin üzerinde olan süt örneklerinde ise 0.17µ olarak saptamışlardır. Özalp⁴⁶'da normal ve mastitisli sütlerdeki kolesterol miktarını sırası ile 9.6mg/L - 13.3 mg/L olarak bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da literatür verilere uygun olarak sağlıklı hayvanlardan elde edilen süt serumlarına nazaran subklinik mastitisli hayvanlardan elde edilen süt serumları glikoz seviyelerinde düşme (P<0.001), kolesterol seviyelerinde ise artma (P>0.20) bulundu (Tablo V). Mastitisli sütte, SHS'nın artması ile birlikte süt yağı içeriklerinde ve trigliserid yağ asidi kompozisyonunda değişiklikler meydana geldiği, kısa zincirli ve uzun zincirli yağ asitlerinin dağılımı konusunda çok farklı sonuçlar elde edildiği ifade edilmiştir²⁵. Randolph ve Erwin⁴⁷, mastitisli sütlerin normal sütlerle göre toplam trigliserid yağ asitleri miktarını % 4 daha az olarak kaydetmişlerdir. Bu çalışmada ise, sağlıklı hayvanların süt serumlarına nazaran subklinik mastitisli hayvanların süt serumları trigliserid seviyelerinde artış belirlendi (P>0.05). Bu artış diğer çalışmalara göre farklı bir metot kullanılmasından kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak sunulan bu çalışmada, subklinik mastitislerin teşhisinde CMT ve DMSHS metotlarından faydalanılabileceği saptandı. Sütlerde ayırıcı hücre sayımı yapmadan, sadece somatik hücre sayımının sağlıklı ve subklinik mastitisli meme loplalarının belirlemede yeterli olduğu görüldü. Subklinik

mastitislerin teşhisinde Na, K, Cl gibi mineral maddelerin, LDH, AST, ALT, CK, ALP, ASP gibi enzim düzeylerinin ve bir metabolit olan glikoz seviyelerinin belirlenmesinin başarılı sonuçlar verdiği gözlemlendi.

KAYNAKLAR

1. ALAÇAM, E.: Meme hastalıkları, alınmıştır "Sığır Hastalıkları", sayfa 575-593, İkinci Baskı, Teknografik matbaası, İstanbul (1991).
2. SANDHOLM, M., MATTILA, T.: Biochemical aspects of bovine mastitis. *Isr. J. Vet. Med.*, 42(4), 405-415 (1986).
3. ERGUN, H., MERT, N.: Sütte mastitis nedeniyle meydana gelen biyokimyasal değişmeler, I. Mastitis Sempozyumu, 49-61, Ankara (1984).
4. KITCHEN, B.J.: Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests, *Journal of Dairy Research*, 48, 167-188 (1981).
5. International Dairy Federation Bulletin: Somatic cells in milk, Their significance and recommended methods for counting. Document 114, Belgium (1979).
6. UYSAL, Y.: Sütte somatik hücre sayımı, önemi ve değerlendirilmesi, *Pendik Mikrobiyoloji Enstitüsü dergisi*, 17, 40-46 (1985).
7. SCHALM, O.W., CAROLL, E.J., JAIN, N.C.: Bovine mastitis, Lea and Febiger, Philadelphia, 72-157 (1971).
8. KILIÇOĞLU, Ç.: Mastitiste klinik tanı, I. Mastitis Sempozyumu, 69-75, Ankara (1984).
9. EMANUELSON, U., WEVER, P.: Potential of differential somatic cell counts as indicators of mastitis in quarter milk samples from dairy cows, *Acta Vet. Scan.*, 30(4), 475-481 (1989).
10. BROLUND, L.: Cell counts in bovine milk causes of variation and applicability for diagnosis of subclinical mastitis, *Acta Vet. Scan.*, 80, 1-123 (1985).
11. LILIUS, E.M., PESONEN, U.: Use of inflammatory cell activities bovine milk to diagnosis mastitis, *Am. J. Vet. Res.*, 51(10), 1527-1533 (1990).
12. VIANM, M.C.E., NADER-FILHO, A.: Variations in the physicochemical and cellular characteristics of the milk cows with subclinical mastitis, *Veterinary Bulletin*, 61, 6320 (1991).
13. WEVER, P., EMANLTELSON, U.: Effects of systematic influences and intramammary infection on differential and total somatic cell counts in quarter milk samples from dairy cows, *Acta Vet. Scan.*, 30(4), 465-474 (1989).

14. INGR, I., PLEVA, J., RYSANEK, D., JANKOVA, B., RENDA, V.: Changes in the composition of cows milk which may be used in the diagnosis of subclinical mastitis, Dairy Science Abstracts, 35, 4716 (1973).
15. KITCHEN, B.J., DURWARD, I.G., MIDDLETON, G., ANDREWS, R.J.: A comparison of N-acetyl- β -D-Glucosaminidase (NA-Gase) activity, somatic cell count, Wisconsin mastitis test, conductivity and sodium and potassium levels in quarter milk samples, XX. International dairy Congress, Vole, 179-180 (1978).
16. SMITH, A., WILKE, P.I., BOTHA, C.A.: Influence of mastitis on milk production, somatic cell count and sodium, potassium and lactose in bovine milk, Dairy Science Abstracts, 52, 8837 (1990).
17. CORBELLIM, C.N., DUPUY, M., CARCAGNO, C., CALLIERI, C., WAINMAIER, M., GOD OY, J.: Determination of sodium and potassium in milk, its relationship with somatic cell count and its use in monitoring subclinical mastitis, Dairy Science Abstracts, 47, 5012 (1985).
18. BOGIN, E., ZIV, G.: Enzymes and minerals in normal and mastitic milk, Cornell Vet, 63, 666-676 (1973).
19. LAPPALAINEN, R., KAARTINEN, L., VEIJALAINEN, K., KUASO, P.L., SANKARI, S., PY ORALA, S., SANDHOLM, M.: Sequential changes of mineral and trace elements in milk during the course of endotoxin-x ray (PIXE):y-ray emission selective electrodes, J. Vet. Med. B., 35, 664-676 (1988).
20. SZAKALY, S., EMBAREK, A.M.A., OBERT, G.: Effect of deteriorated composition of milk on the characteristics of acid curd. II. Examination of the effect on milk of defective secretion, Dairy Science Abstracts, 52, 7636 (1990).
21. ANDERSSON, R., SOMMER, H.: The LDH activity in dairy milk: an indicator of subclinical mastitis, Vth. Congress of ISACB, Italy, 181-187 (1992).
22. SOMMER, H., HAMBITZER, R., AYDIN, I.: LDh-activity and correlation to pathogenic and non pathogenic micro-organisms in dairy milk, Israel Journal of Veterinary medicine, 42(4), 373-375 (1986).
23. KITCHEN, B.J., MIDDLETON, G., DURWARD, I.G., ANDREWS, R.J., SALMON, M.C.: Mastitis diagnostic tests to estimate mammary gland epithelial cell damage, Journal of Dairy Science, 63(6), 978-983 (1980).
24. BOZHKOVA, G., TSVETKOV, A.: Biokhimichnitsitologichni promeni V mylakotoi krovta na kravi sus subklinichen mastiti, Veterinary Bulletin, 47, 5462 (1977).

25. MUNRO, G.L., GRIEVE, P.A., KITCHEN, B.J.: Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk product, *The Australian Journal of Dairy Technology*, 39(1), 7-16 (1984).
26. ANDREWS, A.T.: Further studies on acid phosphatase of leucocyte origin in normal and mastitic bovine milks, *Veterinary Bulletin*, 46, 3560 (1976).
27. Rao, K.R.S.: Milk formation-alteration in mastitis milk composition, *Indian-Dairyman*, 42(7), 314-316 (1990).
28. ATROSHI, F., PARATAINEN, J., SANKARI, S., ÖSTEP; MANN, T.: Prostaglandins and glutathione peroxidase in bovine mastitis, *Research of Veterinary Science*, 40(4), 361-366 (1986).
29. FRUGANTI, G., RANUCCI, S., VALENTE, C., MANGILI, V., TESEI, B., AVELLIM, G., MA RETTIM, B.: Determinazione di alcune attivita enzimatiche nel secreto mammario di bovine, *Dairy Science Abstracts*, 48, 446 (1986).
30. ALAÇAM, E., NİZAMLIOĞLU, M., ERGAMŞ, O.: İneklerde subklinik mastitislerin tanısı amacıyla süt ve kanda prostaglandin F₂ a ile bazı mikrobiyolojik, hücresel ve biyokimyasal değerlerin araştırılması, *Doğa Tu. Vet. Ve Hayv. Derg.*, 12(1), 11-18 (1988).
31. OSHIMA, M., YOSHIDA, T.: Quarter difference in milk hydrogen ion concentration is superior to milk pH for diagnosis subclinical mastitis, *Veterinary Bulletin*, 58, 6797 (1988).
32. MALKAMAK, M., MATTILA, M., SANDHOLM, M.: Bacterial growth mastitic milk and whey, *J. Vet. Med.*, 33(3), 174-179.
33. BALL, H.J., FINLAY, D., MACKIE, D.P., GREER, D., ROLLOCK, D., Mc NAIR, J.: Application of a monoclonal antibody-based enzyme - linked immunosorbent assay for detection of an inflammatory response antigen in subclinical mastitic milk sample, *Journal of Clinical Microbiology*, 29(8), 1625-1628 (1991).
34. AYDIN, N.: T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Mastitis Projesi, MPD-HH-113,T No.22, Ankara, 7 (1989).
35. BACHA, W.J., WOOD, L.M.: *Color Atlas of Veterinary Histology*, Lea and Febiger, Philadelphia, 27-36 (1990).
36. ANDERSSON, R.: Die diagnose der bovinen subklinischen mastitis mittels lactatdehydrogenase-aktivitat und leitfahigkeit, Thesis, Bonn (1991).
37. KAN, İ.: Biyoistatistik, U.Ü. Güçlendirme Vakfı, No.56, U.Ü. Basımevi, Bursa, 120-131 (1991).

38. DALEY, M.J., OLDHALM, E.R., WILLIAMS, T.J., COYLE, P.A.: Quantitative and qualitative properties of host polymorphonuclear cells during experimentally induced staphylococcus aureus mastitis in cows, *Am. J. Vet. Res.*, 52(3), 474-479 (1991).
39. JAARTSVELD, F.H.J.: The use of indirect tests in the diagnosis of intramammary infection, IDF Seminar on mastitis Control, Ed. DODD, F.H., GRIFFIN, T.K., KINGWILL, R.G., Belgique, 37-40 (1975).
40. KALAYCIOĞLU, L., ERGUN, H.: Atatürk Orman Çiftliği süt ineklerinde subklinik mastitiste biyokimyasal yönden araştırmalar, *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 27(1-2), 190-200 (1980).
41. MERT, N., TAYYAR, M., OĞAN, M., MÜFWJOĞLU, M., YAVUZ, M.: Süt ineklerinde subklinik mastitisin sütte meydana getirdiği biyokimyasal değişmeler üzerine araştırmalar, *U.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 11(2), 13-18 (1992).
42. JANOTA BASSALIK L., BASSALIK CHABIELSKA, L.: Atomic absorbtion spectrophotometry of milk for diagnosis of mastitis, *Dairy Science Abstracts*, 40, 975 (1978).
43. NİZAMLIOĞLU, M., TEKELİ, T., ERGANİŐ, O., BAŐPINAR, N.: İneklerde subklinik mastitislerin biyokimyasal ve mikrobiyolojik yönden incelenmesi, *S.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 5(1), 135-143 (1989).
44. İMREN, A.H., TURAN, O.: Klinik tanıda labaratuvar, 3 Baskı, Sermet matbaası, İstanbul, 225-652 (1985).
45. MARSCHKE, R.J., KITCHEN, B.J.: Glucose levels in normal and mastitic milk, *Journal of Dairy Research*, 51, 233-237 (1984).
46. ÖZALP, E.: Mastitisin süütün bileşimine etkisi, I. Mastitis Sempozyumu, 62-68, Ankara (1984).
47. RANDOLPH, H.E., ERWIN, RE.: Influence of mastitis on properties of milk, X. Fatty acid composition, *Journal of Dairy Science*, 57(8), 865-868 (1973).

Yazının Geliş Tarihi: 09.03.1999